

GDK: 181.45 + 149.6 *Capreolus capreolus* L. (497.12 Šaleška dolina)

Prispelo / Received: 19.2.2001
Šprejeto / Accepted: 9.4.2001

Izvirni znanstveni članek
Original scientific paper

LEDVICE SRNJADI (*Capreolus capreolus* L.) KOT BIOINDIKATOR ONESNAŽENOSTI OKOLJA S TEŽKIMI KOVINAMI

Boštjan POKORNY*, Cvetka RIBARIČ-LASNIK**, Darinka Z. DOGANOC***, Miha ADAMIČ****

zvleček

V letu 1998 smo določili vsebnosti Cd, Pb, Hg in As v notranjih organih 143 osebkov srnjadi, uplenjenih v Šaleški dolini in na Pokljuki. Ugotovili smo, da: 1) se vsebnosti kovin ne razlikujejo med levo in desno ledvico; 2) spol ne vpliva na vsebnosti kovin; 3) starost živali ne vpliva na vsebnosti Pb, Hg in As; 4) linearno naraščanje vsebnosti Cd s starostjo omogoča izračun letne in dnevne stopnje akumulacije, koristnih priporočkov za prostorske in časovne primerjave; 5) ima sezona odstrela značilen vpliv na vsebnosti Hg in Pb; 6) kulminacijo v poznem poletju in zgodnji jeseni; 7) v Šaleški dolini vsebnosti kovin (razen As) z oddaljenostjo od TEŠ upadajo; 8) so vsebnosti kovin na Pokljuki značilno višje kot v Šaleški dolini; 9) relativna teža ledvic v primerjavi s težo celotnega telesa srnjadi ni primeren bioindikator za ugotavljanje obremenjenosti okolja s težkimi kovinami.

Gljučne besede: onesnaženost okolja, bioindikacija, težke kovine, srnjad, zdravstveno stanje Šaleška dolina, Pokljuka.

ROE DEER (*Capreolus capreolus* L.) KIDNEY AS A BIOINDICATOR OF ENVIRONMENTAL POLLUTION WITH HEAVY METALS

Abstract

Cd, Pb, Hg and As levels were measured in the viscera of 143 roe deer, shot in the Šalek Valley and on the Pokljuka plateau in 1998. Our findings were as follows: 1) heavy metal levels (HML) do not differ between left and right kidney; 2) sex has no influence on HML; 3) an animal's age has no influence on Pb, Hg and As levels; 4) a positive linear correlation between age and Cd level enables the assessment of an annual and even a daily accumulation rate, both of which may be very useful for spatial as well as temporal comparisons; 5) the season of shooting has a significant influence on Hg and Pb levels, which culminated in late summer and early autumn; 6) in the Šalek Valley, levels of heavy metals (but As) decrease with the distance from the Šoštanj Thermal Power Plant; 7) HML on the Pokljuka plateau are significantly higher in comparison with the Šalek Valley; 8) roe deer kidney-body weight index is not a relevant bioindicator of heavy metal burdens in the environment.

Key words: environmental pollution, bioindication, heavy metals, roe deer, health condition, the Šalek Valley, the Pokljuka high plateau

univ. dipl. inž. gozd., ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave, Koroška 58, 3320 Velenje, SVN

* dr., ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave, Koroška 58, 3320 Velenje, SVN

** doc. dr., Veterinarska fakulteta, Inštitut za higieno živil in bromatologijo, Gerbičeva 60, 1115 Ljubljana, SVN

*** prof. dr., BF – Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire, Večna pot 83, 1000 Ljubljana, SVN

VSEBINA
CONTENTS

1	UVOD	
	INTRODUCTION	145
2	MATERIAL IN METODE DE LA	
	MATERIAL AND METHODS.....	148
3	REZULTATI IN RAZPRAVA	
	RESULTS AND DISCUSSION.....	152
4	ZAKLJUČKI	
	CONCLUSIONS	176
5	POVZETEK	177
6	SUMMARY	179
7	VIRI	182
8	ZAHVALA	186

1 UVOD INTRODUCTION

Kopičenje strupenih snovi v prehranjevalnem spletu je v svetovnem merilu eden najpomembnejših okoljskih problemov, ki neposredno (vpliv na zdravstveno stanje in vitalnost osebkov) ter posredno (zmanjševanje primernosti habitatov) ogroža dolgoživost populacij prostoživečih živali. Zaradi različne biodostopnosti onesnažil zgoj z meritvami fizikalno-kemijskih parametrov v anorganskih medijih ne moremo dobiti zadostnih informacij za izdelavo ocene tveganja za višje člene prehranjevalnih verig. Če želimo ugotoviti bioekološko problematičnost določene strupene snovi, moramo kemijske in fiziološke parametre spremljati tudi v živih organizmih (WREN 1986, VAN STRAALLEN 1999).

Antropogeno onesnaževanje okolja s težkimi kovinami, ki spadajo med najnevarnejše anorganske strupene snovi, je v zadnjih desetletjih postalo regionalni in celo globalni problem. Sawicka-Kapusta (1979), Peterle (1991) in Chyla *et al.* (1996) izpostavljajo kot posebno nevarne elemente, ki so rakotvorni ali pa prizadenejo encimatsko delovanje in presnovo – npr. živo srebro (Hg), kadmij (Cd), arzen (As) in svinec (Pb). Poleg razpršenih virov emisij (promet, uporaba kemičnih preparatov v kmetijstvu in gozdarstvu) prispevajo k obremenitvi okolja s temi prvini na lokalni in regionalni ravni tudi točkovni viri, ki so povezani z izgorevanjem fosilnih goriv, predelavo rudnin ali odlaganjem odpadkov. Območja v bližini elektroenergetskih objektov so zato primeri "vročih točk" – območij, kjer so prostoživeče živali najbolj izpostavljene delovanju težkih kovin (KEITH 1996). Mednje sodi tudi Šaleška dolina s premogovnikom lignita in s TE Šoštanj, največjo slovensko termoelektrarno.

Onesnaženost okolja lahko ugotavljamo s pomočjo bioindikatorjev – organizmov, ki dajejo informacije o kakovosti svojega življenjskega okolja. Biomonitoring dopolnjuje kemijske meritve anorganskih medijev, pred katerimi ima številne prednosti, kot so splošna možnost uporabe, upoštevanje sinergističnih in antagonističnih vplivov, biološka relevantnost, možen retrospektivni pristop in nizki stroški. V primerjavi z rastlinami ima uporaba živalskih vrst še dodatne prednosti, saj omogoča površinsko (in ne le točkovno)

bioindikacijo ter bistveno večjo primerljivost z ljudmi (TATARUCH 1991, WITTIG 1993).

Srnjad (*Capreolus capreolus*) ustreza številnim kriterijem, ki naj bi jih izpolnjevala vrsta, katero želimo uporabiti v bioindikativne namene: visoka stopnja bioakumulacije strupenih snovi – posledica prehrane z rastlinskimi vrstami, ki so znane kot zelo dobri bioakumulatorji (npr. MÜLLER 1985, STRANDBERG / KNUDSEN 1994, POKORNY / RIBARIČ-LASNIK 2000b); pozitivna povezava med vnosom strupenih snovi v ekosisteme in akumulacijo v tkivih srnjadi (npr. SAWICKA-KAPUSTA / PERZANOWSKI / BOBEK 1981, KIERDORF / KIERDORF / SEDLACEK 1999); standardizirane vzorčevalne in analitske metode lahko enostavno razvijemo (npr. KIERDORF / KIERDORF 1999); vrsta ni ogrožena in ima ekološki optimum skoraj povsod v Evropi (LINNELL / DUNCAN / ANDERSEN 1998); teritorialen način življenja z arealom aktivnosti, ki je praviloma bistveno manjši od 100 ha (HEWISON / VINCENT / REBY 1998); ekološke in fiziološke značilnosti vrste so dobro poznane (glej ANDERSEN / DUNCAN / LINNELL 1998, KRŽE 2000); relativno dolga življenjska doba in etično sprejemljivo vzorčenje v sklopu rednega odstrela živali.

Zaradi naštetih lastnosti številni raziskovalci (npr. SAWICKA-KAPUSTA 1979, MANKOVSKA 1980, GRODZINSKA / GRODZINSKI / ZEVELOFF 1983, HECHT / SCHINNER / KREUZER 1984, WREN 1986, TATARUCH 1991, HOLM 1993, STRAUB / KREIMES 1995, BÖHM 1996, GNAMUŠ / HORVAT 1999, KIERDORF / KIERDORF 2000, POKORNY 2000a) poudarjajo, da so tkiva srnjadi (rogovje, zobovje in predvsem notranji organi) zelo dober akumulacijski indikator obremenjenosti okolja s težkimi kovinami. Vendar WREN (1986) opozarja, da je potrebno za korektno interpretacijo rezultatov upoštevati nekatere biološke dejavnike (še zlasti spol, starost in sezono zbiranja vzorcev), ki lahko vplivajo na vsebnosti težkih kovin v tkivih sesalcev.

Vpliv spola in starosti na vsebnosti kovin v tkivih različnih vrst jelenov (*Cervidae*) so raziskovalci že večkrat proučevali (srnjad: KRYNSKI *et al.* 1982, MÜLLER 1985, TOMŠIČ 1986, FRØSLIE *et al.* 1986, TATARUCH 1991, DOGANOC / ŠINIGOJ-GAČNIK 1995, GUFLER / TATARUCH / ONDERSCHEKA 1997, GNAMUŠ / HORVAT 1999, POKORNY / RIBARIČ-LASNIK 2000a; belorepi jelen (*Odocoileus*

virginianus): KOCAN *et al.* 1980, WOOLF / SMITH / FRANK 1982, GLOOSCHENKO *et al.* 1988, STANSLEY / ROSCOE / HAZEN 1991; severni jelen (*Rangifer tarandus*): ERIKSSON *et al.* 1990, GAMBERG / SCHEUHAMMER 1994; los (*Alces alces*): CRETE *et al.* 1987, GLOOSCHENKO *et al.* 1988). Vendar so zaključki med vrstami in tudi znotraj njih protislovni. Izrazito protislovne so tudi ugotovitve o vplivu sezone na vsebnosti kovin v tkivih srnjadi (izrazit sezonski vpliv na vsebnosti Hg in Pb smo ugotovili v Sloveniji; POKORNY / RIBARIČ-LASNIK 2000b, 2001) in drugih predstavnikov jelenov, pri čemer je potrebno poudariti, da so bile v večini raziskav razlike med sezonami ugotovljene po naključju, saj raziskave niso bile ciljno usmerjene k proučevanju sezonskih vplivov (glej CRETE *et al.* 1989, MICHALSKA / ŽMUDZKI 1992, HOLM 1993, GAMBERG / SCHEUHAMMER 1994, GUFLER / TATARUCH / ONDERSCHKA 1997, BLOTTNER *et al.* 1999).

Poleg akumulacijske bioindikacije (vsebnosti onesnažil v izbranih tkivih ciljnih bioindikatorskih vrst naj bi odražale obremenjenost njihovega življenjskega okolja) številni avtorji predlagajo uporabo odzivnih (reakcijskih) bioindikatorjev, ki naj bi onesnaženost okolja podali posredno, prek sprememb v njihovih fizioloških procesih oziroma sprememb v zgradbi in delovanju organizma (glej BATIČ 1997). Tako je lahko povečana velikost notranjih organov v primerjavi z velikostjo telesa (*somatic organ index*) dober fiziološki indikator izpostavljenosti organizma povišanim koncentracijam nekaterih težkih kovin; Ma (1996) npr. za male sesalce navaja, da je povečana relativna teža ledvic v primerjavi s težo celotnega telesa (*somatic kidney index* – ledvica-telo indeks; LTI) dober kazalec izpostavljenosti povišanim vsebnostim svinca.

Bioindikacija temelji na prostorskih in časovnih primerjavah, zato smo zaradi protislovnih ugotovitev o vplivu spola, starosti in sezone skušali: a) ovrednotiti vpliv teh dejavnikov na vsebnosti izbranih težkih kovin (Cd, Pb, Hg, As) v ledvicah srnjadi, uplenjene v letu 1998 v Šaleški dolini in na Pokljuki; b) narediti primerjavo med obremenjenostjo srnjadi s težkimi kovinami med obema območjema; c) določiti vpliv Termoelektrarne Šoštanj na vsebnosti težkih kovin v ledvicah srnjadi v Šaleški dolini; d) testirati metodo reakcijske bioindikacije z uporabo LTI.

Preizkusili smo naslednje hipoteze: i) zaradi neizrazitih anatomsko-fizioloških razlik med spoloma le-ta ne vpliva na vsebnosti kovin v tkivih srnjadi; ii) zaradi akumulacije kovin se s starostjo povečuje vsebnost kovin z dolgim retencijskim časom v notranjih organih (Cd), medtem ko se vsebnost kovin s kratko razpolovno dobo (npr. Pb; za opredelitev retencijskega časa glej COOKE / JOHNSON 1996) s starostjo ne povečuje; iii) ker je vnos s hrano najpomembnejši način vnosa težkih kovin v organizem sesalcev (npr. MA / DENNEMAN / FABER 1991, GNAMUŠ / BYRNE / HORVAT 2000), se vsebnosti kovin razlikujejo v različnih obdobjih leta; sezonske razlike so posledica količinskih in kakovostnih razlik v dostopnosti prehrabnih virov in spremenljivih potreb po hrani; iv) vsebnosti težkih kovin v tkivih srnjadi iz Šaleške doline (emisijsko območje TEŠ) so višje kot na Pokljuki; v) izgorevanje premoga v TEŠ je eden najpomembnejših virov emisij težkih kovin v Šaleški dolini, zato z oddaljenostjo od elektrarne vsebnosti kovin v tkivih srnjadi upadajo; vi) velikost LTI je v pozitivni povezavi z vsebnostjo težkih kovin in je v emisijem območju višji kot v območju brez pomembnih lokalnih virov emisij.

2 MATERIAL IN METODE DE LA MATERIAL AND METHODS

2.1 OBMOČJE RAZISKAVE STUDY AREA

V letu 1998 smo zbrali vzorce notranjih organov (ledvice in jetra) 143 osebkov srnjadi, uplenjenih v Šaleški dolini in njenem hribovitem obrobju (LD Velenje, LD Oljka, LD Škale ter LD Smrekovec; n = 114; vsi osebki srnjadi so bili uplenjeni v razdalji do 11 km od TEŠ) in na Pokljuki (n = 29). Pregled ekoloških značilnosti obeh območij s poudarkom na značilnostih, ki so pomembne za obremenjenost okolja s težkimi kovinami in njihovo biodostopnost, je podan v enem izmed prejšnjih prispevkov (POKORNY / RIBARIČ-LASNIK 2001).

2.2 VZORČENJE SAMPLING PROCEDURE

Vse vzorce smo zbrali v sklopu rednega odstrela srnjadi med 16.5. in 31.12.1998. Takoj po odstrelu so uplenitelji ledvice (praviloma samo levo) in jetra ločeno shranili v plastične vrečke. Zbiralec divjačine je vzorce opremil s podatki o kraju in datumu uplenitve, spolu, ocenjeni starosti, telesni teži in o položaju strelne rane. Pri določanju starosti smo uporabili naslednje starostne kategorije: mladič (do 8 mesecev), enoletna žival (12 do 20 mesecev), mlada (2 do pod 5 let), srednje stara (5 do pod 8 let) in zelo stara žival (8 in več let).

Starost živali je za vsako lovsko družino ocenil izkušen lovec z uporabo metode razvojne stopnje in obrabe zobovja (SIMONIČ 1976), ki je kljub nekaterim pomanjkljivostim še vedno najpomembnejša in najpogosteje uporabljena metoda določanja starosti srnjadi (HRABE / KOUBEK 1987). Z uporabo metode obrabe zobovja lahko starost zanesljivo določimo mladičem in enoletnim živalim, ki imajo nepopolno razvito zobovje; mlečni tretji predmeljak je trovrhi, po menjavi zobovja (pri starosti 13–14 mesecev) pa ga nadomesti dvovrhi stalni tretji predmeljak (SIMONIČ 1976). Čeprav napaka ocene starosti spolno zrelih osebkov pri uporabi te metode praviloma ni velika in znaša v povprečju $\pm 1,02$ leti (HEWISON *et al.* 1999), se lahko za posamezne osebkove pojavijo znatna odstopanja zaradi variabilnosti v stopnji obrabe zobovja med populacijami in med osebki kot tudi zaradi subjektivne napake ocenjevalca; napaka ocene je največja pri določanju starosti zelo starih živali (*ibid.*).

Napako določitve starosti srnjadi smo zmanjšali tako, da smo pred obdelavo podatkov združili razreda srednje starih in zelo starih živali v enoten razred starih (5+) osebkov, s čimer smo odpravili problem majhnega vzorca v kategoriji zelo stare srnjadi. Združitev je smiselna, saj predhodne analize (POKORNY 1999a) niso pokazale razlik v vsebnosti težkih kovin med tema dvema starostnima kategorijama.

2.3 ANALITSKE METODE ANALYTICS

Najkasneje dva dni po odstrelu smo tkiva globoko zamrznili (-18 °C); zamrznjena smo hranili do kemijskih analiz, ki smo jih opravili v laboratoriju Inštituta za ekološke raziskave ERICo Velenje. Homogenizacijo vzorcev smo naredili z mlinčkom Büchi-Mixer B-400 s keramičnim nožem. Za pripravo vzorcev smo uporabili mokri sežig z mikrovalovno napravo CEM MSP 1000 (zatehta vzorca 1,4–1,5 g; reagent: 7 ml HNO₃ konc. z dodatkom H₂O₂). Za meritve vsebnosti Hg smo uporabili hidridno tehniko na atomskem absorpcijskem spektrometru (Perkin Elmer SIMAA 6000), za meritve vsebnosti Pb, Cd in As pa tehniko plazmatske masne spektrometrije (ICP-MS, instrument Hewlett Packard 4500). Kontrolo analitskih metod smo izvajali s certificiranim referenčnim materialom (BCR 185 *Bovine liver*); za vse elemente je bila skladnost meritev v intervalu 90–110 % referenčnih vrednosti.

2.4 STATISTIČNE METODE STATISTICAL PROCEDURE

Vsebnosti večine kovin (izjema je As) v ledvicah srnjadi imajo desno asimetrično porazdelitev, zato smo za namene statističnih preizkusov skušali doseči normalnost porazdelitev in homogenost varianc z logaritemsko (\log_{10}) transformacijo izmerjenih vsebnosti.

Razlike med spoloma in starostnimi kategorijami smo znotraj območij testirali z multifaktorsko analizo variance (MANOVA) s posteriornim izračunom Tukeyeve resnične značilne razlike (*honesty significant difference*) za neenako velike vzorce (Spjotvoll-Stoline test). Razlike med tremi sezonami (maj–julij, avgust–september, oktober–december) smo preizkusili z analizo variance (ANOVA) oziroma t-testom za neodvisne vzorce, v primeru nehomogenosti varianc pa s Kruskal-Wallisovim testom oziroma Mann-Whitney U testom. Razlike med Šaleško dolino in Pokljuko smo ugotavljali z diskriminativno analizo in s t-testom.

Razlike v vsebnostih posameznih elementov med levo in desno ledvico istih osebkov smo ugotavljali s t-testom za odvisne vzorce (metoda parov) oziroma z Wilcoxonovim neparametričnim testom po metodi parov (v primeru, da se razlike med pari niso porazdeljevale v normalni porazdelitvi). Tesnost povezave med vsebnostjo Cd med levo in desno ledvico ter med ledvicami in jetri istih osebkov smo ugotavljali z izračunom korelacijskega koeficienta (r) linearne regresije netransformiranih podatkov (združeno za obe območji). Izračun korelacijskega koeficienta smo uporabili tudi za ugotavljanje odvisnosti med vsebnostmi parov elementov v ledvicah srnjadi.

Velikost letne oziroma dnevne akumulacije kovin smo določili z izračunom regresijskega koeficienta (b) linearne regresije, pri čemer smo kot neodvisno spremenljivko uporabili srednjo starost v letih oziroma starost mladičev v dnevih; pri določitvi slednje smo upoštevali poznano časovno usklajenost poleganja mladičev srnjadi v Evropi (GAILLARD *et al.* 1993, ANDERSEN / LINELL 1997). V primeru, da je bila linearna korelacija med časovno akumulacijo določenega elementa in starostjo statistično značilna za obe območji, smo razlike v regresijskih koeficientih preizkusili z analizo kovariance (ANCOVA, starost živali kot kovariata).

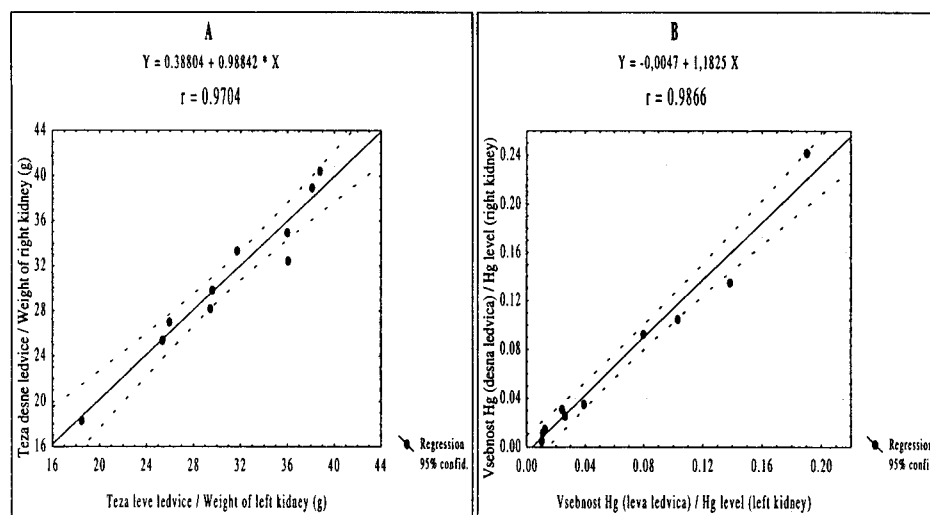
Vpliv oddaljenosti od TEŠ in nadmorske višine na vsebnost kovin v ledvicah srnjadi, uplenjene v Šaleški dolini, smo ugotavljali z izračunom koeficientov multiple regresije. Le-to smo uporabili tudi za ugotavljanje soodvisnosti med vsebnostmi kovin v ledvicah in LTI indeksom. Razlike LTI med območjema smo preizkusili z analizo kovariance (ANCOVA; zaporedni dan v letu kot kovariata), saj se zaradi procesa katabolizma teža notranjih organov proti zimi zmanjšuje (CRETE *et al.* 1989), kar vpliva na zmanjševanje LTI od začetka raziskovalnega obdobja (v maju) proti koncu leta.

Vse statistične analize smo naredili s pomočjo programskega paketa *Statistica for Windows 5.5* (STATSOFT 1999). Kot statistično značilne smo privzeli rezultate, če je bila velikost statističnega tveganja $p < 0,05$. Vse v nadaljevanju podane vsebnosti so podane v mg/kg sveže teže vzorca.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA RESULTS AND DISCUSSION

3.1 SOODVISNOST VSEBNOSTI KOVIN V LEDVICAH IN JETRIH CORRELATION OF HML BETWEEN KIDNEYS AND LIVER

Razlike v vsebnosti Cd, Pb, Hg in As med levo in desno ledvico istih osebkov smo preizkusili pri desetih živalih (šest mladičev ženskega spola in štiri mlade srne), uplenjenih v Šaleški dolini. Razlik med ledvicama nismo ugotovili za nobeno kovino: Pb (t-test za odvisne vzorce: $df = 9$, $t = 1,0681$; $p = 0,31$), As ($df = 9$, $t = 0,6054$; $p = 0,56$), Cd (Wilcoxon test po metodi parov: $T = 23,5$; $p = 0,68$) in Hg ($T = 14,0$; $p = 0,31$), kar je v skladu z ugotovitvami Müllerja (1985). Čeprav Krže (2000) navaja, da je leva ledvica srnjadi nekoliko večja in težja kot desna, razlik v teži med obema ledvicama nismo ugotovili (t-test za odvisne vzorce: $df = 9$, $t = 0,0594$; $p = 0,95$). Neznačilnost razlik in visoka soodvisnost med obema ledvicama (grafikon 1; korelacijski koeficient za Cd: $r = 0,97$, $p < 0,001$; Hg: $r = 0,99$, $p < 0,001$; As: $r = 0,74$, $p = 0,02$; Pb: $r = 0,61$, $p = 0,06$; teža: $r = 0,97$, $p < 0,001$) sta zelo pomembni za dosego zadostne standardizacije postopka. Čeprav smo skušali za vsak osebek v raziskavo vključiti isto (levo) ledvico, je namreč zaradi narave vzorčenja, ki pri obsežnejših raziskavah zahteva vključevanje velikega števila lovcev amaterjev, praktično nemogoče kontrolirati in doseči absolutno standardizacijo zbiranja navzven zelo podobnih parnih organov, kot so ledvice.



Grafikon 1: Soodvisnost med levimi in desnimi ledvicami: teža (A) ter vsebnosti Hg (B; mg/kg sveže teže) v ledvicah 10 osebkov srnjadi, uplenjenih v letu 1998 v Šaleški dolini
 Graph 1: Correlation between left and right kidneys: weight (A) and Hg levels (B; mg/kg wet weight) in kidneys of 10 roe deer, shot in the Šalek Valley in 1998

Večina raziskovalcev (npr. TATARUCH 1991, MA / VAN DER VOET 1993, BLOTTNER *et al.* 1999) se strinja, da so ledvice sesalcev najprimernejši ciljni organ za spremljavo obremenjenosti okolja s Cd, Hg in Pb. Ledvice so namreč znane kot najpomembnejši akumulacijski organ za večino težkih kovin (TATARUCH 1991) – tako so npr. edini organ z znatno akumulacijo anorganskega Hg (GNAMUŠ / BYRNE / HORVAT 2000); povprečne vsebnosti Hg in Cd so v ledvicah srnjadi v Sloveniji za velikostni razred višje kot v jetrih, povprečne vsebnosti Pb pa so višje za 30 % (POKORNY 2000b).

Samo ledvice so dovolj občutljiv organ, v katerem lahko ugotovimo pričakovano majhne sezonske razlike in razlike med spoloma, zato smo za namene pričujoče študije statistične analize omejili predvsem nanje, čeprav smo imeli na razpolago tudi rezultate analiz za jetra. Pri izbiri ciljnega organa nas je vodilo tudi dejstvo, da v nasprotju z jetri ledvice praviloma niso izpostavljene sekundarnemu onesnaženju zaradi strelne rane (ležijo v zadnjem delu trebušne votline) oziroma drugim možnim virom onesnaženja (zaščita z ledvično ovojnico). Smiselnost omejitve na ledvice je dodatno podprta z značilno

pozitivno korelacijo v vsebnostih vseh elementov med obema organoma srnjadi, uplenjene v Šaleški dolini in na Pokljuki: Cd (n = 119, r = 0,72, p<0,001); Hg (n = 129, r = 0,83, p<0,001); Pb (n = 108, r = 0,33, p<0,001) in As (n = 119, r = 0,39, p<0,001). Izbor samo enega ciljnega organa omogoča preglednejše primerjave, bistveno racionalizira delo in dolgoročno dopušča večkratno ponovitev raziskave (monitoring) v okviru sprejemljive cene.

3.2 VPLIV SPOLA IN STAROSTI NA VSEBNOSTI KOVIN V LEDVICAH INFLUENCE OF SEX AND AGE ON HML IN ROE DEER KIDNEYS

Vpliv spola in starosti živali na vsebnost posamezne kovine smo znotraj območij testirali z dvofaktorsko analizo variance (MANOVA) s posteriornim Spjotvoll–Stoline testom. Vrednosti statističnih parametrov so podane v preglednici 1 in 2.

Preglednica 1: Parametri dvofaktorske ANOVE (spol x starost) vsebnosti težkih kovin v ledvicah srnjadi

Table 1: Parameters of two-way ANOVA (sex x age) of heavy metal levels in roe deer kidneys

	Spol / Sex	Starost / Age ^a	Interakcija / Interaction
Šaleška dolina			
Cd	F _(1,97) = 4,1541 *	F _(3,97) = 81,7829 ***	F _(3,97) = 0,8340; p = 0,48
Hg	F _(1,99) = 0,6750; p = 0,41	F _(3,99) = 0,3933; p = 0,76	F _(3,99) = 1,1778; p = 0,32
Pb	F _(1,96) = 0,5924; p = 0,44	F _(3,96) = 0,5846; p = 0,62	F _(3,96) = 1,2368; p = 0,30
As	F _(1,97) = 0,2803; p = 0,60	F _(3,97) = 0,8998; p = 0,44	F _(3,97) = 1,6442; p = 0,18
Pokljuka			
Cd	F _(1,15) = 0,1650; p = 0,69	F _(3,15) = 12,4319 ***	F _(3,15) = 0,2464; p = 0,86
Hg	F _(1,19) = 0,0002; p = 0,99	F _(3,19) = 1,7602; p = 0,19	F _(3,19) = 0,4682; p = 0,71
Pb	F _(1,14) = 2,7245; p = 0,12	F _(3,14) = 0,0947; p = 0,96	F _(3,14) = 0,3178; p = 0,81
As	F _(1,15) = 0,5252; p = 0,48	F _(3,15) = 1,5142; p = 0,25	F _(3,15) = 0,3134; p = 0,82

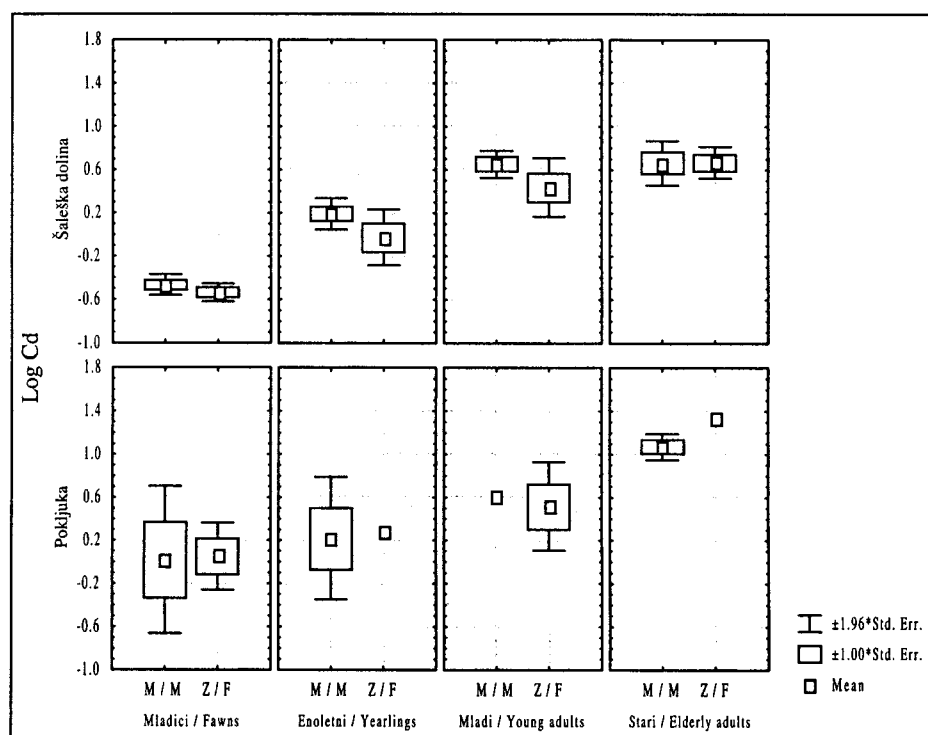
Opombe / Notes:

a Starost, opredeljena s starostnimi kategorijami: mladič, enoletna, srednje stara in stara žival / Age defined by age classes: fawns, yearlings, young adults and mature adults, respectively

p: ***: (p<0,001); **: (p<0,01); *: (p<0,05)

n: Glej preglednico 2 / For n see Table 2

Z izjemo Cd (grafikon 2) nismo ugotovili statistično značilnega vpliva spola, starosti ali interakcije (spol x starost) na vsebnost težkih kovin v ledvicah srnjadi. Spol ima značilen vpliv na vsebnosti Cd v Šaleški dolini (preglednica 1), vendar je le-ta posledica nesorazmerne zastopanosti posameznih starostnih kategorij med obema spoloma (med srnjaki predstavlja delež mladičev v vzorcu 17 %, med srnami pa 45 %; značilnost razlik v deležu: $z = 3,42$, $p < 0,001$). S posteriorno analizo znotraj starostnih kategorij nismo odkrili značilnih razlik med spoloma za nobeno kovino (preglednica 2), zato lahko sklepamo, da med spoloma ni razlik v stopnji akumulacije obravnavanih težkih kovin.



Grafikon 2: Vpliv spola (M: moški; Z: ženski) in starosti živali na vsebnost Cd v ledvicah srnjadi

Graph 2: Influence of sex (M: male; F: female) and age on Cd levels in roe deer kidneys

Preglednica 2: Značilnost razlik (Spjotvoll–Stoline posteriorni test) vsebnosti Cd med starostnimi kategorijami (A) in med interakcijskimi (spol x starost) razredi (B: samo za Šaleško dolino)

Table 2: Significance of differences (Spjotvoll–Stoline posterior test) in Cd levels among age classes (A) and interactive (sex x age) classes (B: only for the Šalek Valley)

A	Šaleška dolina				Pokljuka			
Starost Age ^a	0,5 (n = 32)	1 (n = 26)	2–4 (n = 24)	5+ (n = 25)	0,5 (n = 5)	1 (n = 3)	2–4 (n = 4)	5+ (n = 15)
0,5	/	***	***	***	/	0,79	0,07	***
1	/	/	***	***	/	/	0,50	**
2–4	/	/	/	0,45	/	/	/	*
5+	/	/	/	/	/	/	/	/
B ^b	Šaleška dolina							
Spol x starost Sex x age	0,5 (♂) (n = 8)	0,5 (♀) (n = 24)	1 (♂) (n = 20)	1 (♀) (n = 6)	2–4 (♂) (n = 15)	2–4 (♀) (n = 9)	5+ (♂) (n = 12)	5+ (♀) (n = 13)
0,5 (♂)	/	0,99	***	0,14	***	***	***	***
0,5 (♀)	/	/	***	*	***	***	***	***
1 (♂)	/	/	/	0,89	***	0,61	**	**
1 (♀)	/	/	/	/	**	0,11	**	**
2–4 (♂)	/	/	/	/	/	0,76	1,00	1,00
2–4 (♀)	/	/	/	/	/	/	0,70	0,67
5+ (♂)	/	/	/	/	/	/	/	1,00
5+ (♀)	/	/	/	/	/	/	/	/

Opombe / Notes:

a 0,5: mladiči / fawns; 1: enoletniki / yearlings; 2–4: mlade živali / young adults; 5+: stare živali / mature adults

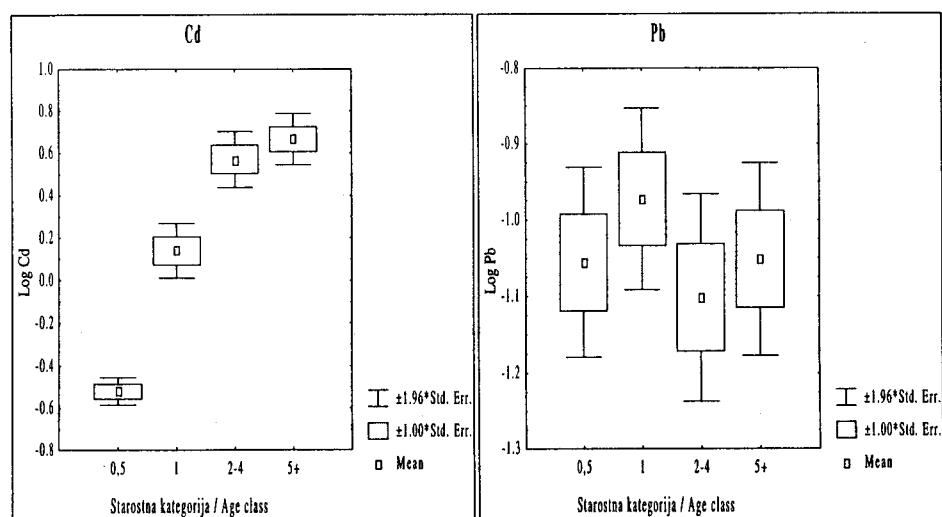
b ♂: srnjak / male; ♀: srna / female

p: *** (p<0,001); ** (p<0,01); * (p<0,05)

Pri predstavnikih družine jelenov večina raziskovalcev (npr. KOCAN *et al.* 1980, WOOLF / SMITH / FRANK 1982, MÜLLER 1985, GLOOSCHENKO *et al.* 1988, TATARUCH 1991, STANSLEY / ROSCOE / HAZEN 1991; GAMBERG / SCHEUHAMMER 1994) ni ugotovila razlik v akumulaciji težkih kovin med spoloma. Obstajajo pa tudi izjeme – Krynski *et al.* (1982) so v agrarni krajini na Poljskem ugotovili, da vsebujejo tkiva srn značilno višje vsebnosti Hg v primerjavi s srnjaki, kar skušajo razložiti z različnimi fiziološkimi procesi med spoloma, ne izključujejo pa tudi vpliva sezone.

Srnjad je vrsta z minimalnim spolnim dimorfizmom (HEWISON / GAILLARD 1996), ki v izbiri teritorijev, načinu prehranjevanja, količini zaužite hrane in v številu dnevno

izločenih kupčkov iztrebkov (fizioloških in ekoloških procesih, ki bi lahko pomembno vplivali na privzem in izločanje težkih kovin) ne kaže pomembnih razlik med obema spoloma (MITCHELL *et al.* 1985). Fiziološko pogojene razlike med spoloma bi zato lahko nastale predvsem zaradi tistih procesov, v katerih se neposredno izloča manjša količina težkih kovin – npr. tvorba rogovja pri srnjakih (SAWICKA-KAPUSTA / PERZANOWSKI / BOBEK 1981) oziroma tvorba plodu in laktacija pri srnah (KRYNSKI *et al.* 1982). Vendar oba procesa potekata zunaj lovne dobe na srnjad, zato na rezultate naše raziskave ne vplivata bistveno. Rezultate znotraj določene starostne kategorije lahko torej za oba spola združimo (grafikon 3), kar olajša zbiranje dovolj velikega vzorca in s tem poveča možnost uporabe srnjadi v bioindikativne namene (POKORNY 2000a).



Grafikon 3: Log-vsebnosti Cd in Pb v ledvicah srnjadi različnih starostnih kategorij (za opredelitev glej preglednico 2, kjer je podan tudi n), uplenjene v letu 1998 v Šaleški dolini

Graph 3: Log-levels of Cd and Pb in kidneys of roe deer of different age classes (see Table 2 for explanation and for n), shot in the Šalek Valley in 1998

Večina težkih kovin ima v notranjih organih sesalcev zelo kratek retencijski čas (npr. Pb le nekaj deset dni; COOKE / JOHNSON 1996), zato se iz ledvic zelo hitro izločijo in

njihove vsebnosti s starostjo praviloma ne naraščajo. Izjema je Cd, za katerega lahko razpolovna doba v mehkih tkivih sesalcev znaša tudi 10 do 30 let (*ibid.*). Vsebnosti Cd v ledvicah so zato odraz dolgotrajne (prek celotnega življenjskega obdobja) izpostavljenosti živali. Porast vsebnosti Cd v notranjih organih različnih vrst jelenov z naraščajočo starostjo je znan pojav (MUNSHOWER / NEUMANN 1979, WOOLF / SMITH / FRANK 1982, MÜLLER 1985, TOMŠIČ 1986, FRØSLIE *et al.* 1986, TATARUCH 1991, GAMBERG / SCHEUHAMMER 1994, DOGANOC / ŠINIGOJ-GAČNIK 1995, POKORNY / RIBARIČ-LASNIK 2000a); za severne jelene je npr. značilna linearna korelacija med vsebnostmi Cd v ledvicah in starostjo živali, izraženo v letih (ERIKSSON *et al.* 1990).

Gnamuš in Horvatova (1999) sta sicer ugotovila starostno pogojeno akumulacijo Hg v tkivih srnjadi iz okolice Idrije, a je bil njun vzorec zelo majhen, sezonski vpliv pa zanemarljiv. Ker naši rezultati kažejo, da starost nima značilnega vpliva na vsebnosti Pb, Hg in As v ledvicah srnjadi, lahko vsebnosti za te tri kovine združimo ne glede na starost živali, medtem ko moramo Cd obravnavati ločeno po starostnih kategorijah.

3.2.1 Letna akumulacija težkih kovin v ledvicah srnjadi

Yearly accumulation rate of heavy metals in roe deer kidneys

Ob domnevi, da vsebnosti nekaterih elementov v ledvicah linearno naraščajo s starostjo (ERIKSSON *et al.* 1990 za Cd), lahko z izračunom regresijskega koeficienta (b) linearne regresije približno ugotovimo njihovo časovno (dnevno in letno) akumulacijo; s primerjavo regresijskih koeficientov lahko sklepamo na razlike v stopnji akumulacije (onesnaženost, biodostopnost) med območji.

Pri izračunu letne akumulacije težkih kovin v ledvicah srnjadi v Šaleški dolini in na Pokljuki smo kot neodvisno spremenljivko privzeli ocenjeno starost živali v letih, in sicer kot srednje leto v izbrani starostni kategoriji (0,5 leta za mladiče; 1 leto za lanščake in mladice; 3 leta za mlade živali in 6 let za stare živali). V preglednici 3 so podani korelacijski koeficienti z značilnostjo korelacijske povezave in regresijski koeficienti z odklonom zaupanja ($b \pm t_{0,05} * s_b$).

Preglednica 3: Korelacijski koeficienti linearne regresije med starostjo živali v letih (x) in vsebnostjo kovin v ledvicah (y); vrednost regresijskega koeficienta (β_L) je podana, če je regresija značilna

Table 3: Correlation coefficients of linear regression between animal's age in years (x) and metal level in kidneys (y); value of regression coefficient (β_L) is given in the case of significant correlation

	Cd ($n_{s,d} = 105; n_p = 23$)	Pb	Hg	As
Šaleška dolina	$r = 0,55^{***}$ ($\beta_L = 0,9810 \pm 0,8767$)	$r = -0,05$	$r = 0,19$	$r = -0,06$
Pokljuka	$r = 0,76^{***}$ ($\beta_L = 2,2367 \pm 0,2938$)	$r = 0,15$	$r = -0,28$	$r = -0,02$

p: *** ($p < 0,001$); ** ($p < 0,01$); * ($p < 0,05$)

Izračun korelacijskih koeficientov nas je pripeljal do enakih ugotovitev, kot smo jih dobili s primerjavo vsebnosti kovin med različnimi starostnimi razredi: starost ima statistično značilen vpliv na vsebnosti Cd, značilnega vpliva starosti na vsebnosti Pb, Hg in As v ledvicah srnjadi pa nismo ugotovili.

Naklon premice (velikost regresijskega koeficienta) naraščanja vsebnosti Cd s starostjo, ki je na Pokljuki značilno večji kot v Šaleški dolini (ANCOVA: $F_{(1, 124)} = 12,3327$, $p < 0,001$), nam z manjšimi zadržki (privzeta starost živali v letih je obremenjena z določeno napako, vpliv konstante regresije (a) je zanemarjen) pove, za koliko enot (mg/kg sveže teže) se z vsakim letom poveča vsebnost Cd v ledvicah srnjadi. Da bi izločili vpliv konstante, smo opravili izračun regresijskega koeficienta b_K ob nastavitvi vrednosti konstante $a = 0$. Tudi v tem primeru vsebnosti Cd v ledvicah srnjadi z vsakim letom starosti naraščajo na Pokljuki ($\beta_L = 2,2237 \pm 0,4689$) bistveno izraziteje kot v Šaleški dolini ($\beta_L = 1,1469 \pm 0,2072$).

Kopičenje Cd v notranjih organih prežvekovalcev je odraz izpostavljenosti temu elementu (npr. GLOOSCHENKO *et al.* 1988), zato lahko sklepamo, da je srnjad na Pokljuki bolj obremenjena s Cd kot v Šaleški dolini. Pri tem je poleg onesnaženosti oziroma vsebnosti Cd v anorganskih medijih potrebno upoštevati tudi fizikalno-kemijske dejavnike, ki vplivajo na njegovo biodostopnost. Ugotovitev, izpeljana na podlagi letne akumulacije, se ujema s primerjavo vsebnosti Cd v ledvicah srnjadi v obeh območjih; leta je podana v samostojnem podpoglavju.

3.2.2 Dnevna akumulacija težkih kovin v ledvicah srnjadi

Daily accumulation rate of heavy metals in roe deer kidneys

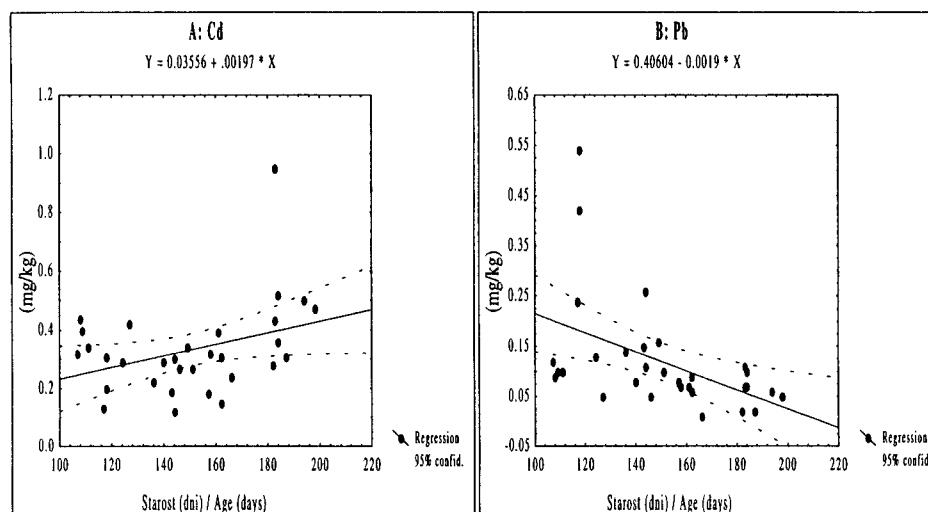
Za srnjad je značilna velika sinhroniziranost poleganja – skoraj vsi mladiči se v določenem letu poležejo v intervalu manj kot 30 dni, več kot polovica pa znotraj dveh tednov (GAILLARD *et al.* 1993, ANDERSEN / LINNELL 1997), zato lahko za to kategorijo starost v dnevih dokaj natančno določimo. Ker v Sloveniji ne poznamo časovne dinamike poleganja, smo kot povprečni datum privzeli 18. maj – sredino med povprečnim datumom poleganja v borealnem okolju Norveške (21. maj; ANDERSEN / LINNELL 1997) in mediteranskem podnebjju Francije (15. maj; GAILLARD *et al.* 1993). Dnevno akumulacijo težkih kovin v ledvicah srnjadi smo ugotavljali z izračunom regresijskega koeficienta linearne regresije, pri čemer smo za neodvisno spremenljivko vzeli starost živali v dnevih. Le-to smo določili kot število dni, ki so potekali od 18.5.1998 do datuma uplenitve določenega mladiča. Korelacijski koeficienti z značilnostjo korelacijske povezave in regresijski koeficienti so podani v preglednici 4, grafično pa je linearna regresija za Cd in Pb predstavljena na grafikonu 4.

Preglednica 4: Korelacijski koeficienti linearne regresije med starostjo mladičev v dnevih (x) in vsebnostjo kovin v ledvicah (y); vrednost regresijskega koeficienta (b_D) je podana, če je regresija značilna

Table 4: Correlation coefficients of linear regression between fawns age in days (x) and metal level in kidney (y); value of regression coefficient (b_D) is given in the case of significant correlation

	Cd	Pb	Hg	As
Šaleška dolina (n = 31)	r = 0,36* (b_D = 0,0020)	r = -0,48** (b_D = -0,0019)	r = -0,25; p = 0,17	r = 0,22; p = 0,23
Pokljuka (n = 4)	r = 0,75; p = 0,25	r = 0,67; p = 0,33	r = 0,23; p = 0,71	r = 0,94; p = 0,06

p: *** (p<0,001); ** (p<0,01); * (p<0,05)



Grafikon 4: Vsebnosti Cd (A) in Pb (B) v ledvicah v odvisnosti od starosti mladičev v dnevih (Šaleška dolina, $n = 31$)

Graph 4: Cd (A) and Pb (B) levels in kidneys in dependence on fawns age in days (the Šalek Valley, $n = 31$)

Podobno kot smo ugotovili že z MANOVO med različnimi starostnimi kategorijami in z izračunom letne akumulacije težkih kovin v ledvicah srnjadi, smo tudi pri izračunu dnevnega kopičenja ugotovili, da s starostjo značilno naraščajo vsebnosti Cd; zaradi majhnosti vzorca na Pokljuki je regresija značilna le v Šaleški dolini. Ob izločitvi vpliva konstante ($a = 0$) znaša vrednost regresijskega koeficienta $b_D = 0,0022$ (značilno različen od 0; $t_{(30)} = 12,88$, $p < 0,001$). Če poskusimo na podlagi dnevne akumulacije izračunati letno ($b_D * 365$ dni), ugotovimo, da se vsako leto vsebnost Cd v ledvicah srnjadi v Šaleški dolini v povprečju poveča za 0,803 mg/kg.

Regresijski koeficient, izračunan na podlagi letne akumulacije ($b_L = 1,1469$), je značilno višji ($t = 3,2913$, $df = 103$, $p < 0,01$) od letnega povečanja vsebnosti, izračunanega na podlagi dnevne akumulacije Cd v ledvicah srnjadi. Razlike lahko izhajajo iz napak pri posplošitvi določitve datuma poganjanja in starosti živali (npr. mladiči niso stari točno 0,5 leta, ampak se njihove starosti gibajo v razponu 4–8 mesecev), ali pa iz sezonskih razlik, ki vplivajo na rezultate, pridobljene po metodi izračuna dnevne akumulacije Cd.

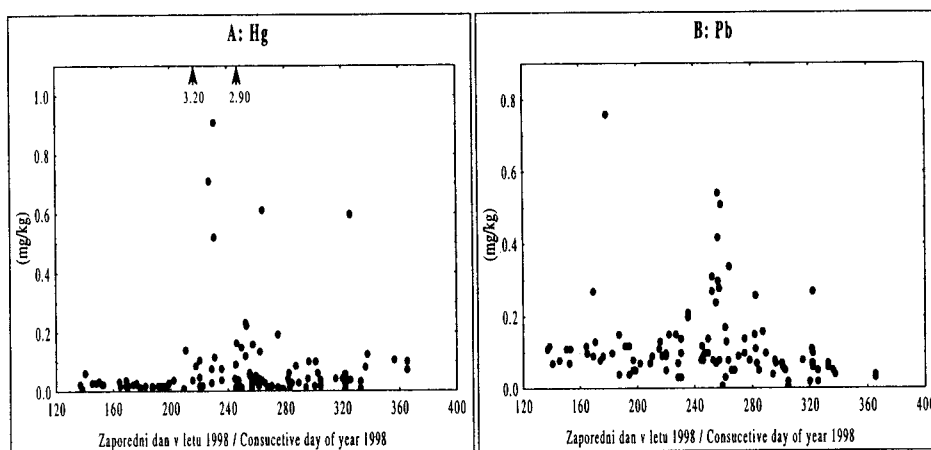
Zaradi zmanjševanja energetskega zahtev proti zimi (HOLAND 1992) lahko sklepamo, da se proti koncu raziskovalnega obdobja zmanjšuje privzem Cd v organizmu srnjadi, saj je hrana najpomembnejši način vnosa težkih kovin v telesa sesalcev (npr. SAWICKA-KAPUSTA / PERZANOWSKI / BOBEK 1981, ÅBERG / FOSSE / STRAY 1998, GNAMUŠ / BYRNE / HORVAT 2000). Na to kaže tudi značilen upad vsebnosti Pb v ledvicah mladičev v Šaleški dolini (grafikon 4), saj starost živali (zaradi kratkega retencijskega časa v notranjih organih) ne vpliva na vsebnosti tega elementa v ledvicah (glej predhodna poglavja). Ker večina težkih kovin zelo slabo ali sploh ne prehaja iz telesa matere na plod (LAW 1996), si upada vsebnosti Pb s starostjo mladičev tudi ne moremo razlagati s postopnim izločanjem Pb, ki so ga že pred rojstvom sprejeli zarodki. Ugotovitev kaže, da je potrebno pri uporabi srnjadi kot akumulacijskega bioindikatorja onesnaženosti okolja pozornost nameniti tudi vplivu sezone na vsebnosti težkih kovin v ledvicah te vrste.

3.3 VPLIV SEZONE NA VSEBNOST KOVIN V LEDVICAH SRNJADI SEASONAL INFLUENCE ON METAL LEVELS IN ROE DEER KIDNEYS

Izbor (dosegljivost) prehrabnih virov in fiziološki procesi (energetske zahteve) so odvisni od letnega časa, zato le-ta vpliva na vsebnost težkih kovin v tkivih živali. Na grafikonu 5 je prikazana točkovna porazdelitev vsebnosti Hg in Pb po dnevih uplenitve v letu 1998 v Šaleški dolini, na grafikonu 6 pa so za vse štiri kovine podane aritmetične sredine z razmakom zaupanja v treh sezonah: maj–julij (sezona I), avgust–september (II) in oktober–december (III). Sezone smo izbrali upoštevaje socialno življenje vrste (I: obdobje pozno pomladanskega oblikovanja teritorijev in prska; II: obdobje teritorialnega življenja v teritorijih po prsku; III: obdobje razpada teritorijev in nastanek družinskih skupnosti) ter dostopnost prehrabnih virov (I: dostopnost mladih zelišč in pogankov; II: prehrana z "zrelimi" zelišči, dostopnost gob; III: prehrana z antropogenimi viri, objedanje lesnatih vrst).

Razlike med sezonami (ANOVA) smo za Pb, Hg in As preizkusili združeno za oba spola in vse starostne kategorije; za Cd smo razlike v vseh treh obdobjih preizkusili samo v kategoriji odraslih (2+) živali, medtem ko smo zaradi premajhnega vzorca za enoletnike

lahko razlike preizkusili le med prvim in drugim, za mladiče pa med drugim in tretjim obdobjem (t-test). Parametri ANOVE so podani v preglednici 5.



Grafikon 5: Vsebnosti Hg (A) in Pb (B) v ledvicah srnjadi, uplenjene v Šaleški dolini. Vsaka točka predstavlja vsebnost v ledvicah z ustreznim dnevom odstrela

Graph 5: Hg (A) and Pb (B) levels in kidneys of roe deer, shot in the Šalek Valley. Each point represents day of culling of each animal

Preglednica 5: Značilnost razlik vsebnosti težkih kovin v ledvicah srnjadi v treh sezonah leta 1998

Table 5: Significance of differences in heavy metal levels in kidneys of roe deer, shot in three seasons of the year 1998

Sezona / Season ^a	II	III	II	III
Šaleška dolina	^b Cd: $F_{(2,45)} = 2,8341$; $p = 0,07$		As: $F_{(2,101)} = 2,5916$; $p = 0,08$	
	^c Hg: $H_{(2)} = 19,6883$ ***		Pb: $F_{(2,101)} = 5,6596$ **	
I	***	**	0,73	**
II	/	0,12	/	*
Pokljuka	^b Cd: $F_{(2,10)} = 1,7706$; $p = 0,22$		As: $F_{(2,21)} = 1,1662$; $p = 0,33$	
	Hg: $F_{(2,24)} = 10,1238$ ***		Pb: $F_{(2,19)} = 0,1953$; $p = 0,82$	
I	0,31	***	/	/
II	/	*	/	/

Opombe / Notes:

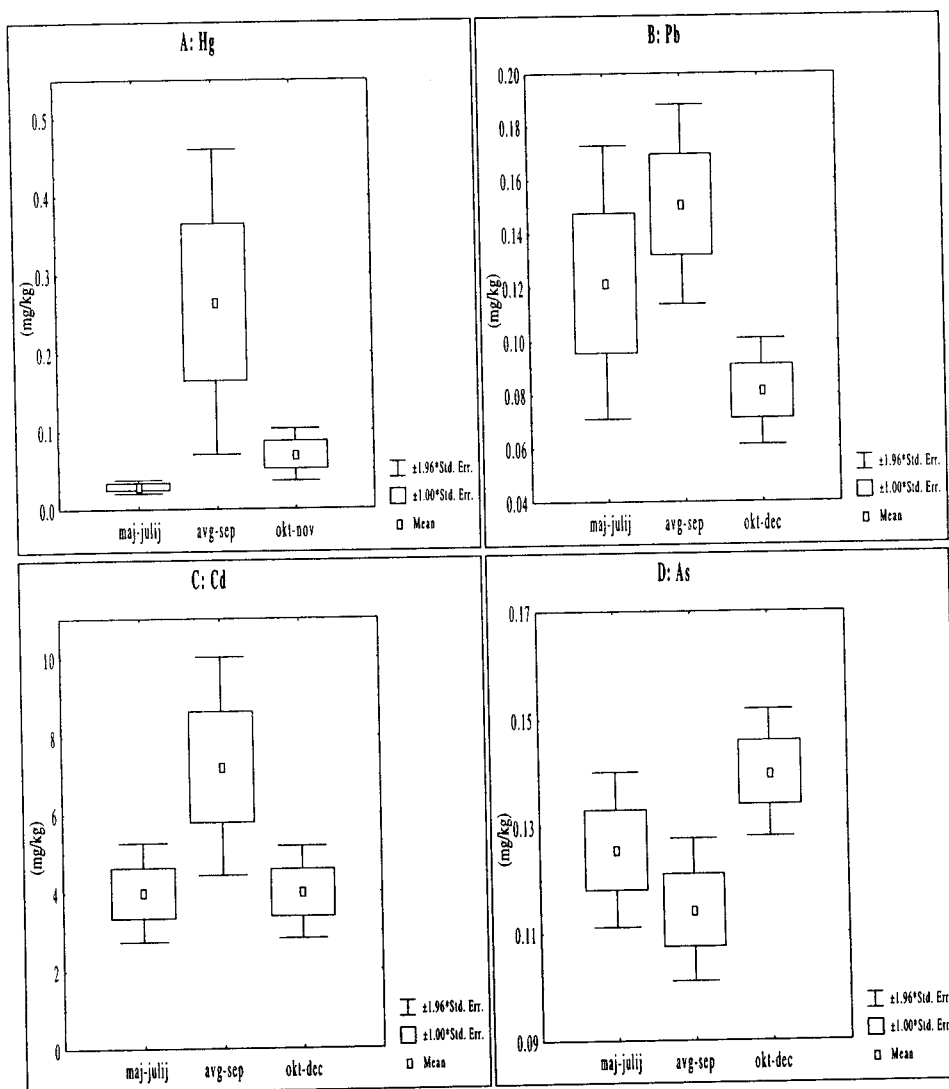
a I: maj–julij / May–July; II: avgust–september / August–Sept.; III: oktober–december / October–December

b Upoštevane so samo odrasle (2+) živali / Only adults (2+ animals) were applied

c Namesto ANOVE smo uporabili Kruskal–Wallisov test oziroma Mann–Whitney U-test / Kruskal–Wallis ANOVA and Mann–Whitney U-test were applied instead of ANOVA

n: Šaleška: $n_{(I)} = 28$ (15 za Cd), $n_{(II)} = 43$ (22), $n_{(III)} = 34$ (12); Pokljuka: $n_{(I)} = 10$ (9), $n_{(II)} = 8$ (2), $n_{(III)} = 9$ (5)

p: *** ($p < 0,001$); ** ($p < 0,01$); * ($p < 0,05$)



Grafikon 6: Vsebnosti Hg (A), Pb (B), Cd (C) in As (D) v ledvicah srnjadi, uplenjene v Šaleški dolini v treh obdobjih leta 1998. Za Cd so upoštevane le odrasle živali (za n glej preglednico 5)

Graph 6: Levels of Hg (A), Pb (B), Cd (C) and As (D) in kidneys of roe deer, shot in the Šalek Valley in three periods of the year 1998. For Cd, only adults were applied (for n, see Table 5)

Pri proučevanju sezonskega vpliva na vsebnost Cd v ledvicah srnjadi smo za dosego dovolj velikega vzorca združili kategoriji mladih (2–4) in starih (5+) živali v enotno kategorijo odraslih (2+) živali. Združitev je dopustna, ker med obema starostnima kategorijama odrasle srnjadi v Šaleški dolini nismo ugotovili razlik v vsebnostih Cd (preglednica 2), na Pokljuki pa je bil vzorec mlade srnjadi zelo majhen ($n = 4$) in enakomerno razporejen v vseh sezonah, zato nima pomembnega vpliva na ugotovitve. Vendar je HAFNER (2000) ugotovil neenakomerno starostno strukturo odstrela srnjadi, z večjim deležem odstreljenih starih živali v obdobju avgust–september v primerjavi z začetkom (srnjaki) oziroma koncem (srne) lovne dobe. Da bi morebiten vpliv neenakomerne starostne strukture odstrela zmanjšali, smo analizirali tudi interakcijo (sezona \times starost odraslih živali); ne v Šaleški dolini ($F_{(2, 43)} = 1,1251$, $p = 0,33$) ne na Pokljuki ($F_{(2, 10)} = 0,5676$, $p = 0,58$) nismo ugotovili značilnega vpliva interakcije na vsebnost Cd v ledvicah srnjadi.

V Šaleški dolini tudi nismo ugotovili razlik med prvo in drugo sezono v kategoriji enoletnih živali (t-test za neodvisne vzorce: $\bar{a}_I = 2,01$ mg/kg, $\bar{a}_{II} = 1,63$ mg/kg; $n_I = 13$, $n_{II} = 11$; $t = 0,6047$, $p = 0,55$) oziroma med drugo in tretjo sezono v kategoriji mladičev ($\bar{a}_{II} = 0,30$ mg/kg, $\bar{a}_{III} = 0,35$ mg/kg; $n_{II} = 10$, $n_{III} = 21$; $t = 0,7281$, $p = 0,47$). Očitno je torej, da se sezonske razlike pojavljajo samo za elemente s kratkim retencijskim časom v ledvicah (Pb, Hg), medtem ko so za Cd navidezno očitne sezonske razlike v kategoriji odrasle (2+) srnjadi (grafikon 6) predvsem odraz vpliva starosti oziroma neenakomerne zastopanosti deleža starih živali v letnem odstrelu.

Za vpliv sezone na vsebnost kovin v tkivih rastlinojedih parkljarjev obstajata dve širši razlagi, in sicer: a) razlike v dostopnosti določenih prehrabnih virov v različnih letnih časih (npr. TATARUCH 1991) in b) sezonske razlike v fizioloških procesih v organizmu. Med fiziološke procese, ki lahko vplivajo na vsebnosti težkih kovin, lahko uvrstimo procese, ki so neposredno povezani z izločanjem težkih kovin – npr. tvorba rogovja pri srnjakih (SAWICKA-KAPUSTA / PERZANOWSKI / BOBEK 1981) in tvorba plodu ter laktacija pri smah (KRYNSKI et al. 1982), in tiste, ki so povezani s procesom metabolizma. Med slednje sodijo različne energetske zahteve v različnih letnih časih – večja količina

zaužite hrane (in s tem več zaužitih kovin) v jesenskem času (HOLM 1983) in upad teže notranjih organov zaradi procesa katabolizma pozimi (CRETE et al. 1989).

Tvorba rogovja smjakov se prične v začetku zime; do začetka lovne dobe v maju je proces praviloma že končan, zato ne vpliva na rezultate v obdobju raziskave (maj–december). Podobno velja tudi za tvorbo plodu in laktacijo pri srnah – oba procesa potekata še pred začetkom lovne dobe nanje, zato v vzorcu niso zajete sme, ki bi bile v fazi poteka teh procesov (izjema je nepomembno število sm, ki so bile povožene). Če bi bile sezonske razlike posledica procesa katabolizma (le-ta vpliva na upad teže notranjih organov in s tem na relativno povečanje vsebnosti onesnažil, izraženo na maso organa), bi morali biti notranji organi smjadi najbolj obremenjeni s težkimi kovinami v zadnjem obdobju raziskave. Vendar so naši rezultati pokazali drugačen sezonski vpliv (najvišje vsebnosti težkih kovin smo izmerili v obdobju avgust–september), zato sklepamo, da so razlike predvsem posledica sezonskih razlik v prehrani smjadi, in sicer tako v količini kot tudi v vrstni sestavi.

Podrobnejšo razlago o vplivu različnih energetskih zahtev (količina zaužite hrane) in dostopnosti prehranbenih virov na sezonske razlike v vsebnostih težkih kovin smo podali že v prejšnjih prispevkih (POKORNY / RIBARIČ-LASNIK 2000b, 2001); domnevamo, da je izrazita kulminacija vsebnosti Hg in Pb (grafikon 5 in 6) med 15. avgustom in 15. oktobrom predvsem posledica večje zastopanosti gob v prehrani smjadi v poznem poletju in zgodnji jeseni (npr. ADAMIČ 1990, TATARUCH 1991, STRANDBERG / KNUDSEN 1994, TIXIER / DUNCAN 1996).

Višje glive so zaradi svojstvenih anatomskih in fizioloških značilnosti (zelo velika površina micelija v primerjavi z njegovim volumnom; micelij je v stiku z veliko površino zgornjih talnih horizontov, zaradi česar je izmenjava snovi v sistemu tla–podgobje zelo intenzivna; vegetativne celice nimajo nobene površinske zaščite) zelo dober bioakumulator težkih kovin, še posebej Hg (BYRNE / RAVNIK / KOSTA 1976, WODRATSCHEK / RÖDER 1993, MEJSTRIK / LEPŠOVA 1993, FALANDYSZ / CHWIR 1997). Za dokončno potrditev domneve potrebujemo več podatkov o vsebnostih težkih kovin v trosnjakih gliv in natančnejše poznavanje zastopanosti različnih vrst gob v prehrani smjadi. Vrstna sestava gob v prehrani smjadi je namreč zelo slabo poznana – Krže (2000) npr. navaja, da se smjad

rada prehranjuje s kukmaki (*Agaricus* sp.), iz lastnih opazovanj pa vemo, da tudi z velikimi dežniki (*Macrolepiota procera*); za obe vrsti je značilna zelo visoka stopnja bioakumulacije Hg in Pb (npr. KALAČ / SVOBODA 2000).

3.4 KORELACIJA V VSEBNOSTIH ELEMENTOV V LEDVICAH SRNJADI CORRELATIONS BETWEEN METAL LEVELS IN ROE DEER KIDNEYS

Najpomembnejši viri vnosov težkih kovin v ekosisteme se med elementi razlikujejo; razlikujejo se tudi mehanizmi, ki vplivajo na biodostopnost oziroma kopičenje kovin po prehranjevalni verigi. Po vstopu v organizem se kovine povezujejo z različnimi biološkimi molekulami, kar se odraža v različno dolgem retencijskem času v določenem organu. Zaradi tega so korelacije med posameznimi težkimi kovinami malo verjetne, kljub temu pa jih je smiselno proučiti – morebitne visoko značilne korelacije bi lahko bistveno racionalizirale in pocenile multielementni monitoring onesnaženosti okolja, morebitna soodvisnost z esencialnimi elementi (npr. Zn) pa bi omogočila izračun faktorja bioočiščevanja oziroma neposredno primerjavo med različnimi trofičnimi nivoji (SVETINA 1999). Zaradi tega smo znotraj obeh območij za vse pare kovin izračunali korelacijske koeficiente, ki so podani v preglednici 6.

Preglednica 6: Korelacijski koeficienti linearnih regresij za pare kovin v ledvicah srnjadi v Šaleški dolini (nad diagonalo) in na Pokljuki pod diagonalo

Table 6: Paired correlation coefficients of linear regression between HML in roe deer kidneys, shot in the Šalek Valley (above diagonal) and on the Pokljuka plateau (below diagonal)

		Šaleška dolina (n = 104)			
		Cd	Pb	Hg	As
Pokljuka (n = 22)	Cd	/	r = 0,02; p = 0,80	r = 0,15; p = 0,14	r = -0,07; p = 0,49
	Pb	r = -0,15; p = 0,52	/	r = -0,01; p = 0,94	r = -0,31; p < 0,01**
	Hg	r = 0,03; p = 0,88	r = -0,01; p = 0,96	/	r = -0,11; p = 0,29
	As	r = 0,07; p = 0,75	r = 0,32; p = 0,14	r = 0,23; p = 0,30	/

Izmed vseh možnih parov kovin smo značilno korelacijsko povezavo ugotovili le za par Pb-As v Šaleški dolini. V literaturi so za nekatere sesalce (npr. severne medvede *Ursus maritimus*) sicer opisani primeri, ko povečane vsebnosti ene kovine (Cu) v prehrabnih virih povzročijo motnje homeostatskega ravnovesja za drugo (Zn) (LAW 1996). Vendar

po nam znanih podatkih negativne korelacije med Pb in As kot posledica motenih homeostatskih mehanizmov niso bile ugotovljene. Negativna korelacija med obema elementoma je verjetno posledica različne izpostavljenosti v različnih območjih Šaleške doline. Za potrditev te hipoteze moramo poznati geografsko porazdelitev vsebnosti kovin v Šaleški dolini (za tla: SVETINA 1998, KUGONIČ / STROPNIK 2000; za srnjad POKORNY 2000b), ki kaže, da so z As najbolj obremenjeni ekosistemi v južnem delu raziskovalnega območja (občina Šmartno ob Paki). Za namene prispevka smo skušali ugotoviti povezavo med vsebnostmi kovin v ledvicah srnjadi in nekaterimi geografskimi parametri (nadmorska višina in oddaljenost od TEŠ), ki lahko vsaj delno prikaže pomen termoelektrarne za vnos težkih kovin v ekosisteme Šaleške doline.

3.5 VPLIV NADMORSKE VIŠINE IN ODDALJENOSTI OD TEŠ NA VSEBNOST TEŽKIH KOVIN V LEDVICAH SRNJADI INFLUENCE OF ALTITUDE AND DISTANCE FROM THE ŠOŠTANJ THERMAL POWER PLANT ON HML IN ROE DEER KIDNEYS

Težke kovine so lahko v določenem ekosistemu naravnega ali antropogenega izvora. Svetinova (1998) je s faktorsko analizo vsebnosti težkih kovin v tleh na območju Šaleške doline ugotovila, da so vsebnosti Pb, Cd in As predvsem rezultat antropogenega vnosa. Slednji je odvisen od številnih značilnosti obravnavanega območja – v primeru točkovnih virov emisij je npr. pomembna oddaljenost od lokalnih onesnažilnikov (npr. SILEO / BEYER 1985, OSRAJNIK 1990, POKORNY / RIBARIČ-LASNIK 2000a) in smer vetrov, v primeru daljinskega vnosa onesnažil pa je pomembna izpostavljenost območja, ki je v zelo dobri povezavi z reliefom in nadmorsko višino (FRØSLIE *et al.* 1986). Da bi okvirno določili prispevek Termoelektrarne Šoštanj k onesnaževanju okolja s težkimi kovinami, smo z multiplo regresijo skušali ugotoviti povezavo med vsebnostmi kovin v ledvicah srnjadi in oddaljenostjo mesta uplenitve od TEŠ (zračno razdaljo, zaokroženo na 100 m) oziroma njegovo nadmorsko višino (zaokroženo na 50 m). Kot odvisne spremenljivke smo v primeru Hg, Pb in As vzeli vsebnosti kovin, združeno po spolih in starostnih kategorijah, v primeru Cd pa združeno po spolih, a ločeno po starostnih kategorijah.

Za noben element nismo ugotovili značilne povezave med vsebnostmi v ledvicah ob istočasnem upoštevanju obeh neodvisnih spremenljivk (oddaljenost od TEŠ, nadmorska višina): Hg ($R^2 = 0,01$, $p = 0,50$); Pb ($R^2 = 0,05$, $p = 0,09$); As ($R^2 = 0,04$, $p = 0,10$); Cd_{0,5} ($R^2 = 0,01$, $p = 0,89$); Cd₁ ($R^2 = 0,10$, $p = 0,30$); Cd₂₋₄ ($R^2 = 0,11$, $p = 0,30$); Cd₅₊ ($R^2 = 0,03$, $p = 0,74$). Korelacijski koeficienti linearne regresije za posamezno neodvisno spremenljivko so podani v preglednici 7.

Preglednica 7: Korelacijski koeficienti linearne regresije med oddaljenostjo od TEŠ oziroma nadmorsko višino in vsebnostmi kovin v ledvicah srnjadi
 Table 7: Correlation coefficients of linear regression between distance from TEŠ (or altitude) and heavy metal levels in roe deer kidneys

	Oddaljenost od TEŠ Distance from TEŠ		Nadmorska višina Altitude	
	r	p	r	p
Hg (n = 107)	-0,11	0,28	0,09	0,40
Pb (n = 104)	-0,21	0,05	0,18	0,09
As (n = 105)	0,22	<0,05 *	-0,06	0,56
Cd _{0,5} (n = 31)	-0,04	0,86	-0,08	0,71
Cd ₁ (n = 25)	0,06	0,76	0,31	0,13
Cd ₂₋₄ (n = 24)	-0,26	0,27	0,34	0,15
Cd ₅₊ (n = 25)	-0,03	0,90	-0,15	0,52

Z izjemo As parametra geografskega položaja uplenitve nimata statistično značilnega vpliva na vsebnosti težkih kovin v ledvicah srnjadi. Vsebnosti As z oddaljenostjo od TEŠ naraščajo, kar lahko kaže, da elektrarna ni najpomembnejši onesnaževalnik s to prvino. Verjetno so pomembnejši razpršeni viri emisij, ki so povezani z uporabo arzenovih spojin kot zaščitnih sredstev v poljedelski in vinogradniški dejavnosti (npr. MATHEWS / PORTER 1989, KEITH 1996). V Šaleški dolini so bile povišane vsebnosti As ugotovljene v tleh v občini Šmartno ob Paki (SVETINA 1998, KUGONIČ / STROPNIK 2000), kmetijsko najbolj intenzivnem območju Šaleške doline. Ker sta širše območje Slatin (intenzivno poljedelstvo) in Malega Vrha (vinogradništvo) v raziskavo vključeni kot najbolj oddaljeni območji od TEŠ, lahko sklepamo, da vnos As zaradi zaščite kmetijskih površin vpliva na povišane vsebnosti tega elementa v ledvicah srnjadi.

Kljub neznačilni korelacijski povezavi vsebnosti Pb (na meji statistične značilnosti), Hg in Cd z oddaljenostjo od TEŠ vendarle upadajo, kar kaže na precejšen pomen izgorevanja

premoga pri vnosu težkih kovin v ekosisteme Šaleške doline; elektrarna je pred izgradnjo čistilne naprave letno v zrak spustila več ton Pb, Cd, Hg in As (STROPNIK *et al.* 1994). Seveda lahko na rezultate (predvsem Pb) vpliva tudi manjša obremenjenost s prometom (z oddaljenostjo od TEŠ prehajamo v hribovito obrobje doline z bistveno nižjo gostoto prometa). Onesnaževanje okolja s Pb zaradi prometa bi lahko od onesnaževanja, povzročena z elektroenergetsko dejavnostjo, ločili samo z uporabo metode izotopov (glej ÅBERG *et al.* 1999) – npr. z uporabo rogovja smjadi.

3.6 VSEBNOSTI TEŽKIH KOVIN V ŠALEŠKI DOLINI IN NA POKLJUKI HML IN THE ŠALEK VALLEY AND ON THE POKLJUKA PLATEAU

Eden glavnih ciljev raziskave je bil narediti primerjavo obremenjenosti smjadi s težkimi kovinami med dvema območjema Slovenije, za kateri smo *a priori* ocenili, da se razlikujeta glede stopnje onesnaženosti (Šaleška dolina kot emisijsko območje TEŠ, Pokljuka brez pomembnih lokalnih virov emisij). V preglednici 8 so podane aritmetične sredine z odklonom zaupanja ($\bar{a} \pm t_{0,05} * SE$), mediane (Me), minimalne in maksimalne vsebnosti kovin v obeh območjih. Upošteva ugotovitve o vplivu spola, starosti in sezone so rezultati za vse kovine podani združeno po spolih, a ločeno po starostnih kategorijah (Cd) oziroma sezonah odstrela (Hg, Pb).

Zaradi motečega vpliva starosti živali na vsebnosti Cd smo primerjavo med območjema naredili ločeno za Cd (t-test znotraj starostnih kategorij) in za preostale kovine (diskriminativna analiza). Pri primerjavi smo zanemarili vpliv sezone, saj med območjema nismo ugotovili značilnih razlik v deležu vzorcev po sezonah (Šaleška dolina: 26 % (I), 41 % (II) in 33 % (III); Pokljuka: 37 %, 30 % in 33 %; Brandt-Snedecor test: $df = 2$, $\chi^2 = 1,3649$, $p > 0,50$).

Z diskriminativno analizo smo ugotovili statistično značilne razlike v vsebnostih Hg, As in Pb ($F_{(3, 122)} = 12,3009$, $p < 0,001$) med obema območjema, in sicer so vsebnosti vseh treh elementov značilno višje na Pokljuki (glej tudi preglednico 8): Hg ($F_{(1, 122)} = 20,0876$, $p < 0,001$), As ($F_{(1, 122)} = 11,5535$, $p < 0,001$) in Pb ($F_{(1, 122)} = 4,4920$, $p < 0,05$). Na Pokljuki so visoko značilno višje tudi vsebnosti Cd v ledvicah starih živali ($t = 4,3138$, $df = 35$, $p < 0,001$) in mladičev ($t = 5,1872$, $df = 33$, $p < 0,001$), medtem ko za enoletne ($t =$

0,4877, $df = 26$, $p = 0,63$) in mlade živali ($t = -0,1628$, $df = 26$, $p = 0,87$) razlik nismo ugotovili.

Preglednica 8: Vsebnosti Cd, Pb, Hg in As v ledvicah srnjadi, uplenjene v letu 1998 v Šaleški dolini in na Pokljuki (mg/kg svežega vzorca)

Table 8: Levels of Cd, Pb, Hg and As in kidneys of roe deer, shot in the Šalek Valley and on the Pokljuka plateau in 1998 (mg/kg wet weight)

	Šaleška dolina					Pokljuka				
	n	$\bar{a} \pm t_{0,05} * SE$	Me	Min	Max	n	$\bar{a} \pm t_{0,05} * SE$	Me	Min	Max
Cd^a										
0,5	31	0,33 ± 0,06	0,31	0,12	0,95	4	1,30 ± 1,34	1,20	0,47	2,34
1	25	1,82 ± 0,63	1,18	0,26	6,12	3	1,99 ± 2,98	1,87	0,85	3,24
2-4	24	4,71 ± 1,33	4,31	0,73	13,1	4	4,12 ± 4,18	3,68	1,44	7,68
5+	25	6,16 ± 2,59	4,37	1,29	32,6	12	13,8 ± 4,15	11,6	5,14	27,3
Hg										
Σ^b	107	0,14 ± 0,08	0,037	0,010	3,20	27	0,23 ± 0,09	0,152	0,014	0,754
Maj-julij	29	0,03 ± 0,01	0,023	0,010	0,139	10	0,10 ± 0,08	0,050	0,018	0,401
Avg-sep	43	0,27 ± 0,20	0,052	0,012	3,20	8	0,20 ± 0,27	0,134	0,014	0,547
Okt-dec	35	0,07 ± 0,03	0,042	0,010	0,601	9	0,42 ± 0,13	0,341	0,240	0,754
Pb										
Σ^b	104	0,12 ± 0,02	0,09	0,01	0,76	22	0,15 ± 0,04	0,12	0,05	0,52
Maj-julij	27	0,12 ± 0,06	0,09	0,04	0,76	9	0,16 ± 0,09	0,12	0,05	0,52
Avg-sep	43	0,15 ± 0,04	0,10	0,01	0,54	6	0,16 ± 0,11	0,10	0,08	0,32
Okt-dec	34	0,08 ± 0,02	0,07	0,01	0,27	7	0,12 ± 0,04	0,12	0,05	0,16
As	105	0,13 ± 0,01	0,13	0,01	0,23	24	0,15 ± 0,01	0,16	0,11	0,20

Opombe / Notes:

- a Vsebnosti so podane ločeno po starostnih kategorijah (0,5: mladiči; 1: enoletniki; 2-4: mlade živali; 5+: stare živali) / Metal levels are presented separately by age classes (0,5: fawns; 1: yearlings; 2-4: young adults; 5+: elderly adults, respectively)
- b Združeni rezultati za celotno obdobje raziskave / Pooled data for the entire study period

Ugotovitev o višjih vsebnostih težkih kovin na Pokljuki v primerjavi s Šaleško dolino je v nasprotju z našimi pričakovanji, a je v primeru Cd v skladu z ugotovitvami o značilno višji letni in dnevni stopnji akumulacije tega elementa v ledvicah srnjadi na alpski planoti (podpoglavje 3.2.1). Pri tem je potrebno omeniti, da tudi na Pokljuki vsebnosti elementov ne dosegajo vrednosti, ki bi neposredno ogrožale zdravstveno stanje osebkov – za Cd znaša kritična vsebnost v ledvicah malih sesalcev približno 100 mg/kg (PASCOE / BLANCHET / LINDER 1996, COOKE / JOHNSON 1996); za Pb 4-4,5 mg/kg (MA 1996); za Hg 30 mg/kg (THOMPSON 1996) – in so v primeru Hg za dva velikostna razreda nižje, kot so bile izmerjene v ledvicah srnjadi iz okolice Idrije (BREGANT 1999,

GNAMUŠ / BYRNE / HORVAT 2000), v primeru Cd pa so primerljive z Zgornjo Mežiško dolino (POKORNY 1999b).

Čeprav so višje vsebnosti težkih kovin v ledvicah srnjadi na Pokljuki presenetljive, pa FRØSLIE *et al.* (1986) razlagajo povišane vsebnosti Cd v ledvicah severnih jelenov z Norveške ravno z izbiro raziskovalnega območja na gorski planoti, kjer vladajo svojstveni abiotski in biotski pogoji. Dejavniki okolja, ki lahko vplivajo na povišane vsebnosti kovin na Pokljuki kot visoki planoti, so:

- Večja količina padavin v kombinaciji s smrekovimi sestoji: iglavci s svojo veliko površino krošenj in iglic skozi celo leto prestrezajo moker in suh depozit; s sestojnimi padavinami prispejo težke kovine v koncentrirani obliki v gozdna tla, od koder lahko prehajajo v prehranjevalno verigo (KALAN *et al.* 1999).
- Nižja pH vrednost tal (posledica zasmrečenosti, večje količine padavin in nižjih temperatur na Pokljuki): vpliva na večjo mobilnost težkih kovin (zlasti Cd) oziroma večji privzem iz tal v rastline, večja količina organske snovi pa njihov privzem nevtralizira; četudi so vsebnosti Cd v tleh nizke, lahko zakisana tla povzročijo zelo močno biomagnifikacijo vzdolž prehranjevalne verige (MA / VAN DER VOET 1993).
- Spreminjanje dostopnosti prehrabnih virov z nadmorsko višino: z višanjem nadmorske višine se v prehrani prostoživečih živali povečuje delež trajnic, ki akumulirajo težke kovine skozi daljše obdobje; zato vsebujejo tkiva planinskih zajcev (*Lepus timidus*) na Finskem več Cd od tkiv poljskih zajcev (*Lepus europaeus*) (VENÄLÄINEN / NIEMI / HIRVI 1996).
- Pogostnost pojavljanja trosnjakov gliv: velika dostopnost gob v poletnem in jesenskem času lahko – upošteva je njihov izredno visok bioakumulacijski potencial in sezonsko pomembno zastopanost v prehrani srnjadi – vpliva predvsem na izrazito povišane vsebnosti Hg v tem obdobju.
- Daljinski transport onesnažil: za težke kovine (npr. Pb) je značilno, da se prenašajo na velike razdalje, zato so obremenitve ekosistemov lahko močno povečane tudi daleč od industrijskih središč (npr. ÅBERG *et al.* 1999).

Visoke vsebnosti težkih kovin v tkivih srnjadi na Pokljuki kažejo, da samo s predpisanimi analizami anorganskih medijev v bližini večjih virov emisij ne moremo dobiti celostne predstave o ogroženosti višjih členov prehranjevalnih verig zaradi izpostavljenosti onesnažilom. Za izdelavo ekosistemske ocene tveganja je nujen integralen pristop, ki poleg meritev fizikalno-kemijskih parametrov v anorganskih medijih vključuje tudi meritve vsebnosti onesnažil v biocenozah – tudi daleč stran od znanih onesnažilnikov.

3.7 LEDVICE KOT ODZIVNI BIOINDIKATOR ONESNAŽENOSTI S TEŽKIMI KOVINAMI **KIDNEYS AS A REACTIVE BIOINDICATOR OF HEAVY METAL POLLUTION**

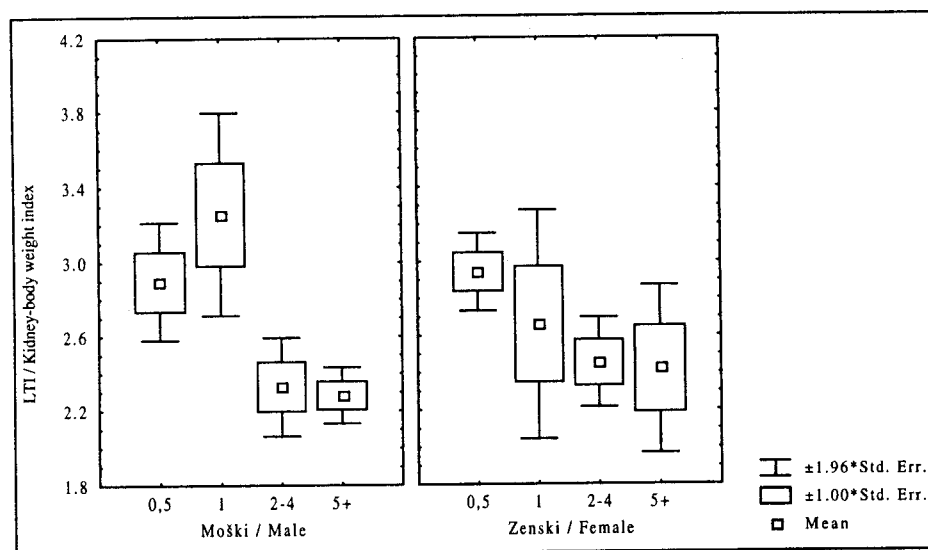
Povečana velikost notranjih organov v primerjavi z velikostjo telesa je lahko dober reakcijski bioindikator izpostavljenosti organizma povišanim koncentracijam nekaterih težkih kovin, npr. Pb (MA 1996). Odzivna bioindikacija ima številne prednosti pred akumulacijsko (nizki stroški, ne potrebujemo zahtevnih aparatov, enostavno vzorčenje in opravljanje meritev), zato smo poskusili ugotoviti povezavo med vsebnostmi težkih kovin in relativno težo ledvic glede na težo telesa (LTI). Podobno kot pri ugotavljanju vpliva na vsebnost kovin smo tudi za LTI najprej poskusili izločiti vpliv spola in starosti (dvofaktorica ANOVA) ter sezone odstrela (linearna regresija z zaporednim dnevom v letu kot neodvisno spremenljivko).

Na Pokljuki nismo ugotovili značilnega vpliva spola ($F_{(1, 19)} = 0,6082$, $p = 0,45$), starosti ($F_{(3, 19)} = 0,6541$, $p = 0,59$) oziroma interakcije spol x starost ($F_{(3, 19)} = 2,1362$, $p = 0,13$) na LTI. Tudi v Šaleški dolini za spol ($F_{(1, 85)} = 0,2042$, $p = 0,65$) in interakcijo ($F_{(3, 85)} = 1,0990$, $p = 0,35$) nismo ugotovili značilnega vpliva, zato pa na LTI značilno vpliva starost živali, izražena s starostnimi kategorijami ($F_{(3, 85)} = 4,3073$, $p < 0,01$). S starostjo LTI upada (grafikon 7), pri čemer je izjema kategorija lanščakov (Spjotvoll-Stoline posteriorni test: $p < 0,05$ z obema kategorijama odrasle srnjadi).

Visok LTI v kategoriji lanščakov je lahko posledica izbirnega odstrela (odstrel telesno šibkih osebkov je najlažji v tej kategoriji). Slaba telesna razvitost lanščakov je pogosto posledica močne okuženosti z zajedavci (KRŽE 2000); le-ti nimajo pomembnega vpliva

na velikost ledvic. Upad teže s starostjo v drugih kategorijah kaže, da se rast ledvic srnjadi konča hitreje kot telesna rast.

Da bi zmanjšali vpliv telesnega razvoja na LTI, smo le-tega analizirali le v združeni kategoriji odrasle srnjadi; z dopolnjenima dvema letoma starosti se telesna rast srnjadi namreč konča (*ibid.*), med mlado in staro srnjadjo pa nismo ugotovili značilnih razlik v vrednosti LTI (t-test: $\bar{a}_{2-4} = 2,3707$, $\bar{a}_{5+} = 2,3373$; $n_{2-4} = 21$, $n_{5+} = 20$; $t = 0,2382$, $p = 0,81$).



Grafikon 7: Vpliv spola in starosti na LTI (teža ledvice / teža telesa; g/kg) srnjadi v Šaleški dolini

Graph 7: Influence of sex and age on roe deer kidney-body weight (g/kg) index in the Šalek Valley

Vpliv sezone na LTI smo proučevali z izračunom linearne regresije v združeni kategoriji odrasle srnjadi. V Šaleški dolini korelacijski koeficient sicer ni značilno različen od 0 ($n = 41$, $r = -0,2846$, $p = 0,07$), vendar je na meji statistične značilnosti in kaže, da LTI proti koncu leta upada (posledica procesa katabolizma, zaradi katerega lahko teža notranjih organov jelenov upade tudi do dvakrat; CRETE et al. 1989). Vpliv sezone na velikost LTI je zato smiselno upoštevati pri primerjavi indeksov med območjema. Le-to smo opravili z analizo kovariance (kovariata: zaporedni dan v letu). Kljub značilno višjim vsebnostim vseh

obravnavanih kovin na Pokljuki v vrednostih LTI med območjem nismo ugotovili značilnih razlik (ANCOVA: $F_{(1, 117)} = 0,4413$, $p = 0,51$).

Vpliv težkih kovin na LTI smo proučevali z multiplo regresijo znotraj območij, in sicer smo kot neodvisne spremenljivke vzeli vsebnosti Cd, Pb, Hg in As v ledvicah odrasle (2+) srnjadi. Multipla regresija ni bila značilna v nobeni kombinaciji kovin ne v Šaleški dolini ne na Pokljuki; korelacijski koeficienti linearne regresije po kovinah so podani v preglednici 9.

Preglednica 9: Korelacijski koeficienti linearne regresije med vsebnostmi kovin v ledvicah srnjadi in LTI (upoštevane so le odrasle živali)

Table 9: Correlation coefficients of linear regression between heavy metal levels in roe deer kidneys and kidney-body weight index (only adults were applied)

	Šaleška dolina (n = 41)		Pokljuka (n = 15-19)	
	r	p	r	p
Hg	-0,08	0,62	0,15	0,55
Pb	-0,28	0,08	-0,27	0,34
As	-0,10	0,54	-0,06	0,80
Cd	0,24	0,14	0,45	0,08

Čeprav vsebnost nobene kovine ne vpliva značilno na vrednost LTI, sta korelacijska koeficienta za Pb (Šaleška dolina) in Cd (Pokljuka) na meji statistične značilnosti; elementa delujeta v obeh območjih v nasprotno smer. MA (1996) navaja, da imajo mali sesalci, ki so zpostavljeni visokim koncentracijam Pb, bistveno povišane vrednosti LTI. Nasprotno smo ni ugotovili negativno povezavo med vsebnostmi Pb v ledvicah in vrednostjo LTI, kar lahko kaže, da kopičenje Pb v prehranjevalni verigi ni problematično niti v Šaleški dolini niti na Pokljuki. Vendar pa neznačilne povezave med vsebnostmi težkih kovin in vrednostjo LTI, antagonističen vpliv kovin in neznačilnost razlikovanj prilagojenih LTI med območjema opozarjajo, da LTI srnjadi pri zmerni izpostavljenosti težkim kovinam ni uporaben bioindikator za ugotavljanje obremenjenosti ekosistemov s to skupino strupenih snovi.

4 ZAKLJUČKI **CONCLUSIONS**

Srnjad ustreza številnim kriterijem, ki naj bi jih izpolnjevala vrsta, katero želimo uporabiti kot bioindikator onesnaženosti okolja s težkimi kovinami. Vendar je vsak osebek srnjadi individuum s sebi svojstvenim prostorskim in prehranjevalnim vedenjskim vzorcem ter z lastnimi fiziološkimi procesi in homeostatskimi mehanizmi, zato individualni biološki dejavniki vplivajo na vsebnosti težkih kovin v tkivih vsake posamezne živali. Ugotovitev zahteva zbiranje dovolj velikega vzorca in upoštevanje nekaterih osnovnih bioloških dejavnikov, kot so spol, starost in sezonske razlike v dostopnosti prehrabnih virov ter v fizioloških procesih.

Dejstvo, da v vsebnostih težkih kovin ni razlik med spoloma, omogoča njuno združitev oziroma zbiranje dovolj velikega vzorca v celotnem obdobju lovne dobe na srnjad. Vpliv starosti na vsebnosti Cd kot ene najbolj problematičnih težkih kovin ne zmanjšuje bioindikacijskega pomena vrste, vendar zahteva sistematičen pristop pri zbiranju vzorcev. V primeru, da je bioindikacija edini cilj raziskave, je z omejitvijo raziskave na mladiče in enoletne živali (zanje lahko starost določimo skoraj do dneva natančno) možna relativno visoka stopnja standardizacije ob hkratnem izračunu dnevne in letne stopnje akumulacije. Le-ta omogoča dobro in natančno primerljivost izpostavljenosti živali med območji in med različnimi časovnimi obdobji, pomembna pa je tudi za izdelavo ocene tveganja, ki za določeno vrsto največkrat temelji na poznanem dnevnem vnosu strupenih snovi v organizem.

Vključitev odraslih živali je potrebna le v primeru, če želimo v raziskavo vključiti tudi sanitarno-higienski vidik (ugotavljanje primernosti organov srnjadi za prehrano ljudi). Vendar lahko tudi v tem primeru zaradi visoke soodvisnosti v vsebnostih težkih kovin med ledvicami in jetri raziskavo racionaliziramo z vključitvijo enega samega ciljnega organa. Zaradi številnih prednosti (večja stopnja akumulacije in občutljivosti za večino težkih kovin, lažje zbiranje in shranjevanje vzorca, majhna možnost sekundarnega onesnaženja) je smiselno kot ciljni organ izbrati ledvice. Na visoko občutljivost tega organa na že majhne spremembe v dostopnosti onesnažil kažejo sezonske razlike v vsebnostih nekaterih težkih kovin; časovno kratko obdobje sezonske kulminacije

vsebnosti kovin opozarja na pomemben prispevek nekaterih prehrabnih virov, ki se intenzivno pojavljajo le v določenem obdobju leta, a imajo zelo veliko sposobnost bioakumulacije kovin iz anorganskih medijev.

Če želimo ugotoviti dejansko obremenjenosti ekosistemov s strupenimi snovmi, zgolj zakonsko predpisane meritve koncentracij v vodi, tleh in zraku niso dovolj. Korektno oceno tveganja za višje člene prehranjevalnih verig lahko zagotovimo le s celostnim pristopom, ki vključuje tudi določitev ostankov onesnažil v izbranih komponentah biocenoz. Zaradi razširjenosti vrste, njenih ekoloških in bioloških karakteristik, visokega odstrela in občutljivosti organov na že majhne spremembe v okoljskih koncentracijah onesnažil je – ob uvedbi standardiziranega protokola, za katerega predstavljajo naše ugotovitve dobro izhodišče – srnjad zelo primerna vrsta za vseslovenski in celo vseevropski monitoring obremenjenosti okolja s težkimi kovinami.

5 POVZETEK

Onesnaženost okolja lahko ugotavljamo s pomočjo bioindikatorjev – organizmov, ki dajejo informacije o kakovosti njihovega življenjskega okolja. Srnjad ustreza številnim kriterijem, ki naj bi jih izpolnjevala vrsta, katero želimo uporabiti v bioindikativne namene: visoka stopnja bioakumulacije strupenih snovi; pozitivna povezava med vnosom strupenih snovi v ekosisteme in akumulacijo v tkivih; vrsta ni ogrožena in ima ekološki optimum skoraj povsod v Evropi; teritorialen način življenja z majhnim arealom aktivnosti; ekološke in fiziološke značilnosti vrste so dobro poznane; etično sprejemljivo vzorčenje v sklopu rednega odstrela živali.

Vendar je vsak osebek srnjadi individuum s sebi svojstvenim prostorskim in prehranjevalnim vedenjskim vzorcem ter z lastnimi fiziološkimi procesi in homeostatskimi mehanizmi, zato individualni biološki dejavniki vplivajo na vsebnosti težkih kovin v tkivih vsake posamezne živali. Z raziskavo smo zato skušali: a) ovrednotiti vpliv spola, starosti in sezone odstrela na vsebnosti Cd, Pb, Hg in As v ledvicah srnjadi, uplenjene v letu 1998 v Šaleški dolini in na Pokljuki; b) narediti primerjavo med

obremenjenostjo ledvic srnjadi med obema območjema; c) določiti vpliv Termoelektrarne Šoštanj na vsebnost težkih kovin v ledvicah srnjadi v Šaleški dolini; d) preizkusiti možnost uporabe ledvic kot reakcijskega bioindikatorja onesnaženosti okolja s težkimi kovinami (ledvica–telo indeks).

V letu 1998 smo v sklopu rednega odstrela srnjadi zbrali ledvice 114 osebkov srnjadi iz Šaleške doline in 29 osebkov s Pokljuke. Za določitev vsebnosti Hg smo uporabili hidridno tehniko atomske absorpcijske spektrometrije, za določitev Cd, Pb in As pa tehniko plazmatske masne spektrometrije (ICP-MS). Ugotovili smo, da:

- se teže in vsebnosti kovin ne razlikujejo med levo in desno ledvico, kar močno olajša standardizacijo uporabe srnjadi v bioindikativne namene – tudi ob sodelovanju velikega števila lovcev amaterjev;
- obstaja značilna soodvisnost v vsebnostih kovin med ledvicami in jetri istih osebkov, kar omogoča racionalizacijo dela z vključitvijo enega samega ciljnega organa (ledvic);
- spol ne vpliva na vsebnost nobene izmed proučevanih kovin, kar omogoča združitev rezultatov po spolu oziroma zagotovitev dovolj velikega vzorca skozi večji del leta;
- starost živali ne vpliva na vsebnosti Pb, Hg in As, zato pa s starostjo značilno naraščajo vsebnosti Cd, kar zahteva ločeno obravnavo po starostnih kategorijah;
- linearno naraščanje vsebnosti Cd s starostjo omogoča izračun letne in dnevne stopnje akumulacije, koristnih pripomočkov za primerjalno ugotavljanje izpostavljenosti vrste med območji in med različnimi obdobji;
- ima sezona odstrela značilen vpliv na vsebnosti Hg in Pb v ledvicah srnjadi; kulminacija v poznem poletju in zgodnji jeseni je odraz količinskih in kakovostnih sprememb v prehranjevanju (sezonsko pogojene energetske zahteve, dostopnost nekaterih rastlinskih vrst z zelo veliko bioakumulacijsko sposobnostjo);
- vsebnosti ene kovine v ledvicah srnjadi praviloma niso odvisne od vsebnosti drugih, temveč so odvisne predvsem od vsebnosti v njihovem življenjskem okolju;
- vsebnosti kovin (izjema je As) v ledvicah srnjadi z oddaljenostjo od TEŠ upadajo, kar kaže, da je izgorevanje premoga še vedno pomemben vir vnosa težkih kovin v ekosisteme Šaleške doline; vendar je TEŠ v primerjavi z nekaterimi drugimi viri

težkih kovin (promet, kmetijstvo, metalurgija) v slovenskem prostoru manj pomemben onesnaževalnik s to skupino strupenih snovi;

- vsebujejo ledvice srnjadi na Pokljuki značilno višje vsebnosti Hg, Cd, As in Pb v primerjavi s Šaleško dolino; tudi stopnja časovne akumulacije Cd v ledvicah je na Pokljuki značilno višja; večja obremenjenost srnjadi na Pokljuki je lahko posledica daljinskega transporta onesnažil in ekoloških značilnosti območja (večja količina padavin, nižje temperature, zasmrečenost sestojev, večji delež trajnic v prehrani srnjadi, velika dostopnost trosnjakov gliv);
- vsebnosti nobene težke kovine niso ne v Šaleški dolini ne na Pokljuki tako visoke, da bi ogrožale vitalnost osebkov oziroma dolgoživost populacij;
- relativna teža ledvic v primerjavi s težo celotnega telesa (LTI) srnjadi ni uporaben bioindikator za ugotavljanje obremenjenosti ekosistemov s težkimi kovinami.

Če želimo ugotoviti dejansko obremenjenost ekosistemov s strupenimi snovmi, zgolj zakonsko predpisane meritve koncentracij v vodi, tleh in zraku niso dovolj. Korektno oceno tveganja za višje člene prehranjevalnih verig lahko zagotovimo le s celostnim pristopom, ki vključuje tudi določitev ostankov onesnažil v izbranih komponentah biocenoze. Zaradi svojih ekoloških in bioloških karakteristik je srnjad zelo primerna vrsta za vseslovenski in celo vseevropski monitoring obremenjenosti okolja s težkimi kovinami.

6 SUMMARY

*Pollution of the environment can be determined with the help of bioindicators – organisms which give information on the quality of their environment. The roe deer (*Capreolus capreolus* L.) complies with numerous criteria which should be fulfilled by a suitable bioindicator of environmental pollution: a high accumulation rate; the existence of a correlation between bioaccumulation and input of toxic substances to the ecosystem; the species is not threatened and has an ecological optimum almost all over the Europe;*

animals exhibit territorial behaviour with a small home range, therefore they reflect environmental conditions in a well defined area; the ecological and physiological characteristics of the species are well known; a high annual bag enables easy sampling procedure without ethical hesitations. However, each animal is an unique being with its own spatial pattern and feeding behaviour as well as with different physiological processes and homeostatic mechanisms. Since individual biological factors influence heavy metal levels (HML) in tissues of each animal, the aims of the present study were as follows: a) to ascertain the influence of sex, age and season on Cd, Pb, Hg and As levels in roe deer kidneys, shot in two areas of Slovenia in 1998; b) to compare metal burdens in deer kidneys between the Šalek Valley and the Pokljuka high plateau; c) to assess the influence of the Šoštanj Thermal Power Plant on HML in roe deer kidneys; d) to test the employability of roe deer kidneys as a reaction bioindicator (somatic kidney index) of environmental pollution with heavy metals.

Kidneys of 143 roe deer, shot under the regular shooting allocations in the Šalek Valley ($n = 114$) and on the Pokljuka high plateau ($n = 29$) were collected in 1998. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was used for the determination of Cd, Pb and Zn, while the atomic absorption spectrometry (hydride technique) was used for the determination of Hg. Our findings were as follows:

- HML do not differ between left and right kidney, what facilitate the general application of roe deer kidneys as biomonitoring tool in a standardised way, even in collaboration with numerous nonprofessional hunters.
- Significant correlation in HML between kidney and liver enables rationalisation of routine monitoring with employment of only one target organ (e. g. kidney).
- Sex has no influence on HML, which enables pooling of data regardless to sex and consequently obtaining enough samples almost all over the year.
- The animal's age has no influence on Pb, Hg and As levels; however, Cd levels significantly increase with age, therefore, for the last element, interpretation of results has to be made separately by age classes.

- *A linear increase of Cd levels with age enables the assessment of an annual and even a daily accumulation rate, which may both be a very useful tool for spatial as well as temporal comparisons of species exposure.*
- *The season of shooting has a significant influence on Hg and Pb levels, being the highest in late summer and early autumn, what is the result of both quantitative and qualitative changes in feeding behaviour (seasonally different energetic demands and availability of some plant species with very high bioaccumulative capacity).*
- *Levels of chosen heavy metal in roe deer kidney are not correlated with levels of other metals, but they rather depend on its burdens in the environment.*
- *HML (except for As) in roe deer kidneys decrease with the distance from the TEŠ, which reveals that coal burning is still an important source of heavy metals entering the food-chain in the Šalek Valley. However, it seems that the power plant is a less important origin of heavy metals in comparison with some other anthropogenic sources (e. g. traffic, agriculture, smelting activity) in Slovenia.*
- *On the Pokljuka plateau, levels of all metals are higher in comparison with the Šalek Valley; the daily and yearly accumulation rate of Cd are higher on the Pokljuka plateau as well, which may be the consequence of long-range transport, but also ecological characteristics of the area should be bear in mind (higher amount of precipitation, spruce-dominated forests, perennials are presumably more frequent in roe deer nutrition, high availability of mushroom's fruiting bodies etc.).*
- *Nevertheless, either in the Šalek Valley or on the Pokljuka plateau levels of all metals are well beyond limits, which might threaten viability of populations.*
- *Finally, roe deer kidney-body weight index is not a relevant bioindicator of heavy metal burdens in the environment.*

Obligatory measurements of chemical concentrations in air, water and soil are inadequate for complete determination of exposure to toxic substances in the environment. The actual risk for entire food-chain can be assessed only by employing an integral way, which also includes the survey of residues in selected components of the

biocenosis. Due to its ecological and biological characteristics, the roe deer is a very suitable biomonitoring species both in Slovenia as well as in the rest of Europe.

7 VIRI

- ÅBERG, G. / FOSSE, G. / STRAY, H., 1998. Man, nutrition and mobility: a comparison of teeth and bone from the Medieval era and the present from Pb and Sr isotopes.- *Sci. Total Environ.*, 224, s. 109-119.
- ÅBERG, G. / PACYNA, J. M. / STRAY, H. / SKJELKVÅLE, B. L., 1999. The origin of atmospheric lead in Oslo, Norway, studied with the use of isotopic ratios.- *Atmosph. Environ.*, 33, s. 3335-3344.
- ADAMIČ, M., 1990. Prehranske značilnosti kot element načrtovanja, varstva, gojitve in lova parkljaste divjadi s poudarkom na jelenjadi (*Cervus elaphus* L.).- *Strokovna in znanstvena dela*, 105, 203 s.
- ANDERSEN, R. / LINNELL, J. D. C., 1997. Variation in maternal investment in a small cervid; the effects of cohort, sex, litter size and time of birth in roe deer (*Capreolus capreolus*) fawns.- *Oecologia*, 109, s. 74-79.
- ANDERSEN, R. / DUNCAN, P. / LINNELL, J.D.C. (eds.), 1998. The European roe deer: the biology of success.- Oslo, Scandinavian University Press, 376 s.
- BATIČ, F., 1997. Pomen bioindikacije pri spremljanju stanja okolja.- V: Dejanovič, B. / Ribarič-Lasnik, C. (eds.). Sanacija termoelektrskih objektov: zbornik 1. mednarodnega simpozija. Šoštanj, Termoelektrarna Šoštanj, s. 291-294.
- BLOTTNER, S. / FRÖLICH, K. / ROELANTS, H. / STREICH, J. / TATARUCH, F., 1999. Influence of environmental cadmium on testicular proliferation in roe deer.- *Reproduc. Toxicol.*, 13, s. 261-267.
- BÖHM, L., 1996. Regionsspezifisches Monitoring von Schadstoffen in Reh- und Schwarzwild.- V: Anon. (ed.). Belastung von Säugetieren mit Umweltschadstoffen: Tagungsband zum Workshop. Karlsruhe, Badische Landesbibliothek, s. 218-226.
- BREGANT, R., 1999. Prisotnost živega srebra pri smah (*Capreolus capreolus* L.) iz okolice Idrije, Podljubelja in Kočevja.- *Diplomska naloga*. Ljubljana, BF, Oddelek za biologijo, 50 s.
- BYRNE, A. R. / RAVNIK, V. / KOSTA, L., 1976. Trace element concentrations in higher fungi.- *Sci. Total Environ.*, 6, s. 65-78.
- COOKE, J. A. / JOHNSON, M. S., 1996. Cadmium in small mammals.- V: Beyer, W. N. / Heinz, G. H. / Redmon-Norwood, A. W. (eds.). Environmental contaminants in wildlife. New York, Lewis publishers, s. 377-388.
- CHYLA, A. / LORENZ, K. / GAGGI, C. / RENZONI, A., 1996. Pollution effects on wildlife: roe deer antlers as non-destructive bioindicator.- *Environ. Protect. Engin.*, 22, s. 65-70.
- CRETE, M. / POTVIN, F. / WALSH, P. / BENEDETTI, J. / LEFEBVRE, M. A. / WEBER, J. / PAILLARD, G. / GAGNON, J., 1987. Pattern of cadmium contamination in the liver and kidney of moose and white-tailed deer in Quebec.- *Sci. Total Environ.*, 66, s. 45-53.
- CRETE, M. / NAULT, R. / WALSH, P. / BENEDETTI, J. / LEFEBVRE, M. A. / WEBER, J., 1989. Variation in cadmium content of caribou tissues from northern Quebec.- *Sci. Total Environ.*, 80, s. 103-112.
- DOGANOC, D. / ŠINIGOJ-GAČNIK, K., 1995. Lead and cadmium in meat and organs of game in Slovenia.- *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 54, s. 166-170.

- ERIKSSON, O. / FRANK, A. / NORDKVIST, M. / PETERSSON, L. R., 1990. Heavy metals in reindeer and their forage plants.- *Rangifer*, 3, s. 315-331.
- FALANDYSZ, J. / CHWIR, A., 1997. The concentrations and bio-concentration factors of mercury in mushrooms from the Mierzeja Wislana sand-bar, Northern Poland.- *Sci. Total Environ.*, 203, s. 221-228.
- FRØSLIE, A. / HAUGEN, A. / HOLT, G. / NORHEIM, G., 1986. Levels of cadmium in liver and kidneys from Norwegian cervides.- *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 37, s. 453-460.
- GAILLARD, J. M. / DELORME, D. / JULLIEN, J. M. / TATIN, D., 1993. Timing and synchrony of births in roe deer.- *J. Mamm.*, 74, s. 738-744.
- GAMBERG, M. / SCHEUHAMMER, A. M., 1994. Cadmium in caribou and muskoxen from the Canadian Yukon and Northwest Territories.- *Sci. Total Environ.*, 143, s. 221-234.
- GLOOSCHENKO, V. / DOWNES, C. / FRANK, R. / BRAUN, H. E. / ADDISON, E. M. / HICKIE, J., 1988. Cadmium levels in Ontario moose and deer in relation to soil sensitivity to acid precipitation.- *Sci. Total Environ.*, 71, s. 173-186.
- GNAMUŠ, A. / HORVAT, M., 1999. Mercury in terrestrial food webs in the Idrija mining area.- V: Ebinghaus, R. (ed.). *Mercury contaminated sites: characterisation, risk assessment and remediation*. Berlin, Springer, s. 281-320.
- GNAMUŠ, A. / BYRNE, A. R. / HORVAT, M., 2000. Mercury in the soil-plant-deer-predator food chain of a temperate forest in Slovenia.- *Environ. Sci. Technol.*, 34, s. 3337-3345.
- GRODZINSKA, K., GRODZINSKI, W. / ZEVELOFF, S. I., 1983. Contamination of roe deer forage in a polluted forest of southern Poland.- *Environ. Pollut. (Ser. A)*, 30, s. 257-276.
- GUFLER, H. / TATARUCH, F. / ONDERSCHEKA, K., 1997. Investigation of the lead, cadmium and mercury contents in the organs and muscles of roe deer and chamois in southern Tyrol.- *Z. Jagdwiss.*, 43, s. 240-250.
- HAFNER, M., 2000. Časovna dinamika odstrela srnjadi.- *Lovec*, 83, s. 497-501.
- HECHT, H. / SCHINNER, W. / KREUZER, W., 1984. Endogene und exogene Einflüsse auf die Gehalte an Blei und Cadmium in Muskel und Organproben von Rehwild: Einfluss von Alter und Versuchsort.- *Fleischwirtschaft*, 64, s. 967-969.
- HEWISON, A. J. M. / GAILLARD, J. M., 1996. Birth-sex ratios and local resource competition in roe deer, *Capreolus capreolus*.- *Behav. Ecol.*, 7, s. 461-464.
- HEWISON, A. J. M. / VINCENT, J. P. / REBY, D., 1998. Social organisation of European roe deer.- V: Andersen, R. / Duncan, P. / Linnell, J. D. C. (eds.). *The European roe deer: the biology of success*. Oslo, Scandinavian University Press, s. 189-219.
- HEWISON, A. J. M. / VINCENT, J. P. / ANGIBAULT, J. M. / DELORME, D. / VAN LAERE, G. / GAILLARD, J. M., 1999. Tests of estimation of age from tooth wear on roe deer of known age: variation within and among populations.- *Can. J. Zool.*, 77, s. 58-67.
- HOLM, J., 1993. Investigation of roe deer – criteria for use as a bioindicator in specimen banking.- *Sci. Total Environ.*, 139/140, s. 237-249.
- HRABE, V. / KOUBEK, P., 1987. A comparison of some ageing methods in male roe deer (*Capreolus capreolus*).- *Fol. Zool.*, 36, s. 1-12.
- KLALČ, P. / SVOBODA, L., 2000. A review of trace element concentrations in edible mushrooms.- *Food Chem.*, 69, s. 273-281.
- KALAN, P. / KRALJ, T. / SIMONČIČ, P. / URBANČIČ, M., 1999. Vsebnosti žvepla in težkih kovin v smrekovih iglicah v Zgornji Mežiški dolini.- V: Ribarič-Lasnik, C. / Pokorny, B. / Pačnik, L. (eds.). *Problem težkih kovin v Zgornji Mežiški dolini: zbornik referatov*. Velenje, ERICo Velenje, s. 50-60.
- KEITH, J. O., 1996. Residue analyses: how they were used to assess the hazards of contaminants to wildlife.- V: Beyer, W. N. / Heinz, G. H. / Redmon-Norwood, A. W. (eds.). *Environmental contaminants in wildlife*. New York, Lewis p., s. 1-47.

- KIERDORF, H. / KIERDORF, U. / SEDLACEK, F., 1999. Monitoring regional fluoride pollution in the Saxonian Ore mountains (Germany) using the biomarker dental fluorosis in roe deer.- *Sci. Total Environ.*, 232, s. 159-168.
- KIERDORF, H. / KIERDORF, U., 2000. Roe deer antlers as monitoring units for assessing temporal changes in environmental pollution by fluoride and lead in a German forest area over a 67-year period.- *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 39, s. 1-6.
- KOCAN, A. A. / SHAW, M. G. / EDWARDS, W. C. / EVE, J. H., 1980. Heavy metal concentrations in the kidneys of white-tailed deer in Oklahoma.- *J. Wildl. Diseases.*, 16, s. 593-596.
- KRŽE, B., 2000. Srnjad: biologija, gojitev, ekologija.- Ljubljana, Lovska zveza Slovenije, 271 s.
- KRYNSKI, A. / KALUZINSKI, J. / WLAZELKO, M. / ADAMOWSKI, A., 1982. Contamination of roe deer by mercury compounds.- *Acta Theriol.*, 35, s. 499-507.
- KUGONIČ, N. / STROPNIK, M., 2000. Vpliv težkih kovin na tla in rastline na kmetijskih površinah v Šaleški dolini.- Velenje, ERICo Velenje, DP-5/2000, 29 s.
- LAW, R. J., 1996. Metals in marine mammals.- V: Beyer, W. N. / Heinz, G. H. / Redmon-Norwood, A. W. (eds.). *Environmental contaminants in wildlife*. New York, Lewis publishers, s. 377-388.
- LINNELL, J. D. C. / DUNCAN, P. / ANDERSEN, R., 1998. The European roe deer: a portrait of a successful species.- V: Andersen, R. / Duncan, P. / Linnell, J. D. C. (eds.). *The European roe deer: the biology of success*. Oslo, Scandinavian University Press, s. 11-22.
- MA, W. C., 1996. Lead in Mammals.- V: Beyer, W. N. / Heinz, G. H. / Redmon-Norwood, A. W. (eds.). *Environmental contaminants in wildlife*. New York, Lewis publishers, s. 281-296.
- MA, W. C. / DENNEMAN, W. / FABER, J., 1991. Hazardous exposure of ground-living small mammals to cadmium and lead in contaminated terrestrial ecosystems.- *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 20, s. 266-270.
- MA, W. C. / VAN DER VOET, H., 1993. A risk-assessment model for toxic exposure of small mammalian carnivores to cadmium in contaminated natural environments.- *Sci. Total Environ., Suppl.*, s. 1701-1714.
- MANKOVSKA, B., 1980. The concentration of four toxic elements in the teeth of roe deer from the area of an aluminium plant.- *Biologia (Bratislava)*, 35, s. 819-822.
- MATHEWS, N. E. / PORTER, W. F., 1989. Acute arsenic toxication of a free-ranging white-tailed deer in New York.- *J. Wildl. Diseases.*, 25, s. 132-135.
- MEJSTRIK, V. / LEPŠOVA, A., 1993. Applicability of fungi to the monitoring of environmental pollution by heavy metals.- V: Markert, B. (ed.). *Plants as biomonitors: Indicators for heavy metals in the terrestrial environment*. Weinheim, VCH Verlagsgesellschaft, s. 365-378.
- MICHALSKA, K. / ŻMUDZKI, J., 1992. Zawartość metali w tkankach dzików, saren i jeleni w regionie wielkopolskim.- *Medycyna Wet.*, 48, s. 160-162.
- MITCHELL, E. / ROWE, J. J. / RATCLIFFE, P. / HINGE, M., 1985. Defecation frequency in roe deer (*Capreolus capreolus*) in relation to the accumulation rates of faecal deposits.- *J. Zool. Lond. (A)*, 207, s. 1-7.
- MÜLLER, P., 1985. Cadmium-Konzentrationen bei Rehpopulationen (*Capreolus capreolus*) und deren Futterpflanzen.- *Z. Jagdwiss.*, 31, s. 146-153.
- MUNSHOWER, F. F. / NEUMAN, D. R., 1979. Metals in soft tissues of mule deer and antelope.- *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 22, s. 827-832.
- OSRAJNIK, E., 1990. Svinec in kadmij v mesu in organih divjadi na območju Koroške.- Magistrsko delo. Ljubljana, Veterinarska fakulteta, 79 s.
- PASCOE, G. A. / BLANCHET, R. J. / LINDER, G., 1996. Food chain analysis of exposures and risks to wildlife at a metals-contaminated wetland.- *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 30, s. 306-318.

- PETERLE, T. J., 1991. Wildlife toxicology.- New York, Van Nostrand Reinhold, 322 s.
- POKORNY, B., 1999a. Raziskava onesnaženosti notranjih organov prostoživečih živali s težkimi kovinami v emisijsko ogroženih predelih Slovenije (Šaleški dolini, Zasavju in na Koroškem).- Velenje, ERICo Velenje, DP-421/99, 44 s.
- POKORNY, B., 1999b. Vsebnosti elementov v sledovih v tkivih srnjadi (*Capreolus capreolus*) na Koroškem.- V: Ribarič-Lasnik, C. / Pokorny, B. / Pačnik, L. (eds.). Problem težkih kovin v Zgornji Mežiški dolini. Velenje, ERICo, s. 36-49.
- POKORNY, B., 2000a. Roe deer (*Capreolus capreolus*) as an accumulative bioindicator of heavy metals in Slovenia.- Web Ecology, 1, s. 54-62.
- POKORNY, B., 2000b. Vsebnost težkih kovin v tkivih srnjadi iz emisijsko ogroženih območij Slovenije (Šaleške doline, Zasavja in Mežiške doline).- Velenje, ERICo Velenje, DP-62/2000, 108 s.
- POKORNY, B. / RIBARIČ-LASNIK, C., 2000a. Lead, cadmium and zinc in tissues of roe deer (*Capreolus capreolus*) near the lead smelter in the Koroška region (northern Slovenia).- Bull. Environ. Contam. Toxicol., 64, s. 20-26.
- POKORNY, B. / RIBARIČ-LASNIK, C., 2000b. Seasonal pattern of heavy metal levels in kidneys of roe deer (*Capreolus capreolus*), shot in Slovenia (Central Europe).- V: Nriagu, J. (ed.). 11th Annual international conference on heavy metals in the environment. Ann Arbor, University of Michigan, Contribution Number 1689.
- POKORNY, B. / RIBARIČ-LASNIK, C., 2001. Seasonal variability of mercury and heavy metals in roe deer (*Capreolus capreolus*) kidney.- Environ. Pollut., v tisku.
- SAWICKA-KAPUSTA, K., 1979. Roe deer antlers as bioindicators of environmental pollution in southern Poland.- Environ. Pollut., 19, s. 283-293.
- SAWICKA-KAPUSTA, K. / PERZANOWSKI, K. / BOBEK, B., 1981. Heavy metal intake by roe deer in Silesian forests.- Ekologia Polska, 29, s. 353-359.
- SILEO, L. / BEYER, W. N., 1985. Heavy metals in white tailed deer living near a zinc smelter in Pennsylvania.- J. Wildl. Diseases, 21, s. 289-296.
- SIMONIČ, A. 1976. Srnjad – biologija in gospodarjenje.- Ljubljana, Lovska zveza Slovenije, 606 s.
- STANLEY, W. / ROSCOE, D. E. / HAZEN, R. E., 1991. Cadmium contamination of deer livers in New Jersey; human health risk assessment.- Sci. Total Environ., 107, s. 71-82.
- STATSOFT, Inc., 1999. Statistica for Windows 5.5 ('99 Edition).- Tulsa, StatSoft, CD-ROM.
- STRANDBERG, M. / KNUDSEN, H., 1994. Mushroom spores and ¹³⁷Cs in faeces of the roe deer.- J. Environ. Radioact., 23, s. 189-203.
- STRAUB, H. P. / KREIMES, K., 1995. Rehe als Akkumulationsindikatoren.- V: Umlauff-Zimmermann, R. (ed.). Methoden zu Wirkungserhebungen. Karlsruhe, Landensanstalt für Umweltschutz, s. 52-54.
- STROPNIK, B. / BYRNE, A. R. / SMODIŠ, B. / JAČIMOVIČ, R., 1994. Air pollution monitoring in the Šalek Valley.- Acta Chimica Slovenica, 41, s. 65-82.
- SVETINA, M., 1998. Onesnaženost tal s težkimi kovinami v Šaleški dolini.- Velenje, ERICo Velenje, DP-232/98, 74 s.
- SVETINA, M., 1999. Geokemična študija vnosa kadmija v tla v Šaleški dolini.- Doktorska disertacija. Ljubljana, Naravoslovnotehniška fakulteta, Oddelek za geologijo, 164 s.
- TATARUCH, F., 1991. Freilebende Wildtiere als Bioindikatoren der Schwermetallkontamination.- VDI Berichte, 901, s. 925-936.
- THOMPSON, D. R., 1996. Mercury in birds and terrestrial mammals.- V: Beyer, W. N. / Heinz, G. H. / Redmon-Norwood, A. W. (eds.). Environmental contaminants in wildlife. New York, Lewis publishers, s. 341-356.
- TIXIER, H. / DUNCAN, P., 1996. Are European roe deer browsers? A review of variations in the composition of their diets.- Revue d'Ecologie, 51, s. 3-17.

- TOMŠIČ, E., 1986. Rezidua svinca, kadmija in arzena v organih srnjadi, jelenjadi in divjih prašičev na širšem območju občine Ilirska Bistrica.- Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, VTOZD za veterinarstvo, 57 s.
- VAN STRAALLEN, N. M., 1999. Bioindicator systems in ecotoxicology.- V: Sgardelis, S. P. / Pantis, J. D. (eds.). EURECO '99: The European Dimension in Ecology – Perspectives & Challenges for the 21st Century. Salonica, European Ecological federation, s. 384.
- VENÄLÄINEN, E. R. / NIEMI, A. / HIRVI, T., 1996. Heavy metals in tissues of hares in Finland, 1980-82 and 1992-93.- Bull. Environ. Contam. Toxicol., 56, s. 251-258.
- WITTIG, R., 1993. General aspects of biomonitoring heavy metals by plants.- V: Markert, B. (ed.). Plants as biomonitors: Indicators for heavy metals in the terrestrial environment. Weinheim, VCH Verlagsgesellschaft, s. 1-27.
- WOOLF, A. / SMITH, C. G. / FRANK, C. O., 1982. Regional variation in metals in livers of white-tailed deer in Illinois.- Trans. Illinois State Academy of Science, 1/2, s. 305-310.
- WONDRATSCHEK, I. / RÖDER, U., 1993. Monitoring of heavy metals in soils by higher fungi.- V: Markert, B. (ed.). Plants as biomonitors: Indicators for heavy metals in the terrestrial environment. Weinheim, VCH Verlagsgesellschaft, s. 345-363.
- WREN, C. D., 1986. Mammals as biological monitors of environmental metal levels.- Environ. Monit. Assess., 6, s. 127-144.

8 ZAHVALA

Raziskavo sta financirala Termoelektrarna Šoštanj in Ministrstvo za znanost in tehnologijo Republike Slovenije. Za organizacijo vzorčenja v TNP se zahvalujemo Mihu Marenčejcu. Raziskave brez sodelovanja lokalnih lovcev ne bi bilo mogoče izvesti. Še posebej zavzeti so bili Jože Kvartič (LD Velenje), Marjan Piliš (LD Oljka), Slavko in Vekoslav Pocajt (LD Škale) ter Florjan Tišler in Jure Kočan (TNP). Na ERICo Velenje so se s pripravo vzorcev in analizami ukvarjali Simona Šimon, Andrej Glinšek, Vesna Rožič, Tatjana Lenart, Tanja Jernej in Lidija Korošec. Njihovo delo je organizirala mag. Julija Beričnik-Vrbovšek, ki je vztrajno prenašala vse (tudi neupravičene) kritike. Prispevek so obogatili koristni komentarji recenzentov, prof. dr. Marjana Kotarja in dr. Primoža Simončiča, nasveti dr. Marte Svetina in mag. Nives Kugonič ter lektorski pregled Simone Diklič. Za porabo dragocenega časa smo vsem globoko hvaležni.