

GDK 425.1:114.521.6:174.7 *Picea abies* Karst : 164.5:168(497.12)

BIOINDIKACIJA ONESNAŽENOSTI ZRAKA NA TEMELJU ANALIZE FOTOSINTEZNIH BARVIL V IGLICAH SMREKE (*Picea abies* /L./ Karst.)

Franc BATIČ*, Tone KRALJ**

Izvleček

V eno- in dveletnih iglicah smreke (*Picea abies* /L./Karst.) je bila po standardnih metodah analizirana vsebnost klorofila a, b, a + b in celotnih karotenoidov v jeseni 1988 in 1989. Absolutne vrednosti vsebnosti analiziranih pigmentov so nekoliko nižje v okolici večjih emisijskih virov. Glede na nadmorsko višino vzorčenih mest in predvidene polucijske razmere na njih pa kažejo ugotovitve analize klorofilov v okviru bioindikacijske mreže bolj na naravne razmere kot na vpliv onesnaženega zraka. Izkazalo se je, da analiza celotnih karotenoidov ne zadošča. Po izsledkih lahko sklepamo, da vzorčenje v okviru 16x16 km mreže ni primerno za tovrstne raziskave.

Ključne besede: propadanje gozdov, onesnaženost zraka, bioindikacija, asimilacijska barvila, Picea abies /L./ Karst, iglice

BIOINDICATION OF AIR POLLUTION DETERMINED BY PHOTOSYNTHETIC PIGMENT ANALYSIS OF NORWAY SPRUCE NEEDLES (*Picea abies* /L./ Karst)

Franc BATIČ*, Tone KRALJ**

Abstract

An analysis of photosynthetic pigments (chlorophylls a, b, a + b, and total carotenoids) in current-year and one-year-old needles of Norway spruce (*Picea abies* /L./Karst) was carried out according to standard methods in the autumn of 1988 and 1989. The absolute concentrations of pigments of the needles were found to be only slightly lower than under normal circumstances although samples had been collected in the vicinity of major emission sources. As regards the altitude of sampling plots and expected air pollution, the chlorophyll content values obtained indicate an almost normal trend rather than the impact of air pollution. Therefore, the analysis of total carotenoids was considered insufficient. On the basis of data obtained by sampling in the area within a 16x16 km bioindication grid, it may be concluded that such kind of sampling is unsuitable for photosynthetic pigment analysis in terms of air pollution impact.

Key words: forest decline, air pollution, bioindication, photosynthetic pigments, Picea abies /L./Karst, needles

* doc. dr., prof. biol., Inštitut za gozdno in lesno gospodarstvo, 61000 Ljubljana, Večna pot 2, YU

** dipl. inž. mat., Inštitut za gozdno in lesno gospodarstvo, 61000 Ljubljana, Večna pot 2, YU

1 UVOD

Podatki iz popisov propadanja gozdov iz let 1985, 1987 in 1989 kažejo, da je zdravstveno stanje naših gozdov slabo in da je novodobno propadanje gozdov zajelo tudi naše kraje (ANONYMUS 1989). To propadanje gozdov je posledica delovanja multiplega stresa na gozdne ekosisteme, pri katerem je onesnaženje okolja le eden, a očitno odločilen dejavnik (BOLHÅR—NORDENKAMPF, 1989). Vzrokov propadanja ne moremo poznati, še manj pa predvideti razvoj dogodkov ali najti ukrepe za sanacijo brez fizioloških raziskav dreves in drugih gozdnih organizmov. Fiziologija stresa je postala eno izmed glavnih področij preučevanja v fiziologiji rastlin pri raziskavah o propadanju gozdov. Namen teh raziskav je ugotoviti potek in motnje življenjskih procesov v stresnih okoliščinah in tako dobiti podlago za logične razlage in ukrepe. Ugotavljanje vpliva onesnaževalcev na temeljne življenjske procese in na strukturo organizmov spada v širše področje bioindikacije (JÄGER 1982, GRILL in sod. 1988), to je metod, pri katerih po odzivu organizmov na posamezne onesnaževalce ugotavljamo, kako škodujejo. Te bioindikacijske metode so razvite na več ravneh, od raziskav subcelularnih, biokemijskih in strukturnih sprememb rastlinskih tkiv do populacijskih in ekosistemskih študij (STEUBIG in JÄGER 1982, ARNDT in sod. 1987). Za ugotavljanje spremenjene zgradbe in presnove rastlin so na področju biokemijskih metod bioindikacije delovanja onesnaževalcev zelo pogoste raziskave fotosinteznih pigmentov klorofilov in karotenoidov (STEUBIG in JÄGER 1982, SCHUBERT 1985, GRILL in sod. 1983, 1988, BERMANDINGER in sod. 1989, LÜTZ 1988, RABE in KREEB 1989, LANGE in sod. 1987, WEIKERT in sod. 1989, KÖSTNER in sod. 1990, MIES in ZÖTLL 1985, LICHTENTHALER in sod. 1985 idr.). Fotosintezni pigmenti lahko kažejo neposredno delovanje zračnih onesnaževalcev ali pa nakazujejo njihov posredni vpliv z motnjami v mineralni prehrani. Najstarejše tovrstne raziskave se nanašajo na propadanje klorofila v steljkah lišajev, ki so bile izpostavljene žveplovemu dioksidu (NASH 1973, SUNDSTRÖM in HALLGREN 1973, BATIČ in MARTINČIČ 1981), fluoridom, izpušnim plinom avtomobilov ali mešanici onesnaževalcev. Ti avtorji so razlagali in dokazovali propadanje klorofilov kot postopno feofitinizacijo, pri kateri naj bi zaradi zakisovanja celične vsebine klorofil prehajal v feofitin. Raziskave, ki so bile narejene v zadnjih letih na višjih rastlinah, takšnega razkroja klorofila ne potrjujejo (JÄGER 1982, RABE in KREEB, EDWARDS in sod. 1990). Razkroj klorofila zaradi delovanja kislih onesnaževalcev (SO_2 in fluoridi) se ne ustavi pri feofitinu, temveč gre prek nastanka feoforbida še naprej do popolne razgraditve pirollovih obročev. Zato tudi ni mogoče dokazati feofitinov. Poleg tega naj bi bil propad klorofilov zaradi SO_2 povezan z oksidacijo žveplovega dioksida. Pri tem naj bi nastajali toksični radikali (npr. O^-) in z dezintegracijo kloroplastov, predvsem njihovih membran, drastično vplivali na sestavo fotosinteznih pigmentov (JÄGER 1982, GRILL in sod. 1988, LÜTZ 1988). Vpliv SO_2 na fotosintezne pigmente naj bi bil torej nekoliko podoben vplivu fotooksidantov. Kaže pa se v znižanju koncentracije klorofilov — povečanju koncentracije karotenoidov, med karotenoidi pa v zvečanju ksantofi-

lov v primerjavi s karotenoidi (RABE in KREEB 1980, LÜTZ 1988, BENECKE 1972, GRILL in sod. 1988).

Takšno delovanje ali reakcija je del normalnega obrambnega mehanizma, ki se pojavi v rastlinskih celicah ob naravnih stresnih razmerah (visoke nadmorske višine, jasni, sušni dnevi pozimi, suša poleti itn.), še bolj pa ob povečani količini onesnaževalcev (SO₂, fotooksidanti), ki so antropogenega izvora (RENNENBERG 1988).

V Sloveniji se že dalj časa nabirajo iglice za analizo vsebnosti žvepla za bioindikacijo onesnaženja z žveplovim dioksidom (KALAN 1989), zato smo del vzorcev poskusili analizirati tudi glede na vsebnost fotosinteznih pigmentov. Zaradi že postavljene mreže vzorčenja in zaradi načina pobiranja in prinašanja vzorcev smo že vnaprej vedeli, da bodo izsledki le orientacijski.

2 GRADIVO IN METODE DELA

Smrekove iglice za analizo fotosinteznih pigmentov smo vzorčili na tri načine v vegetacijskih sezonah 1987/88, 1988/89 in 1989/90. Eno serijo vzorcev so sestavljale iglice z vzorčnih mest 16x16 km bioindikacijske mreže, dve na videz vitalni 60—80 let stari smreki, na katerih že nekaj let vzorčimo iglice za analizo vsebnosti celotnega žvepla (KALAN 1989). Na nekaterih močnejše onesnaženih območjih Slovenije (Zasavje, Gorenjska) smo to vzorčenje zgostili (ŠOLAR 1989). Iglice smo nabrali jeseni, od septembra do decembra, s sedmega vretena drevesa. Za analizo pigmentov smo uporabili le vršne poganjke vej. V rastnih sezonah 1988/89 in 1989/90 smo vzorčili še iglice v nasadu smreke na dveh skupinah ploskev s predvidoma različno onesnaženim zrakom (Zavodnje, Mislinjski jarek). Obe skupini ploskev sta bili na nadmorski višini 850 m, toda različno oddaljeni od termoelektrarne Šoštanj. Ekstrakcija klorofilov in celotnih karotenoidov je potekala po standardni metodi (ŠESTAK in sod., 1971). Po 1 g navidezno zdravih smrekovih iglic smo previdno odrezali z eno- in dveletnih poganjkov za določitev suhe teže in ekstrakcijo fotosinteznih pigmentov. Za analize smo uporabili le vršne poganjke, iglice smo odrezali zmeraj 1 cm pod mestom, kjer se končuje rast poganjka. Vzorce, ki jih nismo mogli obdelati takoj, smo skupaj z vejicami globoko zamrznili. Vzorcju narezanih iglic smo dodali približno tretjino volumna kremenčevega peska in ščepec Mg (HCO₃)₂; tako smo preprečili razpad klorofilov med trenjem in ekstrakcijo. Ekstrahirali smo z ohlajenim 100-odstotnim acetonom pri šibki svetlobi. Pri računanju koncentracije klorofilov in celotnih karotenoidov smo uporabili enačbe in koeficiente, ki jih v svojem delu navaja Lichtenthaler (1987). Klorofilnih ekstraktov pred meritvami ekstinkcije nismo centrifugirali. Ekstinkcija klorofilnih in karotenskih ekstraktov je bila izmerjena na spektrofotometru Iskra, Spekol 221, MA 9524.

Vsi rezultati so izračunani le na suho težo iglic, to pa je pri delu z iglavci običajno, saj je površino iglic zelo težko določiti.

3 IZIDI IN RAZPRAVA

Izidi analize fotosinteznih pigmentov so prikazani za vzorčenja na 16x16 km bioindikacijski mreži na slikah od 1 do 8 za sezoni 1988/89 in 1989/90. Na skicah so prikazane absolutne vrednosti klorofila a in klorofilov a + b za eno- in dveletne iglice. Zaradi lažje preglednosti so vrednosti koncentracij klorofilov razdeljene v pet razredov in nanesene na zemljevid Slovenije. Ker so pri vzorčenju nastajale težave, še posebno v zvezi s pravočasno dostavo vzorcev v laboratorij, nam je v sezoni 1988/89 uspelo analizirati le jugovzhodno polovico, v sezoni 1989/90 pa severozahodni del 16x16 km bioindikacijske mreže. Oboje vzorčenj se dopolnjuje in daje celosten vpogled v vso bioindikacijsko mrežo. Glede na znana emisijska središča v Sloveniji so vrednosti vsebnosti klorofilov dokaj razpršene, čeprav je največ nizkih vsebnosti (razred 4,5) v koroško-šaleškem bazenu, v Zasavju in okolici Ljubljane. Te nizke vsebnosti se ponekod ujemajo s povečano vsebnostjo žvepla (KALAN 1989) ali celo s celotno poškodovanostjo gozdov (ANONYMUS 1987, 1988, 1989) in so nekoliko odvisne od stopnje onesnaženosti zraka.

Izmerjene vrednosti klorofilov so na splošno nizke. Enoletne zdrave iglice smreke naj bi imele med 1,5 in 3,2 mg klorofila a + b na 1 g suhe teže, dveletne pa med 2,0 in 3,5 mg na isto enoto (KÖSTNER in sod., 1990). V našem primeru je odklon navzdol večji, maksimum pa ni dosežen, še posebno ne pri dveletnih iglicah. Dveletne iglice vsebujejo tudi po naših analizah več klorofilov kot enoletne, vendar bistveno manj, kot so jih izmerili različni tuji raziskovalci (KÖSTNER in sod. 1990, LANGE in sod. 1987, WEIKER in sod. 1989, GRILL in sod. 1983). Pri tem je treba dodati, da je bil čas vzorčenja iglic za analizo vsebnosti klorofilov ugoden, saj dosežejo ti po navedbah tujih avtorjev enega izmed svojih vrhuncev v jeseni, v sredini septembra, nato pa oktobra rahlo upadejo (za pribl. 20 %) in imajo še en zimski vrhunec, preden začne koncentracija upadati, upada pa vse do pomladi (GRILL in sod. 1983, BENECKE 1972, KOCH 1976 itn.). Razpršenost vsebnosti klorofilov v smrekovih iglicah je nedvomno tudi posledica različnih ekoloških razmer na rastiščih vzorčnih dreves (tla, podnebje itn.) pa tudi njihove genske raznolikosti. Na slikah so prikazane le ugotovitve za klorofil a in skupno za klorofila a + b, kajti spreminjanje vsebnosti klorofilov a in b v stresnih razmerah je dokaj podobno (RABE in KREEB, 1988; KOCH 1976, GRILL in sod. 1983) in se spreminja bolj z ontogenetskim razvojem iglic (KÖSTNER in sod. 1990) in le manj zaradi zunanjih vplivov, med katerimi je svetloba gotovo najpomembnejša (KOCH 1976). Na skicah 9 in 10 je prikazana vsebnost klorofila a in a + b v iglicah smreke, ki so bile nabrane na zgoščeni bioindikacijski mreži v Zasavju jeseni 1989. Kot vidimo s slik, so vsebnostni razredi klorofilov a in a + b povečini le 3, 4 in 5. To kaže na izredne stresne razmere in z veliko verjetnostjo lahko sklepamo, da je poglavitni krivec za takšno stanje onesnažen zrak. Meritve hidrometeorološkega zavoda z merilnih mest na tem področju so pokazale, da je kriv za to povečini žveplov dioksid.

Znano je, da se vsebnost fotosinteznih pigmentov v listih višjih rastlin bistveno spreminja z nadmorsko višino (GRILL in sod. 1983, LÜTZ 1988, BERMADINGER in sod. 1989). Količina klorofilov upada z naraščanjem svetlobne intenzitete hkrati, ko se zvečuje intenziteta ultravijolične svetlobe, pa se povečuje količina karotenoidov (LICHTENTHALER 1985). Tako se rastline naravno zavarujejo in prilagajajo svetlobnim razmeram na visokih nadmorskih višinah. To je hkrati tudi podlaga za varstvo pred vplivi fotooksidantov, naravnih ali antropogenega izvora; tudi teh je v tem okolju kar precej (GRILL in sod. 1983, LÜTZ 1988, RENNENBERG 1988). Če temu dodamo še, da so viri "kisljih" onesnaževalcev (SO_2 , HF, NO_x) povečini v nižjih legah (doline, kotline), bi nam analiza fotosinteznih pigmentov glede na nadmorsko višino morala dati vpogled v onesnaženost zraka in s tem ogroženost rastlin tudi s te strani. Zato smo fotosintezne pigmente analizirali še glede na nadmorsko višino odvzemnega mesta. Izsledki so prikazani na slikah od 11 do 16. Upoštevani so le izidi analize vzorcev pobranih jeseni l. 1989, ko smo vzorčili v osrednji, severozahodni polovici bioindikacijske mreže (glej slike od 5 do 8), to je na območju obsežnejših bolj ali manj sklenjenih smrekovih ali zasmrečenih gozdov, kjer je razpon v nadmorski višini vzorčenih mest večji. Poleg tega je bila tokrat dinamika vzorčenja že bolj prilagojena zahtevam analiznih postopkov. Iz slik 11, 12 in 13 se lepo vidi, da se vsebnosti klorofilov z nadmorsko višino zmanjšujejo tako pri eno- kot pri dveletnih iglicah. Zaradi vpliva kisljih depozitov v kotlinah in dolinah ni opaziti, da bi se vsebnosti klorofilov veliko zmanjšale. To lahko pomeni, da je ta vpliv premajhen, da bi se jasno kazal na vsebnosti klorofilov ali pa so vzorčna mesta glede na emisijske vire in nadmorsko višino neustrezno razvrščena. Dobljeni izidi še najbolj ustrezajo naravnemu stanju, če odmislimo, da so absolutne vrednosti vsebnosti klorofilov prenizke. Tudi vsebnosti celotnih karotenoidov (slika 15) pa tudi količnik med klorofili in karotenoidi (slika 16) ne kažejo razmerja, kakršno je značilno za delovanje onesnaževalcev v odvisnosti od nadmorske višine vzorčnega mesta (GRILL in sod. 1983, LÜTZ 1988). Z naraščajočo nadmorsko višino vzorčnega mesta vsebnost karotenoidov v iglicah smreke ne narašča, prav tako pa ne upadajo vrednosti količnika med klorofili in karotenoidi. V nekaterih delih višinskega profila je ta trend sicer zaznaven (od 750 do 1000 m in od 1250 do 1500 m, slika 6), vendar ni izrazit. Vzroke za takšno porazdelitev vrednosti opazovanih parametrov je težko razložiti, za to je še najbolj verjetno, da vzorčna mesta 16 x 16 km bioindikacijske mreže glede na nadmorsko višino niso primerno razvrščene.

Razlika v vsebnosti klorofilov med dvema različno onesnaženima rastiščema je prikazana še na preglednici 1. Gre za primerjavo vsebnosti klorofilov v enoletnih iglicah sadik smreke, ki so bile posajene na pet različno osvetljenih ploskev v Zavodnjah (rastišče z močno onesnaženim zrakom) in Mislinjskem jarku (razmeroma čisto ozračje). Talne razmere (kisla, globoka dištrična rjava tla), nadmorska višina (pribl. 850 m), starost sadik (1 leto po presaditvi, 5 let), izvor sadik (provenienca Pernice, drevesnica Muta) so bolj ali manj enake. Pet ploskev se na vsakem rastišču razlikuje po osvetljenosti (ploskev 1 je na odprtem, 2 delno zastrta, druge pod zastorom), obe

rastišči pa predvsem po stopnji onesnaženosti zraka (Zavodnje približno 5 km zračne linije oddaljenosti od Termoelektrarne Šoštanj, Mislinjski jarek — zatišna lega, približno 20 km od istega emisijskega vira). Analize vsebnosti klorofilov kažejo na vseh petih ploskvah precej nižjo vsebnost na Zavodnjem; to lahko pripišemo vplivu onesnaženega zraka. Vpliv svetlobnih razmer pa po pričakovanju kaže v obeh primerih manjšo vsebnost klorofilov na ploskvi 1, ki je obakrat najbolj osvetljena. Svetlobne razmere na ploskvah niso prikazane.

Iz preglednice vidimo, da večja standardizacija rastiščnih razmer pa tudi vzorčnega materiala pri analizah fotosinteznih pigmentov da veliko boljše izide. Žal karotenoidi v tem primeru niso bili analizirani.

4 SKLEPI

1. Izidi analiz so pokazali, da je vsebnost fotosinteznih pigmentov v smrekovih iglicah v močnejše onesnaženih predelih manjša ali pa je spremenjeno količinsko razmerje med posameznimi pigmenti. Zlasti je opazen upad klorofilov v najbližji okolici emisijskih virov, na najbolj onesnaženih predelih. Pokazalo se je, da se vsebnost klorofilov z naraščajočo nadmorsko višino zmanjšuje. Analize vsebnosti karotenoidov ne dajejo pričakovanih izidov.
2. Zaradi zelo različnih rastiščnih razmer in genske heterogenosti smreke so izidi analize pigmentov v okviru 16x16 km mreže razpršeni. To kaže, da takšno vzorčenje za analizo fotosinteznih barvil ni primerno, in to potrjujejo tudi izidi vzorčenj, zgoščenih okrog večjih emisijskih središč (Zasavje, Goreñjska), pa tudi tisti, ki jih dobivamo s profila v Šaleški dolini (izidi niso prikazani) in na ploskvah s sadikami smreke iste proveniencie (Zavodnje, Mislinjski jarek) na dveh različno onesnaženih, a rastiščno primerljivih krajih.
3. Če hočemo dobiti zadovoljive izide, je za bioindikacijo onesnaženosti zraka na podlagi analize fotosinteznih barvil in s tem tudi ugotavljanja stopnje ogroženosti drevja nujno standardizirati razmere vzorčenja, predvsem rastišče in vzorčene rastline (proveniencia, klon, itd.).
4. Kadar to ni mogoče, in tako je tudi pri vzorčenju v okviru 16x16 km bioindikacijske mreže, je rešitev v opazovanju trendov spreminjanja vsebnosti fotosinteznih barvil v iglicah smrek med rastno dobo (letni potek) in staranjem (ontogenetski potek). Absolutne vrednosti vsebnosti klorofilov in karotenoidov so odvisne od najrazličnejših dejavnikov, zato vzorčenje le dveh letnikov ne zadošča.
5. Zaradi velike povezanosti vseh fizioloških procesov je analiza fotosinteznih pigmentov le kamenček v mozaiku preučevanja vplivov onesnaženega zraka na rastline. Smiselno dopolnjuje analizo vsebnosti žvepla in mineralne prehranjenosti in tako omogoča sklep, da delujejo fotoooksidanti in kisli onesnaževalci neposredno iz zraka ali posredno preko sprememb v tleh.

6. Za preučevanje delovanja fotooksidantov je potrebna nadrobnejša analiza karotenoidov.
7. Enkratno vzorčenje, vezano na pobiranje vzorcev za analizo vsebnosti žvepla v iglicah, daje le orientacijske izide, še posebno če analiziramo, podobno kot pri analizi vsebnosti žvepla, le zadnja dva letnika iglic. Pri smreki je treba zmeraj analizirati vsaj 4 letnike iglic, kajti le tako lahko ugotovimo morebitne anomalije.
8. Analize fotosinteznih pigmentov so pri raziskavah vzročnosti propadanja gozdov pa tudi zaradi ugotavljanja motenj v fizioloških procesih rastlin nujne; zaradi sorazmerno velike delovne intenzivnosti, ki jo zahtevajo, in že prej omenjenih vzrokov niso primerne za velikopovršinski monitoring onesnaževanja, pač pa za posamezne, lokalizirane in bolj poglobljene raziskave.

5 SUMMARY

An analysis of photosynthetic pigments (chlorophylls a, b, a + b, and total carotenoids) in current-year and one-year-old needles of Norway spruce (*Picea abies* /L./ Karst) was carried out in the autumn of 1988 and 1989. Samples required for the analysis were collected by sampling intended for total sulphur content analysis in the area within a 16x16 km bioindication grid in Slovenia, as well as in some selected sites in the vicinity of major pollution sources in the districts of Zasavje and Gorenjska. Besides, a chlorophyll content analysis was carried out with current-year needles of five-year-old Norway spruce seedlings planted in two sites polluted to a different extent in the surroundings of the thermal power plant of Šoštanj.

Pigment extraction was performed according to the standard method cited by Šestak et al. (1971), whereas pigment concentrations were determined with Lichtenthaler's method (1985). The results obtained with photosynthetic pigments analysis of needle samples collected in the area within the 16x16 km bioindication grid and in the extremely polluted districts mentioned above are shown in Figures 1—10. To illustrate the situation, chlorophyll content values were divided into five classes and subsequently indicated in the map of Slovenia. The results indicate that chlorophyll content is slightly lower than under normal circumstances in both current-year needles (1.5—3.2 mg chl. a + b/gdw.) and one-year-old needles (2.0—3.5 mg chl. a + b/gdw.) collected in the vicinity of major pollution sources. This finding coincides with high sulphur content in the needles, as well as with a high degree of forest decline (ANONYMOUS 1987, 1988, 1989, KALAN 1989).

The relationship between photosynthetic pigment content of the needles, the altitude of the sampling site and predicted air pollution is shown in Figures 11—16. A decrease in chlorophyll content becomes evident when the altitude of the sampling site increases correspondingly. However, neither the increase of total carotenoids nor

the decrease of quotient value between chlorophylls and carotenoids is such as would be expected. The results of this analysis show an almost normal distribution of photosynthetic pigment concentrations in the needles rather than the impact of air pollution. Above all, there is no considerable decrease in the concentration of chlorophylls at the altitudes between 300 and 600 m, where the majority of emitters of primary air pollutants (e.g. SO₂, HF, NO_x, etc.), which definitely cause chlorophyll decomposition, are located.

An increase in total carotenoids and a decrease in quotient value between total chlorophylls and total carotenoids can be noted at certain elevations but it is not significant.

The analysis of chlorophylls in current-year needles of Norway spruce seedlings from the vicinity of the thermal power plant of Šoštanj shows an evident decrease in the values in the samples collected from the more polluted site of the two under consideration.

Preliminary results of photosynthetic pigment analysis of Norway spruce needles indicate that such kind of bioindication can be used to determine the impact of air pollution on forests. However, the analysis of samples collected in the area within the 16x16 km bioindication grid shows that such sampling method is not quite adequate because of a high diversity of sites, the position of pollutant emitters as to sampling sites and the genetic heterogeneity of Norway spruce. An analysis of only two latest age classes of needles does not suffice either. Besides, absolute values of photosynthetic pigments as such appear to be insufficient due to randomly selected sampling procedure and because the trend of photosynthetic pigment deterioration caused by air pollution during needle ontogenesis cannot be determined on the basis of two age classes of needles only. At least four age classes should be analysed to achieve these objectives. In order to identify the impact of photooxidants on photosynthetic pigments, not only chlorophylls but also all carotenoids and especially xanthophylls should be analyzed.

From the results obtained with photosynthetic pigment analysis of Norway spruce needles that were sampled in three different sites, we may conclude that such analysis is not suitable for large scale monitoring of air pollution but it can be used in case studies, for which more simple methods (e.g. assessment of defoliation, total sulphur content analysis, etc.) are either inadequate or they do not provide a complete explanation of the causality of certain phenomena or of the course of action of air pollutants.

Photosynthetic pigments are an essential part of chloroplasts, therefore their analysis is required to obtain data on production capacity of plants and on the natural mechanism of the plant defense system towards air pollutants. Such an analysis is

complementary to other analyses concerning mineral nutrition in the process of damage occurrence, and also helps explain causes and consequences of the action of air pollutants in plant organism.

6 REFERENCE

- ANONYMUS. Črna knjiga o propadanju gozdov v Sloveniji 1987, 1988, 1989. Inštitut za gozdno in lesno gospodarstvo, Ljubljana.
- ARNDT, V., NOBEL, W., SCHWEIZER, B. 1987. Bioindikatoren, Eugen Ulmer Verlag, 1—388, Stuttgart.
- BATIČ, F., MARTINČIČ, A. 1981. Vpliv onesnaženega zraka na propadanje klorofila v nekaterih vrstah posajenih lišajev. Biološki vestnik 29(2): 1—22, Ljubljana.
- BENECKE, V. 1972. Wachstum, CO₂-Gaswechsel und Pigmentgehalt einiger Baumarten nach Ausbringung in verschiedene Höhenlage. Angew. Botanik 46: 117—135.
- BERMADINGER, E., GRILL, D., GUTTENBERGER, H. 1989. Thiole, Ascorbinsäure, Pigmente und Epicutikularwachsen in Fichtennadeln aus dem Höhenprofil "Zillertal". Phytion (Austria) 29(3): 163—185.
- BOLHAR-NORDENKAMPF, H.R. 1989. Stressphysiologisches Konzept einer kausal-analytischen Waldschädenforschung. Phytion 29 (3, Sonderband): 11—14.
- EDWARDS, N.T., TAYLOR, G.E., ADAMS, M.B., SIMMONS, G.L., KELLY, M.J. 1990. Ozone acid rain and soil magnesium effects on growth and foliar pigments of *Pinus taeda* L. Tree Physiology 6(1): 95—104.
- GRILL, D., EBERMANN, R., GAILHOFER, M., HALBWACHS, G. 1988. Reaktionen des Pflanzenstoffwechsels im Syndrom der "Neuartigen" Waldschäden. V: FIW-Symposium 1988, Waldsterben in Österreich, Theorien, Tendenzen, Therapien (Führer, E. & Neuhuber, F., eds.). Universität für Bodenkultur Wien, Im Auftrag des Bundesministeriums für Wissenschaft und Forschung, 166—184.
- GRILL, D., POLZ, I., PFEIFHOFER, W. 1983. Chlorophyll und Chlorophyllabbau in Fichten Nadeln. Phytion (Austria), 23(1): 79—90.
- JÄGER, H.J. 1982. Biochemical indication of an effect of air pollution on plants. V: Monitoring of air pollutants by plants. Methods and problems (STEUERLING, L., JÄGER, H.J. eds.): 99—107, Dr. W.J. Publishers, The Hague.
- KALAN, J. 1989. Obremenjenost slovenskih gozdov z žveplom. Zbornik gozdarstva in lesarstva 34: 99—120, Ljubljana.
- KOCH, W. 1976. Blattfarbstoffe von Fichte (*Picea abies* /L./Karst.) in Abhängigkeit von Jahresgang, Blattalter und Typ. Photosynthetica 10(3): 280—290.
- KÖSTNER, B., CZYGAN, F.C., LANGE, O.L. 1990. An analysis of needle yellowing in healthy and chlorotic Norway spruce (*Pinus abies*) in a forest decline area of the Fichtelgebirge (N.E. Bavaria) Trees 4(2): 55—67.

- LANGE, G.L., ZELLNER, H., GEBEL, J., SCHRAMMEL, P., KÖSTNER, B., CZYGAN, F.C. 1987. Photosynthetic capacity, chloroplast, pigments and mineral content of the previous years spruce needles with and without the new flush: analysis of the forest-decline phenomenon of needle bleaching. *Oecologia* (Berlin) 73: 351—357.
- LICHTENTHALER, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology* 148: 349—382.
- LICHTENTHALER, H.K., SCHMUCK, G., DÖLL, M. 1985. Photosyntheseaktivität bei Nadeln gesunder und geschädigter Konifern. *LIS-Berichte* Nr. 57: 87—105.
- LÜTZ, C. 1988. Photosynthetische Pigmente aus Nadelbäumen unterschiedlicher Höhenstufen des Ötztals. *Ges. f. Strahlenforschungs Bericht* 17: 415—425.
- MIES, E., ZÖTTL, H.W. 1985. Zeitliche Änderung der Chlorophyll- und Elementgehalte in der Nadeln eines gelb-chlorotischen Fichtenbestandes. *Forstw. Cbl.* 104: 1—8.
- NASH, Th. H. 1973. Sensitivity of lichens to sulphur dioxide. *Bryol.* 76: 333—339.
- RABE, R., KREEB, K.H. 1980. Bioindication of air pollution by chlorophyll destruction in plant leaves. *Oikos* 34: 163—167.
- RENNENBERG, H. 1988. Wirkung von Photooxidantien auf Pflanzen. *Ges.f. Strahlenforschungs Bericht* 17: 360—370.
- SCHUBERT, R. 1985. Bioindikation in terrestrischen Ökosystemen. Gustav Fischer Verlag, Jena: 1—307.
- SENSER, M., SCHÖTZ, F., BECK, E. 1975. Seasonal changes in structure and function of spruce chloroplasts. *Planta*, 126: 1—10.
- SUNDSTRÖM, K.R., HALLGREN, J.E. 1973. Using lichens as physiological indicators of sulphurous pollutants. *Ambio* 2: 13—21.
- ŠESTAKL, Z., ČATSKY, JARVIS, P.G. 1971. Plant photosynthetic production. *Manual of Methods*. Dr. W. Junk Publishers, The Hague, Netherlands.
- ŠOLAR, M. 1989. Gozdno ekološka raziskava na območju Gorenjske in Zasavja. Poročilo o delu v letu 1988, 1989. IGLG, Ljubljana.

Preglednica 1: Povprečne vrednosti vsebnosti klorofila v enoletnih iglicah smrekovih sadik na dveh različno onesnaženih rastiščih v okolici termoelektrarne Šoštanj; jesen 1988

Table 1: Average values of chlorophyll content in current-year needles of Norway spruce from two sites polluted to a different extent in the surroundings of the thermal power plant of Šoštanj; autumn 1988

Vzorčno mesto — *sampling site*

clean air Mislinja (+ Muta), sadike smreke — *Norway spruce seedlings:*

Datum <i>Date</i>	y	Pl	N	Vsebnost klorofila (mg/g) x <i>chlorophyll content</i>			
				a	b	a + b	a/b
1988	1	1—5	33	2,3222	1,0800	3,4022	2,18
1988	1	1	6	1,5263	0,7099	2,2362	2,20
1988	1	2	5	1,5341	0,6573	2,1914	2,31
1988	1	3	6	2,8515	1,3521	4,2036	2,13
1988	1	4	6	2,9589	1,4224	4,3813	2,08
1988	1	5	5	3,0732	1,4261	4,4993	2,15

polluted air Zavodnje, sadike smreke — *Norway spruce seedlings:*

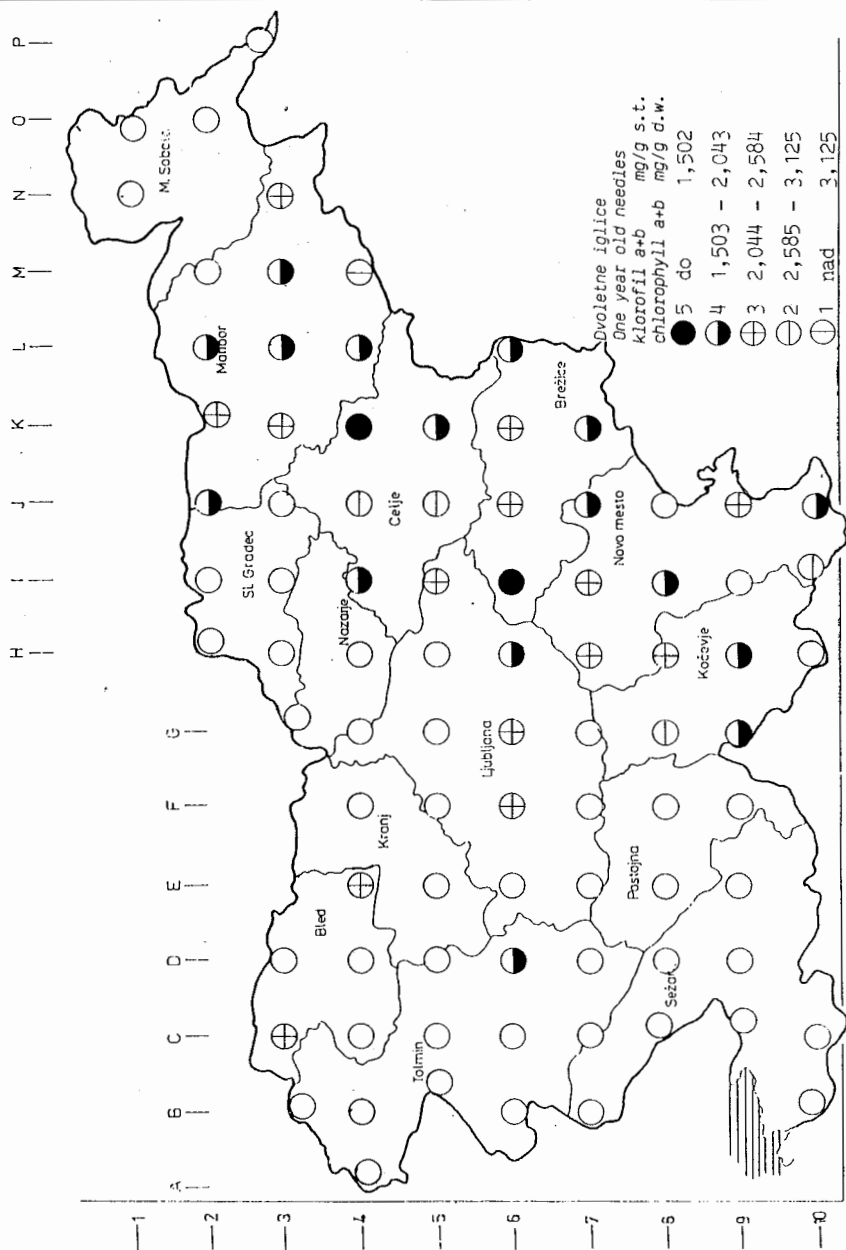
Datum <i>Date</i>	y	Pl	N	Vsebnost klorofila (mg/g) x <i>chlorophyll content</i>			
				a	b	a + b	a/b
1988	1	1—5	32	1,7762	0,6802	1,8578	1,81
1988	1	1	6	1,0236	0,5066	1,5302	1,93
1988	1	2	6	1,1280	0,8492	1,9772	1,42
1988	1	3	6	1,0203	0,6618	1,6821	1,71
1988	1	4	3	1,2729	0,5210	1,7939	2,49
1988	1	5	6	1,3740	0,8808	2,2548	1,91

Legenda:

y — starost sadik po presaditvi
Pl — številka vzorčne ploskve
N — število vzorčenih sadik

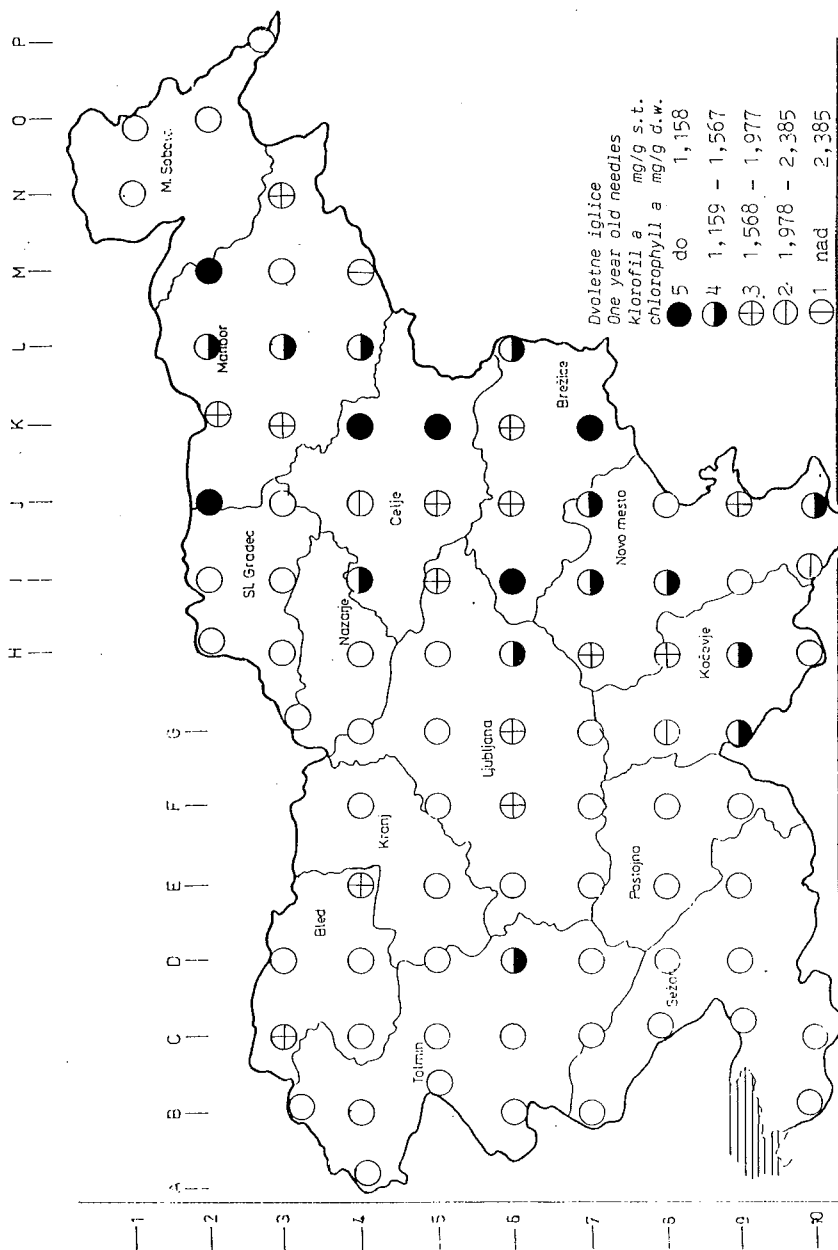
Legend:

y — age of seedlings after planting
Pl — number of the sampling plots
N — number of sampled seedlings



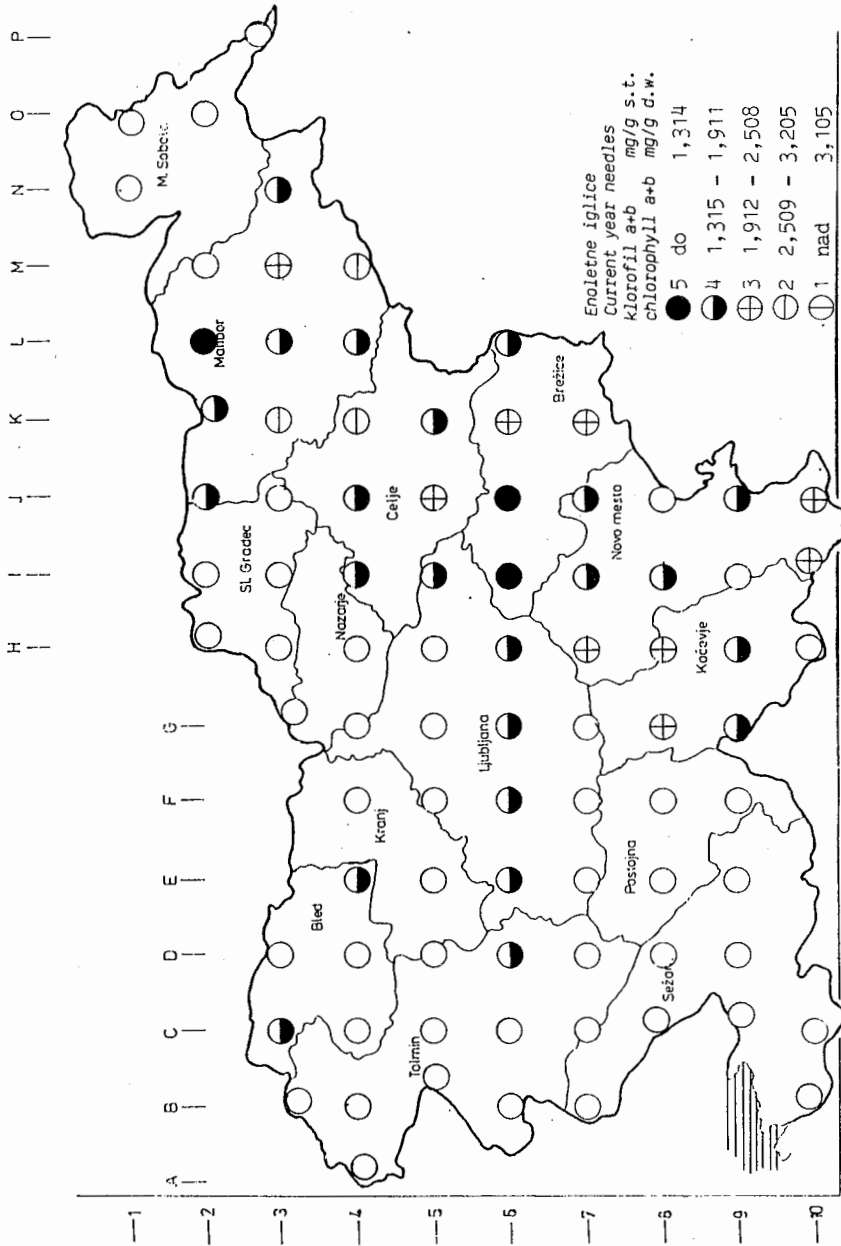
Slika 1: Vsebnost klorofilov a in b v dveletnih smrekovih iglicah, jeseni 1988, 16x16 km bioindikacijska mreža

Figure 1: Chlorophyll a + b content in one-year-old needles, autumn 1988, 16x16 km bioindication grid



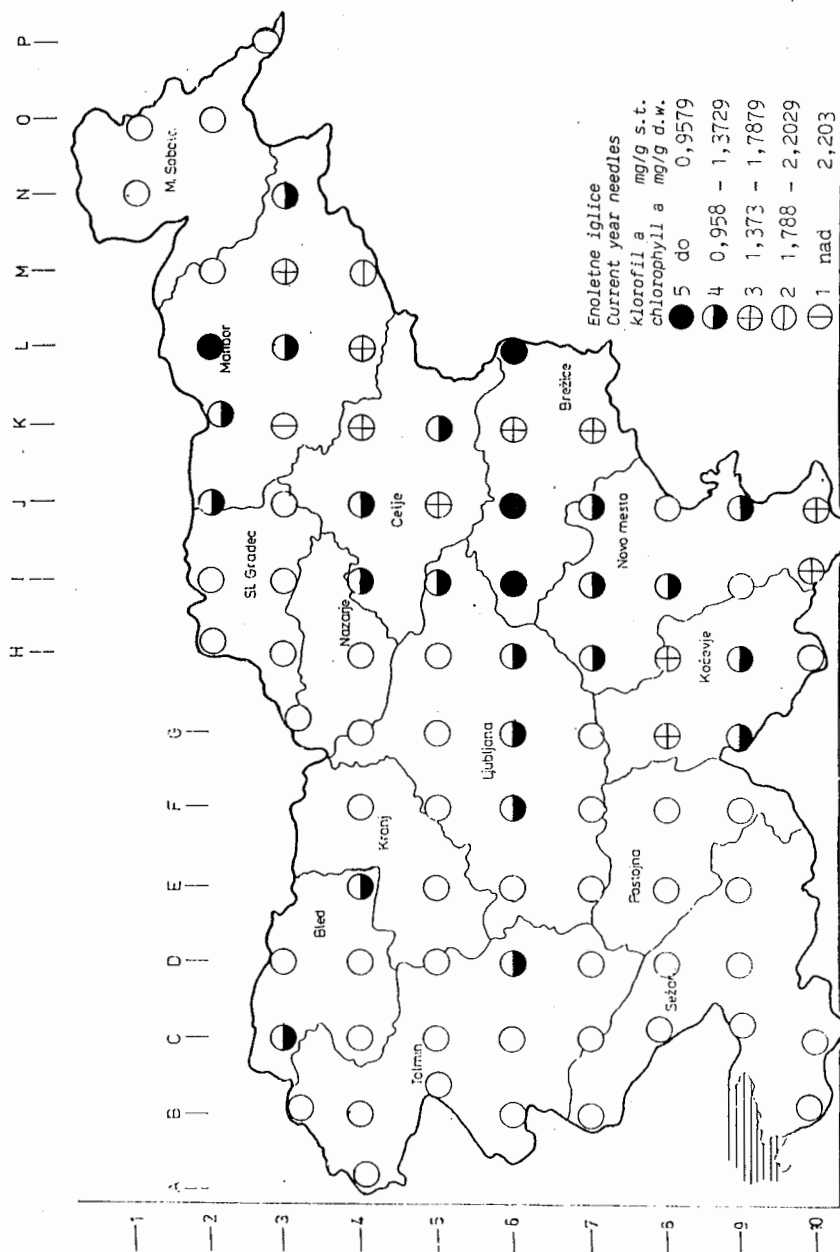
Slika 2: Vsebnost klorofila a v dveletnih iglicah, jesen 1988, 16x16 km bioindikacijska mreža

Figure 2: Chlorophyll a content in one-year-old needles, autumn 1988; 16x16 km bioindication grid

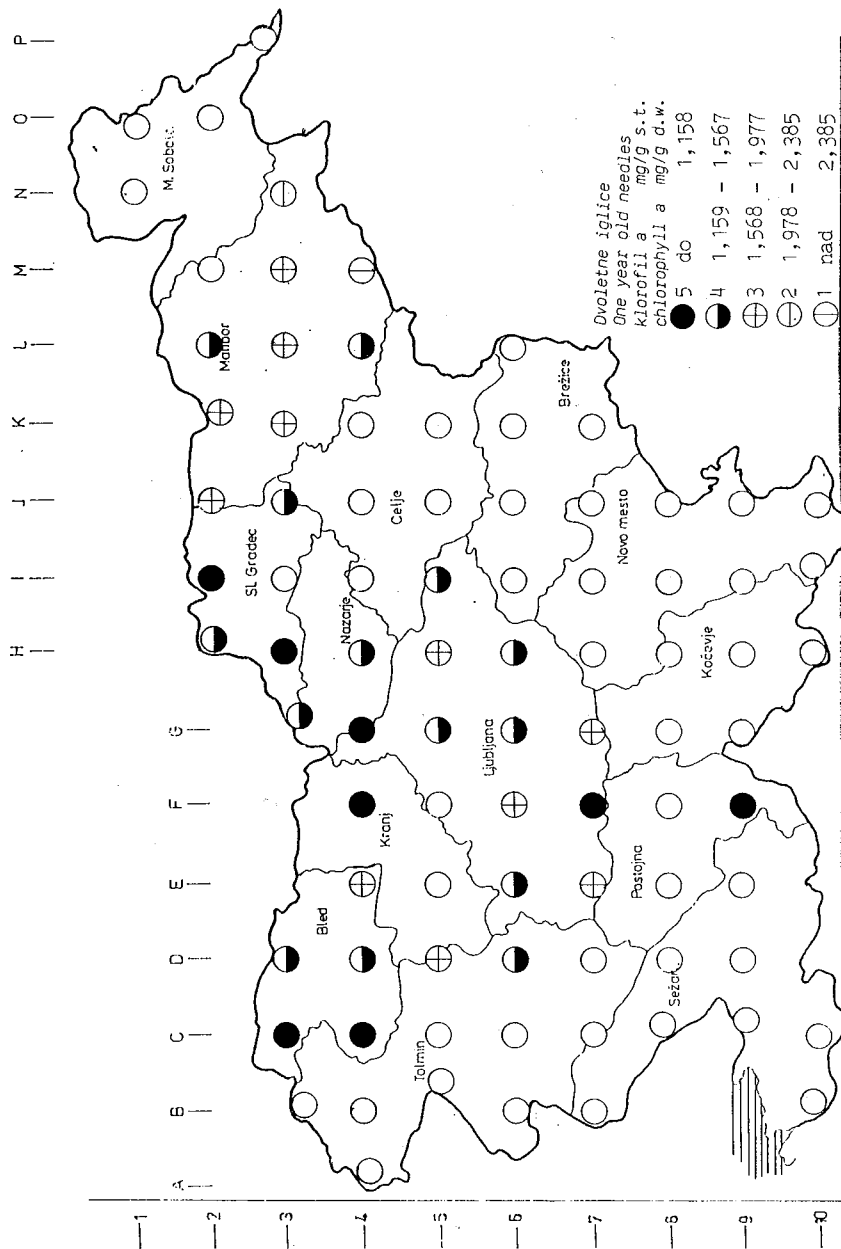


Slika 3: Vsebnost klorofilov a in b v enoletnih iglicah, jesen 1988, 16x16 km bioindikacijska mreža

Figure 3: Chlorophyll a + b content in current-year needles, autumn 1988; 16x16 km bioindication grid.

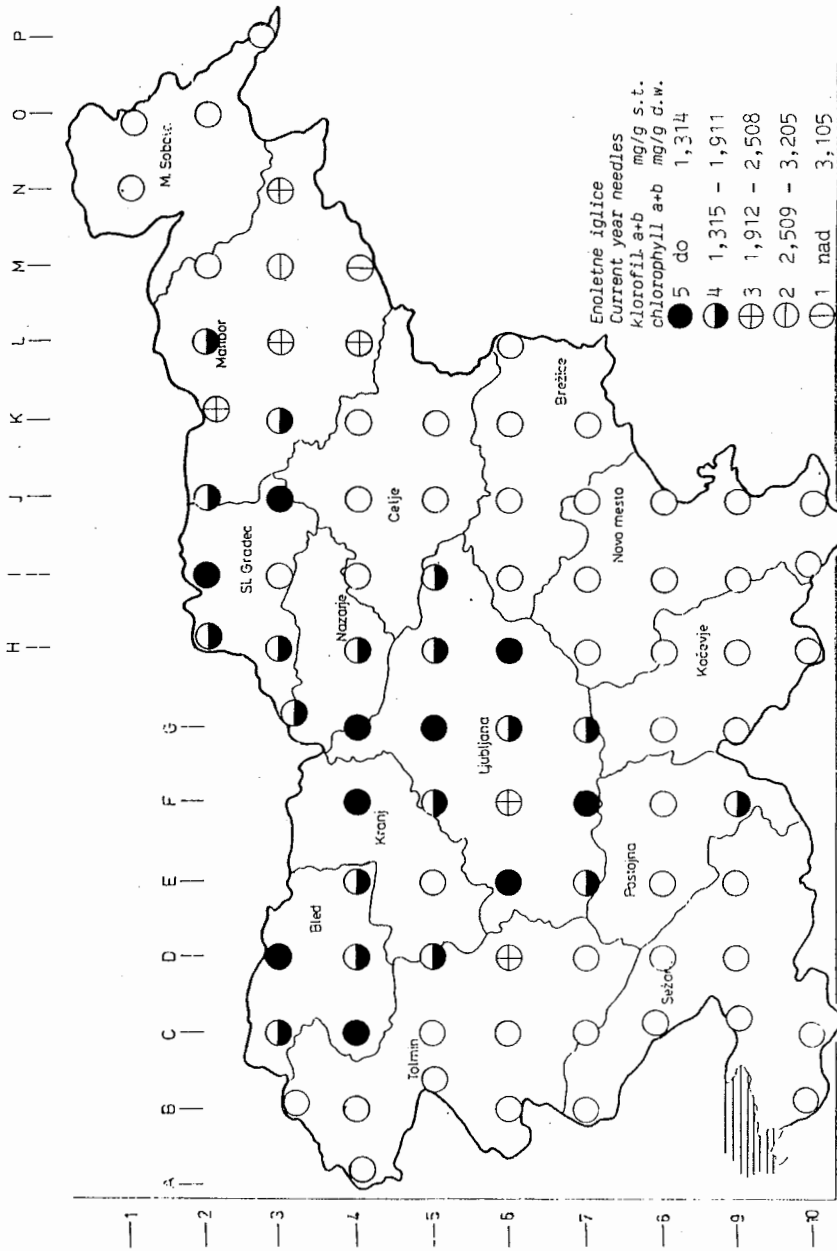


Slika 4: Vsebnost klorofila a v enoletnih iglicah, jesen 1988, 16x16 km mreža
 Figure 4: Chlorophyll a content in current-year needles, autumn 1988; 16x16 km bioindication grid.

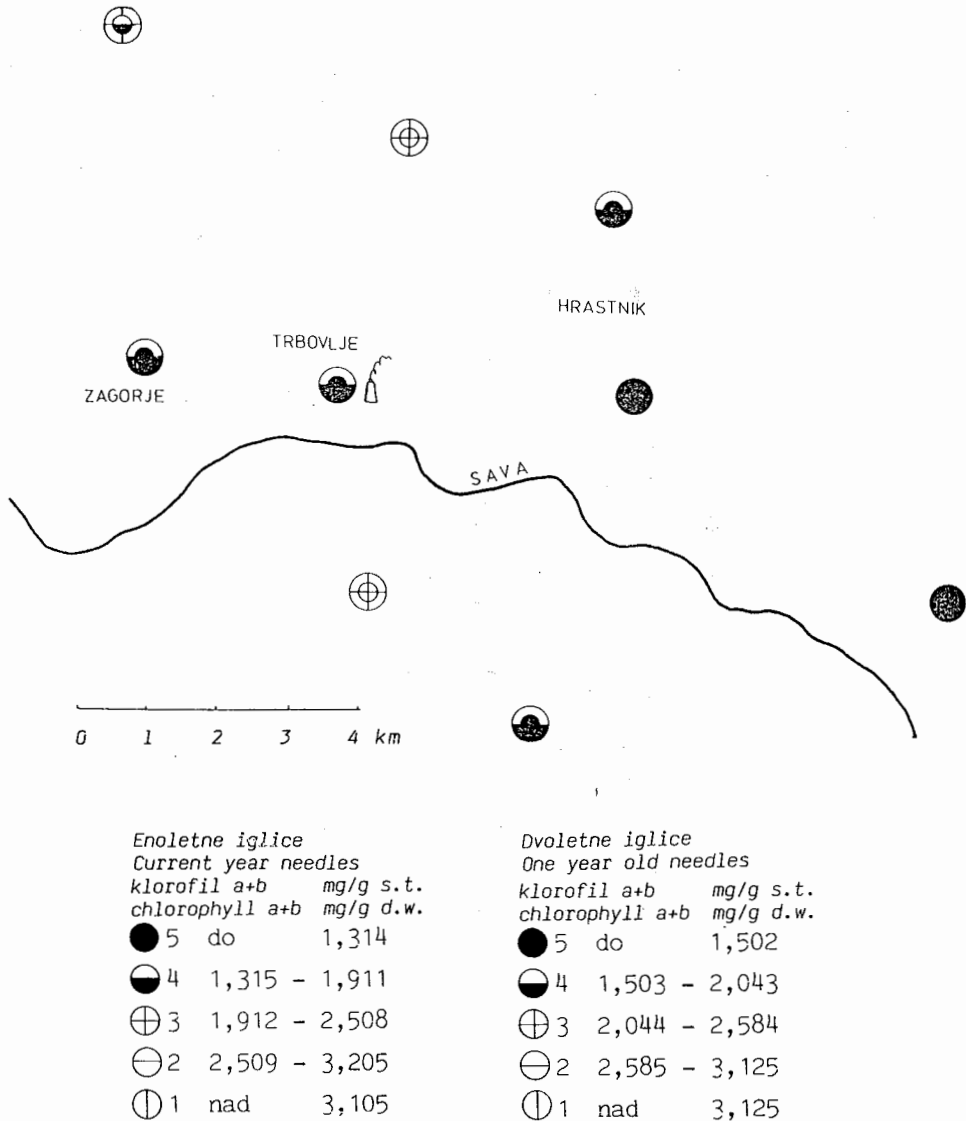


Slika 6: Vsebnost klorofila a v dveletnih smrekovih iglicah, jesen 1989, 16x16 km bioindikacijska mreža

Figure 6: Chlorophyll a content in one-year-old needles, autumn 1989; 16x16 km bioindication grid.

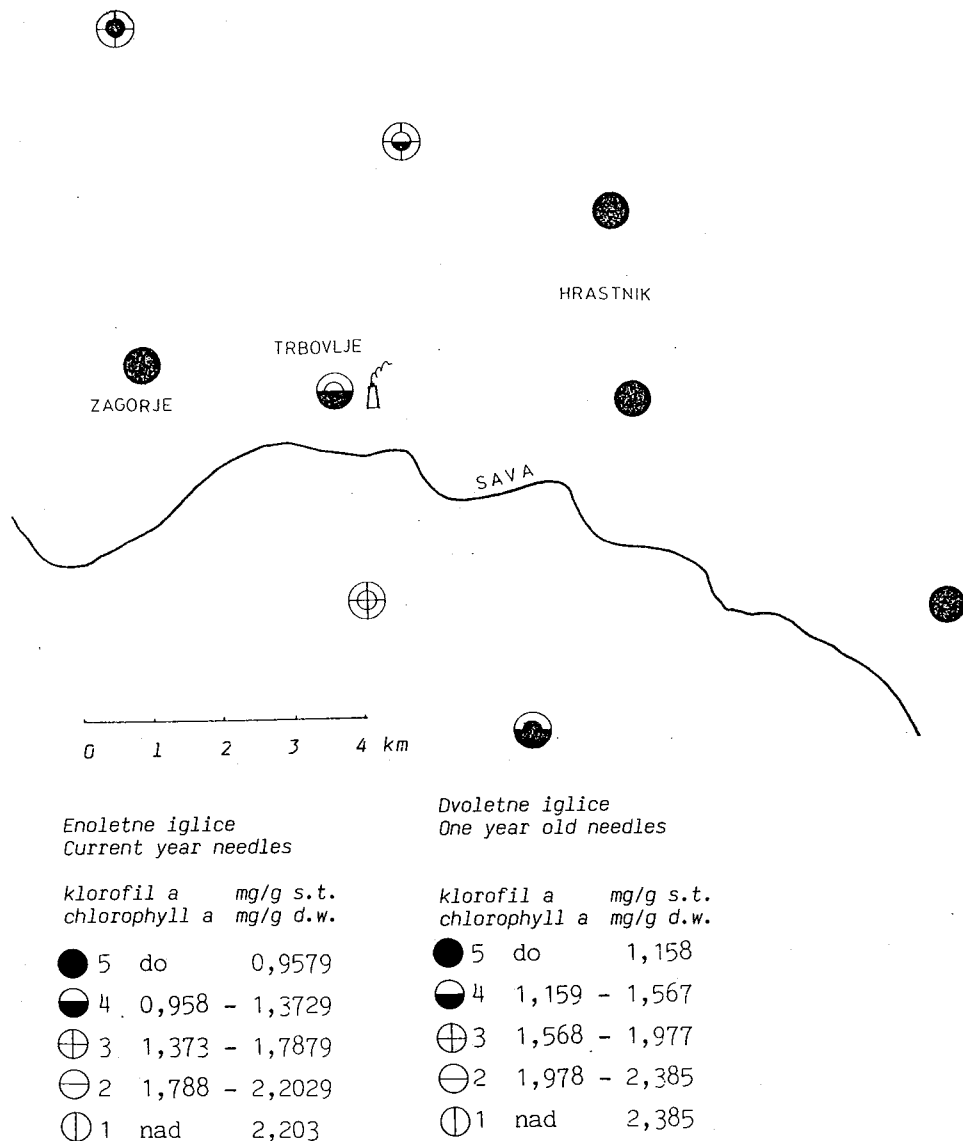


Slika 7: Vsebnost klorofila a in b v enoletnih iglicah, jesen 1989, 16x16 km bioindikacijska mreža
 Figure 7: Chlorophyll a and b content in current year needles, autumn 1989; 16x16 km bioindication grid.



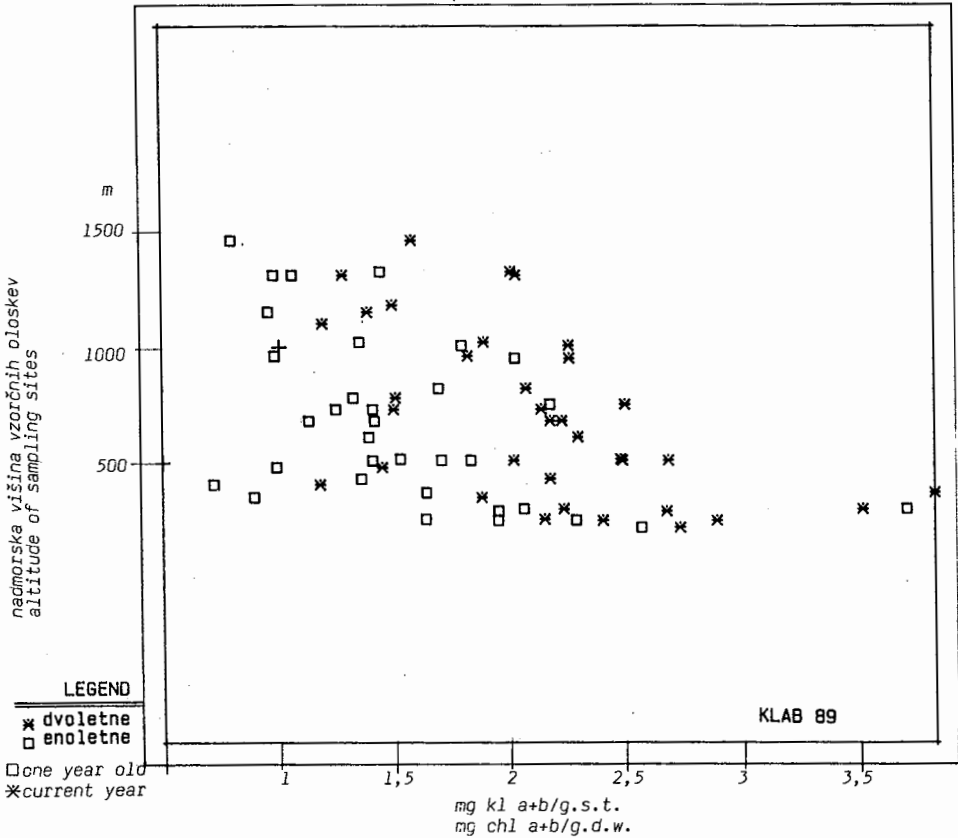
Slika 9: Vsebnost klorofilov a in b v eno- in dveletnih iglicah v Zasavju, jesen 1989, notranji krog dveletne iglice, zunanji enoletne.

Figure 9: Chlorophyll a and b content in current-year and one-year-old needles in the sites of Zasavje district; autumn 1989; the inner circle represents one-year-old needles, the outer circle current-year-needles.



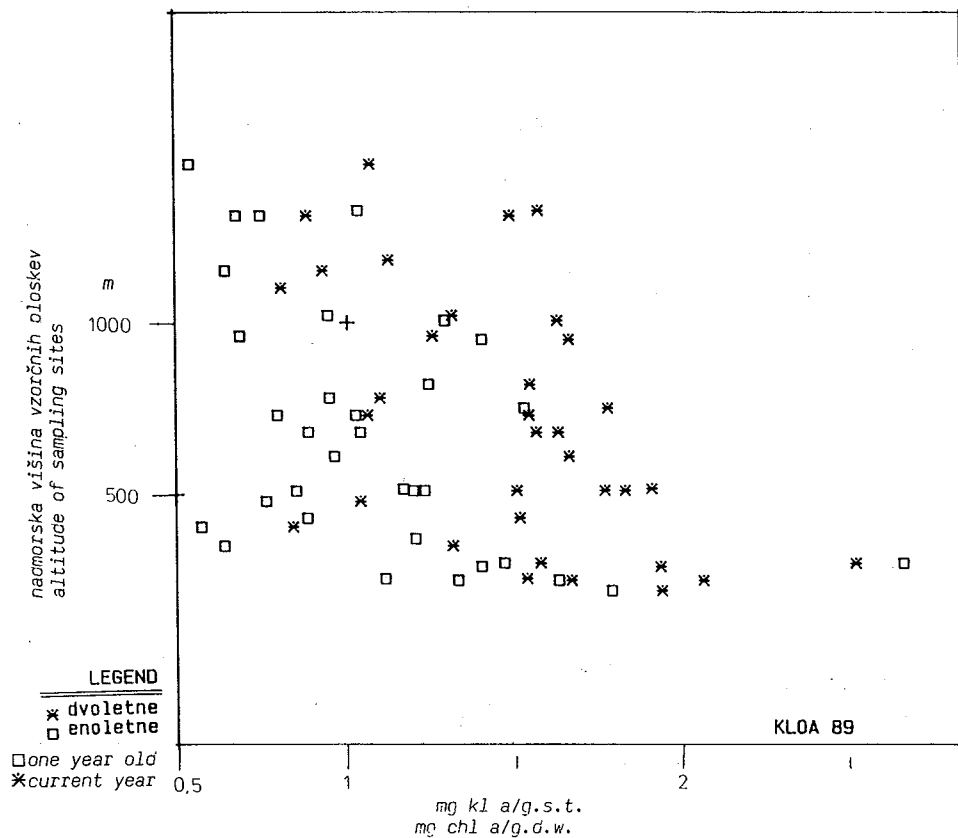
Slika 10: Vsebnost klorofila v eno- in dveletnih iglicah na izbranih točkah v Zasavju; jesen 1989; notranji krog dveletne iglice, zunanji enoletne.

Figure 10: Chlorophyll a content in current-year and one-year-old needles in selected sites of Zasavje district; autumn 1989; the inner circle represents one-year-old needles, the outer circle current-year needles



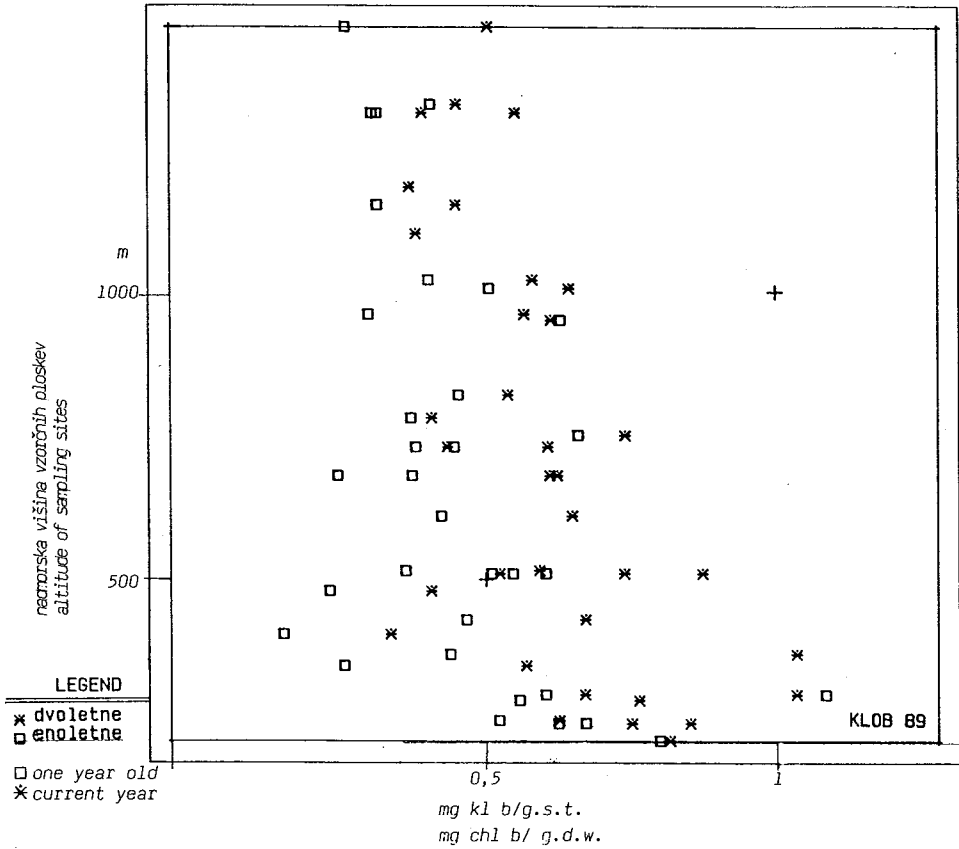
Slika 11: Vsebnost klorofilov a in b v enoletnih (kvadratki) in dveletnih (zvezdice) smrekovih iglicah v odvisnosti od nadmorske višine vzorčnega mesta, jesen 1989, 16x16 km bioindikacijska mreža

Figure 11: Chlorophyll a and b content in current-year needles (square) and one-year-old needles of Norway spruce (asterix) in relation to the altitude of the sampling site, autumn 1989, 16x16 km bioindication grid.



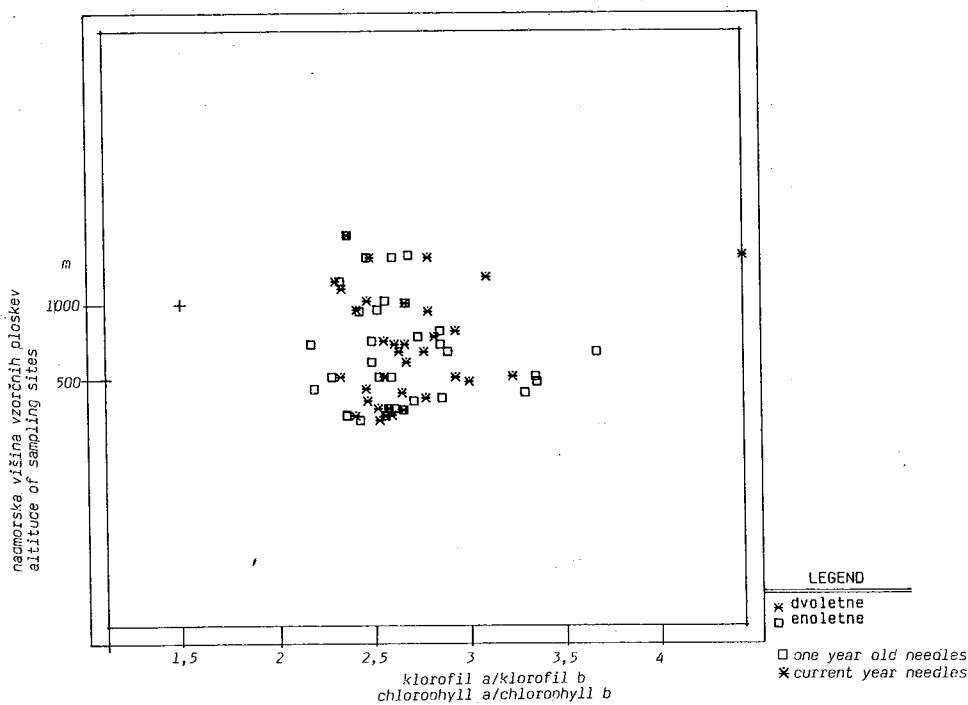
Slika 12: Vsebnost klorofila a v eno- (kvadratici) in dveletnih (zvezdice) smrekovih iglicah v odvisnosti od nadmorske višine vzorčnega mesta, jesen 1989, 16x16 km bioindikacijska mreža

Figure 12: Chlorophyll a content in current-year needles (square) and one-year-old needles (asterisk) of Norway spruce in relation to the altitude of the sampling site, autumn 1989; 16x16 km bioindication grid.



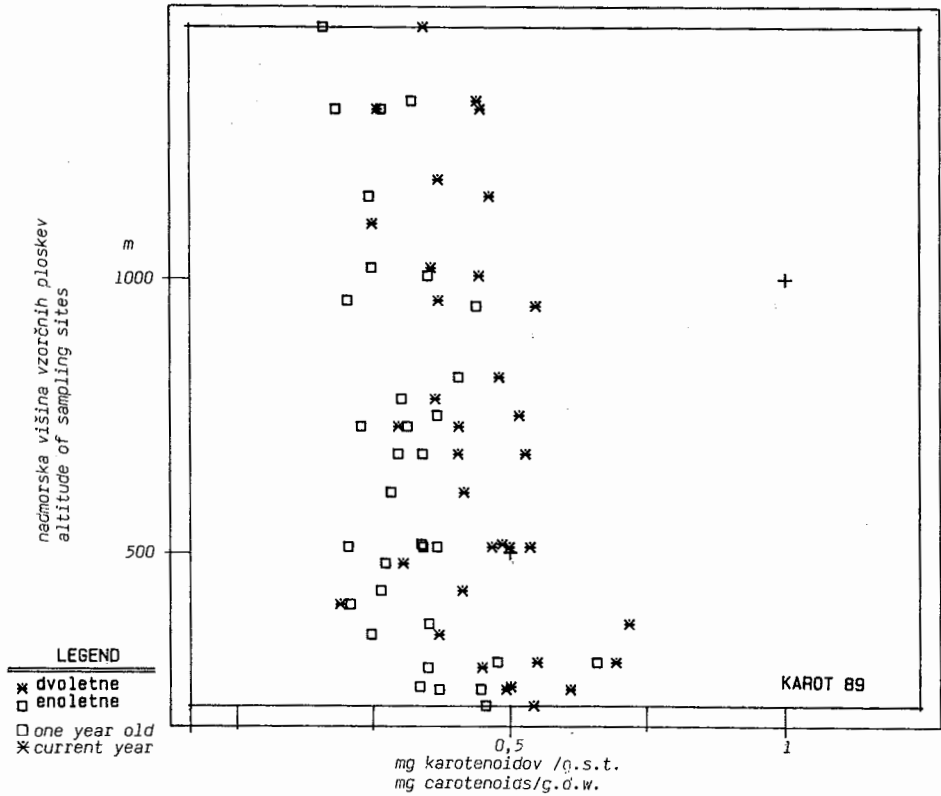
Slika 13: Vsebnost klorofila b v eno- (kvadratki) in dveletnih (zvezdice) smrekovih iglicah v odvisnosti od nadmorske višine vzorčnega mesta, jesen 1989, 16x16 km bioindikacijska mreža

Figure 13: Chlorophyll b content in current-year needles (square) and one-year-old needles (asterix) of Norway spruce in relation to the altitude of the sampling site, autumn 1989; 16x16 km bioindication grid.



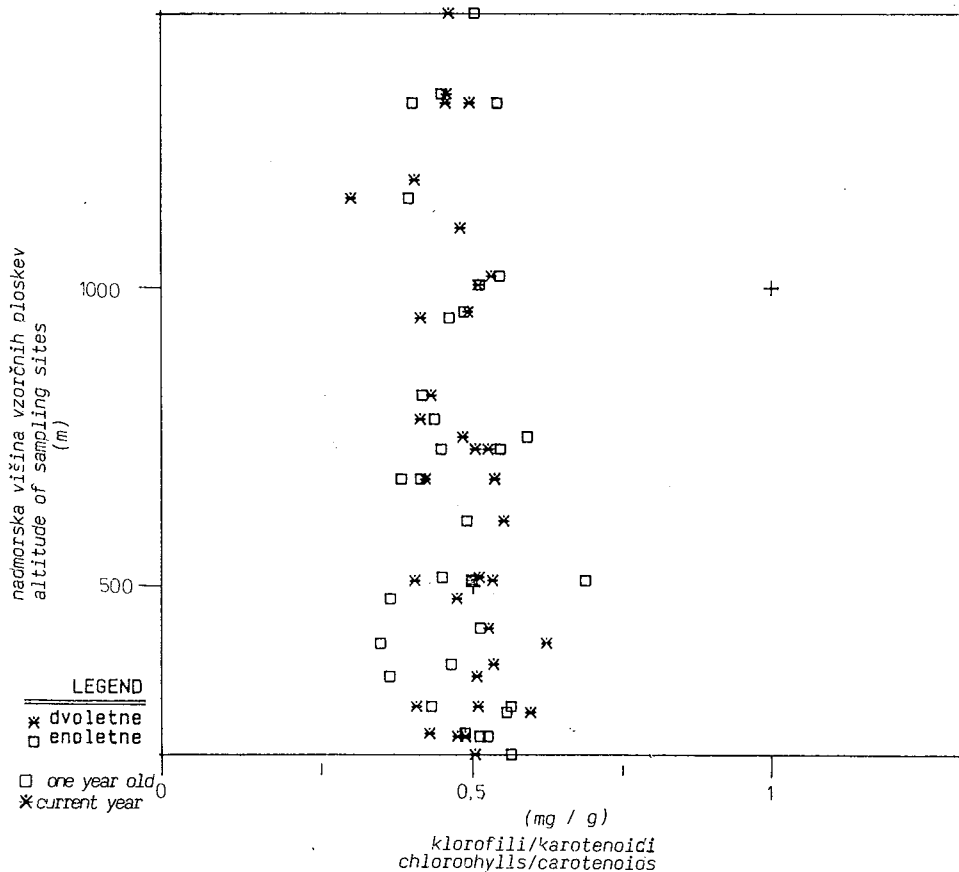
Slika 14: Vrednosti kvocienta klorofila a/b v eno- (kvadratici) in dveletnih smrekovih iglicah (zvezdice) v odvisnosti od nadmorske višine vzorčnega mesta, jesen 1989, 16x16 km bioindikacijska mreža

Figure 14: Quotient values between chlorophyll a and b in current-year needles (square) and one-year-old needles of Norway spruce (asterix) in relation to the altitude of the sampling site, autumn 1989; 16x16 km bioindication grid.



Slika 15: Vsebnost celotnih karotenoidov v eno- (kvadratki) in dveletnih smrekovih iglicah (zvezdice) v odvisnosti od nadmorske višine vzorčnega mesta, jesen 1989, 16x16 km bioindikacijska mreža

Figure 15: Total carotenoids content in current-year-needles (square) and one-year-old needles (asterix) of Norway spruce in relation to the altitude of the sampling site, autumn 1989; 16x16 km bioindication grid.



Slika 16: Razmerje med klorofili in celotnimi karotenoidi v eno- (kvadratki) in dveletnih smrekovih iglicah (zvezdice) v odvisnosti od nadmorske višine vzorčnega mesta, jesen 1989, 16x16 km bioindikacijska mreža

Figure 16: The ratio between total chlorophylls and carotenoids in current-year needles (square) and one-year-old needles (asterix) of Norway spruce in relation to the altitude of the sampling site, autumn 1989, 16x16 km bio-indication grid

