

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Nataša KOPUŠAR

**SPREMLJANJE KAZALNIKOV OKSIDATIVNEGA STRESA
PRI RASTLINAH KOT TRETJA RAVEN EKOLOŠKO
INFORMACIJSKEGA SISTEMA ONESNAŽENOSTI ZRAKA**

DOKTORSKO DELO

**MONITORING OF THE INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS
IN PLANTS AS A THIRD LEVEL OF THE ECOLOGICAL
INFORMATION SYSTEM ON AIR POLLUTION**

Ph.D. THESIS

Ljubljana, 2009

Doktorska disertacija je zaključek Podiplomskega študija bioloških in biotehnoloških znanosti, s področja agronomije. Delo je bilo opravljeno na Inštitutu za ekološke raziskave ERICo Velenje. Analize rastlinskih pigmentov, askorbinske kisline, alfa tokoferola in aktivnost encima superoksid dizmutaze so bile opravljene v laboratoriju ERICo Velenje. Meritve imisijskih koncentracij zračnih onesnažil in meritve temperature zraka, relativne zračne vlage, hitrosti in smeri vetra nam je posredoval Elektroinštitut Milan Vidmar Ljubljana, Termoelektrarna Šoštanj, Termoelektrarna Trbovlje in Mestna občina Ljubljana.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja doktorske disertacije imenovala prof. dr. Franca Batiča in somentorico doc. dr. Cvetko Ribarič Lasnik.

Komisija za oceno in zagovor:

- Predsednica: prof. dr. Lučka KAJFEŽ BOGATAJ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- Član: prof. dr. Franc BATIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- Član: prof. dr. Marjan VEBER
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo,
Oddelek za kemijo in biokemijo
- Članica: doc. dr. Cvetka RIBARIČ LASNIK
Inštitut za okolje in prostor, Oddelek za raziskave in razvoj

Datum zagovora: 9. januar 2009

Doktorska disertacija je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje disertacije v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je doktorska disertacija, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Nataša KOPUŠAR

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dd
- DK UDK 504.3.054:661.92:581.5:632.15:633.3:631.559 (043.3)
- KG kmetijske rastline/plazeča detelja/fižol/tobak/bioindikacija/oksidativni stres/ozonske poškodbe/zračna onesnažila/fotooksidanti/ozon/dušikovi oksidi/žveplov dioksid/rastlinski pigmenti/askorbinska kislina/alfa-tokoferol/encim superoksid dizmutaza/pridelek
- KK AGRIS F01/T01/P40/F60
- AV KOPUŠAR, Nataša, univ. dipl. inž. agr., mag. znanosti
- SA BATIČ, Franc (mentor) / RIBARIČ-LASNIK, Cvetka (somentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti, s področja agronomije
- LI 2009
- IN SPREMLJANJE KAZALNIKOV OKSIDATIVNEGA STRESA PRI RASTLINAH KOT TRETJA RAVEN EKOLOŠKO INFORMACIJSKEGA SISTEMA ONESNAŽENOSTI ZRAKA
- TD Doktorska disertacija
- OP XX, 168 str., 40 pregl., 74 sl., 2 pril., 272 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Namen doktorske disertacije je bil ugotoviti uporabnost bioindikatorskih metod kot tretjega informacijskega nivoja v spremljanja onesnaženosti zraka na območju delovanja termoenergetskih objektov. Cilj je bil kvantitativno (pridelek) in kvalitativno (poškodbe listov, vsebnosti rastlinskih pigmentov (klorofil a, b, lutein, zeaksantin, alfa in beta karoten) in antioksidantov v listih (askorbinska kislina, alfa tokoferol, superoksid dizmutaza)) ovrednotiti učinke zmanjšanja emisij SO₂, prahu in NO_x iz TEŠ na rastline v ruralnem in urbanem okolju. Metodologija mednarodnega programa ICP Vegetation je bila uporabljena na regionalni skali na poskusnih mestih Kovk (Zasavje), Zavodnje (Šaleška dolina), Vnajnjarje (obrobje Ljubljanske kotline) in Žerjav (Zgornja Mežiška dolina). Uporabili smo plazečo deteljo (*Trifolium repens* 'Regal') z dvema različno odpornima klonoma na ozon (NC-S in NC-R). Na lokalni skali (Šaleška dolina) smo uporabili standardizirano metodo na stojalih s tobakom (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') na poskusnih mestih Graška Gora, Lipje, Šmartno ob Paki, Šoštanj, Topolšica, Velenje-center, Velenje-jezero, Veliki Vrh in Zavodnje. Na stojalih smo izpostavili še nizek fižol (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') in plazečo deteljo (*Trifolium repens* 'Milka'). V Zavodnjah se je od leta 1996, delež poškodb listov NC-S klona značilno zmanjševal, kljub velikim koncentracijam O₃, kar pripisujemo zmanjšanemu sinergističnemu delovanju O₃ z SO₂. Negativni vpliv zračnih onesnažil na ravni vizualnih poškodb, pridelka in fizioloških odzivov rastlin je ostajal z leti enak na Kovku. Najprej se je s poškodbami na listih na O₃ odzval tobak 'Bel W₃', nato plazeča detelja 'Milka' in nazadnje fižol 'Berggold'. Po sanacijskih ukrepih v TEŠ so bile rastline vitalnejše, kar smo določili z večjo vsebnostjo fotosintezno aktivnega pigmenta klorofila a v listih in večjim razmerjem med klorofili in ksantofili. Določili smo redosled odziva rastlin na oksidativen stres v listih: povečana aktivnost encima superoksid dizmutaze, poveča se vsebnost askorbinske kisline in nazadnje še vsebnost alfa tokoferola.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dd
- DC UDC 504.3.054:661.92:581.5:632.15:633.3:631.559 (043.3)
- CX crops/white clover/kidney bean/tobacco/bioindication/oxidative stress/ozone injury/air pollutants/ photooxidants/ozone/nitric oxides/sulphure dioxide/plant pigments/ascorbic acid/alfa-tocopherol/superoxide dismutase/yields
- CC AGRIS F01/T01/P40/F60
- AU KOPUŠAR, Nataša
- AA BATIČ, Franc (supervisor) / RIBARIČ-LASNIK, Cvetka (co-supervisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate study of Biological and Biotechnical Sciences, Field Agronomy
- PY 2009
- TI MONITORING OF THE INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS IN PLANTS AS A THIRD LEVEL OF THE ECOLOGICAL INFORMATION SYSTEM ON AIR POLLUTION
- DT Doctoral Dissertation
- NO XX, 168 p., 40 tab., 74 fig., 2 ann., 272 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB The aim of this doctoral thesis was to determine the use of bioindicator methods as a third information level of monitoring air pollution in the areas around thermal power plants. The goal was to assess the quantitative (yield) and qualitative (leaf damage, plant pigment levels (chlorophyll a and b, lutein, zeaxanthin, alpha- and beta-carotene) and antioxidants in leaves (ascorbic acid, alpha-tocopherol and superoxide dismutase)) effects of decreasing emissions of SO₂, dust particles and NO_x from the Šoštanj thermal power plant (TPP) on the rural and urban environments. The methodology of the international ICP Vegetation Programme was used on a regional scale at experiment sites Kovk (the Sava Valley), Zavodnje (the Šalek Valley), Vnajarje (outskirts of the Ljubljana basin) and Žerjav (Upper Mežica Valley). Two clones of white clover (*Trifolium repens* 'Regal') with different ozone resistance properties (NC-S and NC-R) were used. On a local scale (the Šalek Valley) the standardized method with tobacco (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') on stands was used at experiment sites Graška Gora, Lipje, Šmartno ob Paki, Šoštanj, Topolšica, Velenje – Centre, Velenje – Lake, Veliki Vrh and Zavodnje. Kidney bean (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') and white clover (*Trifolium repens* 'Milka') were also exposed on stands. In Zavodnje, the leaf damage on the NC-S clone of white clover showed a characteristic decline from 1996 on, after taking remedial measures in TPP Šoštanj, despite the trend of growing O₃ emissions, which can be ascribed to a lower synergistic activity of O₃ and SO₂. At Kovk, the negative impact of air pollutants regarding visible damage, yield and physiological reactions of plants remained the same throughout the years. First signs of leaf damage were seen on *Nicotiana tabacum* 'Bel W₃', then on *Trifolium repens* 'Milka' and finally on *Phaseolus vulgare* 'Berggold'. Once remedial measures were taken in TPP Šoštanj, plants proved to be more vital, which was determined with a higher level of photosynthetically active pigment, chlorophyll a, in leaves and a higher chlorophylls/xanthophylls ratio. The chronological order of reactions in plants triggered by oxidative stress in leaves was determined: first the activity of the superoxide dismutase enzyme increased, followed by a rise in ascorbic acid level and finally alpha-tocopherol level.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key words documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VIII
Kazalo slik	XII
Kazalo prilog	XVIII
Okrajšave in simboli	XIX
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	4
2.1 SESTAVA IN KVALITETA ZUNANJEGA ZRAKA	4
2.2 TOKSIČNOST OZONA IN DRUGIH ZRAČNIH ONESNAŽIL ZA ORGANIZME JE POVEZANA Z NASTANKOM PROSTIH KISIKOVIH RADIKALOV	11
2.2.1 Kemijske poti nastanka prostih radikalov v celicah	12
2.2.2 Mesta nastanka prostih kisikovih radikalov v rastlinskih celicah	15
2.2.3 Zaščita rastlinskih celic pred prostimi radikali	17
2.3 AKUTNI IN KRONIČNI ODZIV RASTLIN NA OZON IN DRUGA ZRAČNA ONESNAŽILA	20
2.3.1 Diagnoza vidnih poškodb na listih	21
2.3.2 Diagnoza nevidnih poškodb	22
2.4 VPLIVI ZUNANJIH DEJAVNIKOV OKOLJA NA ODZIVNOST RASTLIN NA OZON IN DRUGA ZRAČNA ONESNAŽILA	23
2.5 METODOLOGIJE IN IZPOSTAVITVENE TEHNIKE ZA BIOINDIKACIJO OZONA	24
2.6 PRIMARNA, SEKUNDARNA IN TERCIARNA RAVEN SPREMLJANJA ONESNAŽENOSTI ZRAKA Z OZONOM IN DRUGIMI ONESNAŽILI V SLOVENIJI	25
2.6.1 Zakonodaja na področju onesnaženosti zraka	26
2.6.2 Bioindikacija zračnih onesnažil s poudarkom na ozonu – terciarna raven	29
3 MATERIALI IN METODE	32
3.1 OPISI IZBRANIH OBMOČIJ IZVAJANJA POSKUSOV	33

3.1.1	Šaleška dolina z okolico (Zavodnje, Šoštanj, Velenje, Lipje, Šmartno ob Paki, Graška Gora, Veliki Vrh, Topolšica)	33
3.1.2	Zasavska regija z okolico (Kovk)	38
3.1.3	Ljubljanska kotlina in okolica (Vnajnarje)	40
3.1.4	Mežiška dolina (Žerjav-Narodni dom in Matvozov vrh)	41
3.2	IZVEDBA POSKUSOV PO EUROBIONET METODI	43
3.2.1	Priprava rastlinskega materiala	43
3.2.2	Terensko delo	45
3.3	IZVEDBA POSKUSOV PO ICP VEGETATION PROGRAMU	47
3.3.1	Priprava rastlinskega materiala	47
3.3.2	Terensko delo	48
3.4	LABORATORIJSKO DELO	49
3.4.1	Laboratorijska oprema	50
3.4.2	Kemikalije	51
3.4.3	Analiza vzorcev	51
3.4.3.1	Določanje vsebnosti rastlinskih pigmentov	51
3.4.3.2	Določanje vsebnosti askorbinske kisline	52
3.4.3.3	Določanje vsebnosti alfa tokoferola	53
3.4.3.4	Določanje aktivnosti encima superoksid dizmutaze (SOD)	53
3.5	OBDELAVA METEOROLOŠKIH MERITEV IN MERITEV ZRAČNIH ONESNAŽIL	54
3.6	STATISTIČNA VREDNOTENJE REZULTATOV	56
4	REZULTATI	57
4.1	ATLAS OZONSKIH POŠKODB	57
4.2	REZULTATI IZPOSTAVITVE PO ICP VEGETATION PROGRAMU	65
4.2.1	Rezultati terenskih meritev	65
4.2.2	Rezultati laboratorijskih meritev	66
4.3	REZULTATI PO EUROBIONET METODI	78
4.3.1	Rezultati terenskih meritev	78
4.3.2	Rezultati laboratorijskih meritev	85
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	100
5.1	RAZPRAVA	100
5.1.1	Spremljanje odziva sorte plazeče detelje <i>Trifolium repens</i> 'Regal' na zračna onesnažila po metodi ICP Vegetation programa	100

5.1.1.1	Odziv sorte plazeče detelje <i>Trifolium repens</i> 'Regal' na zmanjševanje emisij zračnih onesnažil iz TEŠ v Zavodnjah	100
5.1.1.2	Primerjava odziva <i>Trifolium repens</i> 'Regal' iz štirih različno onesnaženih območij Slovenije z zračnimi onesnažili	107
5.1.2	Spremljanje odziva različnih vrst rastlin na zračna onesnažila od 2002 do 2005 v Šaleški dolini po EuroBionet metodi	113
5.1.2.1	Meteorološke značilnosti poskusnih obdobj	113
5.1.2.2	Kazalniki odziva rastlin na zračna onesnažila pred in po rekonstrukciji kotla B5 v TEŠ	117
5.2	SKLEPI	139
6	POVZETEK (SUMMARY)	142
6.1	POVZETEK	142
6.2	SUMMARY	145
7	VIRI	149

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

	Str.
Preglednica 1: Sestava zraka (skupna količina 5×10^{15} t).	4
Preglednica 2: Primerjava stratosferskega in troposferskega ozona.	7
Preglednica 3: Nekateri reaktivni kisikovi prosti radikali in reaktivne kisikove spojine, ki niso prosti radikali.	11
Preglednica 4: Ponazoritev možnih elektronskih konfiguracij v kisikovi molekuli. Reaktivnost narašča od leve proti desni.	12
Preglednica 5: Ciljne in dolgoročno naravnane vrednosti za ozon v Sloveniji.	27
Preglednica 6: Območja onesnaženosti in raven koncentracij zračnih onesnažil na posameznem območju onesnaženosti v Sloveniji.	28
Preglednica 7: Osnovni geografski podatki o poskusnih mestih na območju Šaleške doline (ANAS EIS-Termoelektrane Šoštanj (TEŠ) po EuroBionet metodi izpostavitve.	33
Preglednica 8: Geografska lega poskusnih mest po ICP Vegetation metodi izpostavitve in vrste meritev avtomatskih merilnih postaj.	33
Preglednica 9: Emisije iz TEŠ, količina porabljenega premoga in proizvedena električna energija v obdobju 1980–2006 (BilTEŠ, 2006).	35
Preglednica 10: Pregled srednjih letnih koncentracij SO_2 , O_3 , NO_x in NO_2 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) na merilnih mestih TEŠ v Šaleški dolini v obdobju 1992–2006 (BilTEŠ, 2006).	36
Preglednica 11: Datumi popisov ozonskih poškodb na listih tobakovih rastlin v letih od 2002 do 2005.	46
Preglednica 12: Dodatki in lastnosti mešanice zemlje za lončne poskuse (podatki iz embalaže).	47
Preglednica 13: Povprečne vrednosti kemijskih lastnosti mešanice zemlje uporabljene v lončnem poskusu pred in po izpostavitvi.	48
Preglednica 14: Razredi poškodovanosti, po katerih ocenjujemo ozonske poškodbe na listih plazeče detelje.	49
Preglednica 15: Razredčitvene koncentracije standardov za posamezne rastlinske pigmente.	52
Preglednica 16: Kritične vrednosti koncentracij ozona za gozdna drevesa in kmetijske rastline za pridelek in za vidne ozonske poškodbe na listih, sprejete v Koupiu leta 1996.	55
Preglednica 17: Kritične vrednosti koncentracij ozona za gozdna drevesa in kmetijske rastline, sprejete v Göteborgu leta 1999.	55

	Str.
Preglednica 18: Razred ozonskih poškodb rastlin na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (<i>Trifolium repens</i> 'Regal'), izpostavljenih vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu (Narodni dom, Matvozov Vrh).	66
Preglednica 19: Masa (g) nadzemnega dela na ozon občutljivega (nov NC-S in star NC-SS klon) in odpornega (NC-R klon) klona plazeče detelje 'Regal' (<i>Trifolium repens</i> 'Regal'). Rastline plazeče detelje 'Regal' so bile požete (Žetev.), odvisno od leta, 3- do 5-krat, po 28-dnevni (± 2 dni) izpostavljenosti vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu,	67
Preglednica 20: Razmerje med klonoma (NC-S/NC-R; na ozon občutljiv klon = NC-S; na ozon odporen klon = NC-R) plazeče detelje 'Regal' (<i>Trifolium repens</i> 'Regal') v masi nadzemnega dela. Rastline plazeče detelje 'Regal' so bile izpostavljene vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu.	72
Preglednica 21: Vsebnosti alfa tokoferola (mg/g SS) v listih na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (<i>Trifolium repens</i> 'Regal'), izpostavljene vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu.	73
Preglednica 22: Vsebnosti askorbinske kisline (mg/g SS) v listih na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (<i>Trifolium repens</i> 'Regal'), izpostavljene vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu (Narodni dom, Matvozov Vrh).	74
Preglednica 23: Vsebnosti ksantofilov, luteina in zeaksantina (mg/g SS) v listih na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (<i>Trifolium repens</i> 'Regal'), izpostavljene vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu (Narodni dom, Matvozov Vrh).	75
Preglednica 24: Vsebnosti klorofila a in b (mg/g SS) v listih na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (<i>Trifolium repens</i> 'Regal'), izpostavljene vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu (Narodni dom, Matvozov Vrh).	76
Preglednica 25: Vsebnosti alfa in beta karotena (mg/g SS) v listih na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (<i>Trifolium repens</i> 'Regal'), izpostavljene vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu (Narodni dom, Matvozov Vrh).	77

	Str.
Preglednica 26: Povprečno število vseh listov na rastlino, povprečno število od ozona poškodovanih listov na rastlino in odstotek listov z ozonskimi poškodbami na rastlino plazeče detelje 'Milka' (<i>Trifolium repens</i> 'Milka'), ki je bila v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih na stojalu 2 ali 4 tedne izpostavljena vplivom onesnaženega zraka.	78
Preglednica 27: Povprečen razred ozonskih poškodb na listih plazeče detelje 'Milka' (<i>Trifolium repens</i> 'Milka'), ki je bila v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih na stojalu 2 ali 4 tedne izpostavljena vplivom onesnaženega zraka.	80
Preglednica 28: Povprečen odstotek od ozona poškodovane listne površine na rastlino nizkega fižola (<i>Phaseolus vulgare</i> 'Berggold'), ki je bil v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih na stojalu izpostavljen vplivom onesnaženega zraka.	82
Preglednica 29: Povprečen odstotek od ozona poškodovane listne površine na rastlino tobaka 'Bel W ₃ ' (<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ '), ki je bil v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih izpostavljen vplivom onesnaženega zraka v 10-litrskem loncu.	83
Preglednica 30: Povprečen odstotek od ozona poškodovane listne površine na rastlino tobaka 'Bel W ₃ ' (<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ '), ki je bil v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih izpostavljen vplivom onesnaženega zraka na stojalu.	84
Preglednica 31: Povprečna masa posušenih listov na rastlino (g) in skupna masa (g) posušenih listov plazeče detelje 'Milka' (<i>Trifolium repens</i> 'Milka') na žetev na določeno poskusno mesto. Detelja je bila vplivom onesnaženega zraka na stojalu izpostavljena 4 tedne, in sicer na devetih poskusnih mestih v letih od 2002 do 2005.	85
Preglednica 32: Povprečno število strokov in povprečna masa (g) posušenih strokov na rastlino nizkega fižola 'Berggold' (<i>Phaseolus vulgare</i> 'Berggold'), ki je bil v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih na stojalu izpostavljen vplivom onesnaženega zraka do suhe zrelosti strokov.	89
Preglednica 33: Povprečna masa posušenega stroka (g), povprečna dolžina strokov (cm), največja (cm), najmanjša (cm) in srednja (Me) dolžina stroka (cm) na rastlino nizkega fižola 'Berggold' (<i>Phaseolus vulgare</i> 'Berggold'), ki je bil v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih na stojalu izpostavljen vplivom onesnaženega zraka do suhe zrelosti strokov.	90
Preglednica 34: Vsebnosti alfa tokoferola (mg/g SS), askorbinske kisline (mg/g SS) in razmerja med njima v listih plazeče detelje (<i>Trifolium repens</i> 'Milka'), izpostavljene vplivom onesnaženega zraka na stojalu na devetih poskusnih mestih v letih 2004 in 2005.	91

	Str.
Preglednica 35 : Vsebnosti alfa tokoferola (mg/g SS), askorbinske kisline (mg/g SS) in razmerja med njima v listih nizkega fižola (<i>Phaseolus vulgaris</i> 'Berggold'), izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka na stojalu na devetih poskusnih mestih v letih 2004 in 2005.	93
Preglednica 36: Vsebnosti alfa tokoferola (mg/g SS), askorbinske kisline (mg/g SS) in razmerja med njima v listih tobaka (<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ '), izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka v 10-litrskih loncih na devetih poskusnih mestih celo vegetacijsko obdobje v letih 2004 in 2005.	94
Preglednica 37: Vsebnosti alfa tokoferola (mg/g SS), askorbinske kisline (mg/g SS) in razmerja med njima v listih tobaka (<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ ') izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka na stojalih na devetih poskusnih mestih v letih 2004 in 2005.	95
Preglednica 38: Vsebnost pigmentov klorofila a in klorofila b (mg/g SS) v listih rastlin, izpostavljenih na stojalu (tobak (<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ '), nizek rumenostročni fižol (<i>Phaseolus vulgare</i> 'Berggold') in plazeča detelja (<i>Trifolium repens</i> 'Milka')), in tobaka (<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ ') v 10-litrskem loncu, izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka v celem vegetacijskem obdobju. Listi so bili vzorčeni v letih 2004 in 2005, na osmih poskusnih mestih.	96
Preglednica 39: Vsebnost ksantofilnih pigmentov luteina in zeaksantina (mg/g SS) v listih rastlin, izpostavljenih na stojalu (tobak (<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ '), nizek rumenostročni fižol (<i>Phaseolus vulgare</i> 'Berggold') in plazeča detelja (<i>Trifolium repens</i> 'Milka')), in tobaka (<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ ') v 10-litrskem loncu, izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka v celem vegetacijskem obdobju. Listi so bili vzorčeni v letih 2004 in 2005, na osmih poskusnih mestih.	97
Preglednica 40: Aktivnost encima superoksid dizmutaza (SOD) v listih rastlin, izpostavljenih na stojalu (tobak (<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ '), nizek rumenostročni fižol (<i>Phaseolus vulgare</i> 'Berggold') in plazeča detelja (<i>Trifolium repens</i> 'Milka')): izpostavljena 2 ali 4 tedne), in tobaka (<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ ') v 10-litrskem loncu, izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka v celem vegetacijskem obdobju. Listi so bili vzorčeni v letih 2002, 2003 in 2004, na desetih poskusnih mestih.	98

KAZALO SLIK

	Str.
Slika 1: Setev tobaka v plato in rastlinice na stopnji razvitosti 2 listov.	43
Slika 2: Priprava lončkov in presaditev tobaka v lončke.	44
Slika 3: Stopnje vzgoje tobaka: lonček s 4 šopi tobakov – lonček s 4 rastlinicami tobakov – ena tobakova rastlina v lončku. Na sliki desno je vidna stopnja razvitosti tobaka ob izpostavitvi.	44
Slika 4: Stojalo s poskusnimi rastlinami (plazeča detelja 'Milka', tobak 'Bel W ₃ ' in nizek rumenostročni fižol 'Berggold') in vkopan lonec s tobakom 'Bel W ₃ ' v Topolšici.	45
Slika 5: Vzorčenje listov detelje na poskusnem mestu Lipje.	46
Slika 6: Primer plazeče detelje na stojalu po vzorčenju.	46
Slika 7: Material, potreben za vzorčenje listov plazeče detelje za biokemijske analize.	50
Slika 8: Izgled tobakov 'Bel W ₃ ', izpostavljenih na stojalu pred in po 14-dnevni izpostavitvi.	58
Slika 9: Izgled tobaka 'Bel W ₃ ' v vkopanem loncu ob izpostavitvi in ob zaključku poskusa.	59
Slika 10: Izgled nizkega fižola 'Berggold' ob izpostavitvi in ob zaključku poskusa.	59
Slika 11: Izgled plazeče detelje 'Milka' ob začetku in koncu poskusov (niz 3 detelj desno na obeh slikah je njihov izgled po 1. in zadnjem vzorčenju).	60
Slika 12: Ozonske poškodbe na listih tobaka 'Bel W ₃ ', od lista z malo poškodb do propada le tega.	61
Slika 13: Ozonske poškodbe na listih plazeče detelje 'Milka', od malo do močno poškodovanih listov.	62
Slika 14: Ozonske poškodbe na listih nizkega fižola 'Berggold', od lista brez poškodb do močno poškodovanega lista.	63
Slika 15: Koncentracija žveplovega dioksida (SO ₂ , µg/m ³) in dušikovih oksidov (NO _x , µg/m ³) v Zavodnjah v treh različnih obdobjih glede na sanacijske ukrepe v TEŠ (po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov - po NRDP; po rekonstrukciji kotla B5 – RKB5).	101
Slika 16: Koncentracija ozona (O ₃ , µg/m ³) v Zavodnjah v treh različnih obdobjih glede na sanacijske ukrepe v TEŠ (po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov - po NRDP; po rekonstrukciji kotla B5 – RKB5).	101

	Str.
Slika 17: Razred poškodovanosti listov zaradi ozona v Zavodnjah v treh različnih obdobjih glede na sanacijske ukrepe v TEŠ (po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov - po NRDP; po rekonstrukciji kotla B5 – RKB5).	102
Slika 18: Razred poškodovanosti listov zaradi ozona od leta 1996 do 2005 v Zavodnjah.	102
Slika 19: Linearna odvisnost med povprečnimi koncentracijami ozona ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) in razredi poškodovanosti listov na ozon občutljivega klona NC-S plazeče detelje 'Regal'.	102
Slika 20: Razmerje v pridelku med NC-S in NC-R klonoma plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah pred in po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov (NRDP) ter po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).	104
Slika 21: Linearna odvisnost med leti in razmerjem v pridelku med klonoma NC-S in NC-R plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah.	104
Slika 22: Linearna odvisnost med povprečnimi dnevnimi koncentracijami ozona ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) in razmerjem v pridelku med klonoma NC-S in NC-R plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah.	105
Slika 23: Vsebnosti askorbinske kisline in alfa tokoferola v listih plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah pred in po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov (NRDP) ter po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).	106
Slika 24: Vsebnosti klorofila a in razmerje med klorofiloma a in b v listih plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah pred in po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov (NRDP) ter po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).	106
Slika 25: Razmerje med klorofiloma (klorofil a in b) in ksantofiloma (lutein in zeaksantin) v listih plazeče detelje 'Regal' občutljivega klona na ozon (NC-S) v Zavodnjah pred in po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov (NRDP) ter po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).	107
Slika 26: Trendi razredov poškodovanosti listov plazeče detelje 'Regal' v vegetacijskem obdobju, to je od prvega do zadnjega vzorčenja, na poskusnih mestih Zavodnje, Vnajarje, Kovk, Žerjav-Narodni dom in Žerjav-Matvoz.	108
Slika 27: Trendi razredov poškodovanosti listov plazeče detelje 'Regal' od leta 1996 do 2005 na poskusnih mestih Zavodnje, Vnajarje, Kovk, Žerjav-Narodni dom in Žerjav-Matvoz.	108
Slika 28: Razmerje v pridelku med klonoma NC-S in NC-R plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah, Vnajarjih, Kovku, Žerjav-Narodni dom, Žerjav-Matvoz po posameznih poskusnih letih (1996–2005).	109
Slika 29: Razmerje v pridelku med klonoma NC-S in NC-R plazeče detelje 'Regal' upošteva vse poskusna mesta in leta skupaj po posameznih vzorčenjih (1.-5. vzorčenje).	109

	Str.
Slika 30: Povprečne vrednosti razmerja v pridelku med klonoma NC-S in NC-R plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah, Vnajnarjih, Kovku, Žerjavu-Narodni dom in v Žerjavu-Matvoz.	110
Slika 31: Vsebnosti askorbinske kisline v listih plazeče detelje 'Regal' po letih v Zavodnjah, Kovku, Žerjavu-Matvoz in Žerjavu-Narodni dom.	111
Slika 32: Vsebnosti alfa tokoferola v listih plazeče detelje 'Regal' po letih v Zavodnjah, Kovku, Žerjavu-Matvoz in Žerjavu-Narodni dom.	112
Slika 33: Vsebnosti klorofila a v listih plazeče detelje 'Regal' po letih v Zavodnjah, Kovku, Žerjavu-Matvoz in Žerjavu-Narodni dom.	112
Slika 34: Povprečno razmerje med klorofiloma a in b v listih plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah, Vnajnarjih, Kovku, Žerjavu – Matvoz in Žerjavu – Narodni dom.	113
Slika 35: Povprečne temperature zraka za poskusna obdobja v letih 2002 do 2005 na merilnih mestih Graška Gora, Šoštanj, Topolšica, Velenje-center, Veliki Vrh in Zavodnje.	114
Slika 36: Povprečna relativna zračna vlaga za poskusna obdobja v letih 2002 do 2005 na merilnih mestih Graška Gora, Šoštanj, Topolšica, Velenje-center, Veliki Vrh in Zavodnje.	115
Slika 37: Povprečna koncentracija žveplovega dioksida za poskusna obdobja v letih 2002 do 2005 na merilnih mestih Graška Gora, Šoštanj, Topolšica, Velenje-center, Veliki Vrh in Zavodnje.	115
Slika 38: Povprečne koncentracije ozona za poskusna obdobja v letih 2002 do 2005 na merilnih mestih Velenje-center in Zavodnje.	116
Slika 39: Povprečne koncentracije ozona za vsa poskusna obdobja od 1. do 8. popisa na merilnih mestih Velenje-center in Zavodnje.	116
Slika 40: Primerjava povprečnih razredov poškodovanosti plazeče detelje 'Milka' med leti (Razredi poškodovanosti: 0: ni poškodb, 1: prvi simptomi, 2: 1–5 % listov s poškodbami, 3: 5–25 %, 4: 25–50 %, 5: 50–90 %, 6: nad 90 % poškodovanih listov).	118
Slika 41: Primerjava povprečnih razredov poškodovanosti plazeče detelje 'Milka' med popisi (Razredi poškodovanosti: 0: ni poškodb, 1: prvi simptomi, 2: 1-5 % listov s poškodbami, 3: 5-25 %, 4: 25-50 %, 5: 50-90 %, 6: nad 90 % poškodovanih listov).	118
Slika 42: Primerjava povprečnih razredov poškodovanosti plazeče detelje 'Milka' med poskusnimi mesti (Razredi poškodovanosti: 0: ni poškodb, 1: prvi simptomi, 2: 1-5 % listov s poškodbami, 3: 5-25 %, 4: 25-50 %, 5: 50-90 %, 6: nad 90 % poškodovanih listov).	119

	Str.
Slika 43: Primerjava povprečnih razredov poškodovanosti plazeče detelje 'Milka' med ruralnim in urbanim delom Šaleške doline in med obdobjema pred in po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5) (Razredi poškodovanosti: 0: ni poškodb, 1: prvi simptomi, 2: 1-5 % listov s poškodbami, 3: 5-25 %, 4: 25-50 %, 5: 50-90 %, 6: nad 90 % poškodovanih listov).	119
Slika 44: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na tobaku 'Bel W ₃ ', izpostavljenem na stojalu, med leti (Razredi poškodovanosti: 0: ni poškodb, 1: prvi simptomi, 2: 1-5 % listov s poškodbami, 3: 5-25 %, 4: 25-50 %, 5: 50-90 %, 6: nad 90 % poškodovanih listov).	120
Slika 45: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na tobaku 'Bel W ₃ ', izpostavljenem na stojalu, med popisi.	121
Slika 46: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na tobaku 'Bel W ₃ ', izpostavljenem na stojalu, med poskusnimi mesti.	121
Slika 47: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na tobaku 'Bel W ₃ ', izpostavljenem na stojalu, med ruralnim in urbanim delom Šaleške doline in med obdobjema pred in po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).	122
Slika 48: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na nizkem rumenostročnem fižolu 'Berggold' med leti.	123
Slika 49: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na nizkem rumenostročnem fižolu 'Berggold' med popisi.	123
Slika 50: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na nizkem rumenostročnem fižolu 'Berggold' med poskusnimi mesti.	124
Slika 51: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na nizkem rumenostročnem fižolu 'Berggold' med ruralnim in urbanim delom Šaleške doline in med obdobjema pred in po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).	124
Slika 52: Odstotek poškodovane listne površine na posameznem listu tobaka 'Bel W ₃ ' v Šaleški dolini pri izpostavitvi v loncu.	125
Slika 53: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, pri tobaku 'Bel W ₃ ', izpostavljenem v loncu, med leti.	126
Slika 54: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, pri tobaku 'Bel W ₃ ', izpostavljenem v loncu, med popisi.	126
Slika 55: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, pri tobaku 'Bel W ₃ ', izpostavljenem v loncu, med poskusnimi mesti.	127
Slika 56: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, pri tobaku 'Bel W ₃ ', izpostavljenem v loncu, med ruralnim in urbanim delom Šaleške doline in med obdobjema pred in po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).	127

	Str.
Slika 57: Primerjava aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih tobaka 'Bel W ₃ ' na stojalu (izpostavitvev ≈ 14 dni) v letih 2002, 2003 in 2004.	128
Slika 58: Primerjava aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih tobaka 'Bel W ₃ ' na stojalu (izpostavitvev ≈ 14 dni) ob julijskem in septembrskem popisu.	128
Slika 59: Primerjava povprečne aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih rastlin (tobak 'Bel W ₃ ', plazeča detelja 'Milka', nizek rumenostročni fižol 'Berggold') med posameznimi poskusnimi mesti in kontrolo.	129
Slika 60: Primerjava aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih tobaka 'Bel W ₃ ' med ruralnim in urbanim okoljem Šaleške doline in pred ter po sanaciji emisij dušikovih oksidov iz TEŠ (rekonstrukcija kotla B5 = RKB5).	129
Slika 61: Primerjava aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih rastlin, ki so rasle na stojalu (tobak 'Bel W ₃ ', plazeča detelja 'Milka', nizek fižol rumenostročni 'Berggold') in v loncih (tobak 'Bel W ₃ ').	130
Slika 62: Primerjava aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih tobaka 'Bel W ₃ ' med izpostavitvijo na stojalu (izpostavitvev ≈ 14 dni) in v loncu (izpostavitvev od začetka do zaključka poskusov ≈ 4 mesece).	130
Slika 63: Primerjava vsebnosti alfa tokoferola, askorbinske kisline in njunega razmerja med leti 2002, 2003 in 2004 za urbano in ruralno okolje Šaleške doline.	131
Slika 64: Primerjava vsebnosti alfa tokoferola, askorbinske kisline in njunega razmerja med 9 poskusnimi mesti v Šaleški dolini.	131
Slika 65: Primerjava vsebnosti alfa tokoferola in askorbinske kisline med bioindikatorskimi vrstami.	132
Slika 66: Primerjava razmerja med askorbinsko kislino in alfa tokoferolom med bioindikatorskimi vrstami.	132
Slika 67: Povprečne vsebnosti askorbinske kisline, alfa tokoferola in povprečna razmerja med askorbinsko kislino in alfa tokoferolom ob 3., 6. in 7. popisu.	133
Slika 68: Vsebnosti alfa tokoferola v listih plazeče detelje 'Milka', tobaka 'Bel W ₃ ' (izpostavitvev na stojalu in v loncu) in nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' pred in po rekonstrukciji kotla B5 v TEŠ v ruralnem in urbanem delu Šaleške doline.	134
Slika 69: Vsebnosti askorbinske kisline v listih plazeče detelje 'Milka', tobaka 'Bel W ₃ ' (izpostavitvev na stojalu in v loncu) in nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' pred in po rekonstrukciji kotla B5 v TEŠ v ruralnem in urbanem delu Šaleške doline.	135
Slika 70: Primerjava vsebnosti klorofila a, klorofila b, vsote klorofilov in razmerja med klorofiloma a in b v listih med različnimi vrstami bioindikatorskih rastlin.	136

	Str.
Slika 71: Primerjava vsebnosti luteina, zeksantina, vsote ksantofilov in razmerja med ksantofili in klorofili v listih med različnimi vrstami bioindikatorskih rastlin.	137
Slika 72: Vsebnosti klorofila a v listih plazeče detelje 'Milka', tobaka 'Bel W ₃ ' (izpostavitev na stojalu in v loncu) in nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' v letih 2004 in 2005 v ruralnem in urbanem okolju Šaleške doline.	138
Slika 73: Razmerje med klorofiloma a in b v listih plazeče detelje 'Milka', tobaka 'Bel W ₃ ' (izpostavitev na stojalu in v loncu) in nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' v letih 2004 in 2005 v Šaleški dolini.	138
Slika 74: Razmerje med klorofiloma in ksantofiloma v listih plazeče detelje 'Milka', tobaka 'Bel W ₃ ' (izpostavitev na stojalu in v loncu) in nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' v letih 2004 in 2005 v Šaleški dolini.	139

KAZALO PRILOG

- Priloga A:** Ocenjevalni katalog ozonskih poškodb na listih tobaka sorte 'Bel W₃' (% - ocena deleža poškodovane listne površine.
- Priloga B:** Obrazci za beleženje ozonskih poškodb na listih tobaka 'Bel W₃', plazeče detelje 'Milka' in nizkega fižola 'Berggold' izpostavljenih na stojalih ter za beleženje poškodb na listih tobaka 'Bel W₃' izpostavljenega v vkopanih loncih.

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ANOVA	enostavna analiza variance (<i>One way analysis of variance</i>)
AOT40	vsota urnih koncentracij ozona (v ppb) nad pragom 40 ppb
AOT40 _{GSS>50W/m²}	vsota urnih koncentracij ozona (v ppb) nad pragom 40 ppb, ko je globalno sončno obsevanje nad 50 W/m ²
CAT	katalaza
CLRTAP	Konvencija o prekomejnem onesnaževanju zraka na velike razdalje (<i>Convention on Long-range Transboundary Air Pollution</i>)
EDU	etilendiurea (<i>ethylene diurea</i>)
EIMV	Elektroinštitut Milan Vidmar, Ljubljana
EC	Organizacija za ekonomsko sodelovanje in razvoj (<i>Organisation for Economic Cooperation and Development</i>)
EU	Evropska unija
EuroBionet	mednarodni program za ocenjevanje kakovosti zraka z uporabo bioindikatorskih rastlin (<i>European network for the assessment of air quality by the use of bioindicator plants</i>).
FACE	sistem poskusov na prostem s CO ₂ zaplinjevanjem (<i>Free-air CO₂ Enrichment</i>)
H ₂ O	voda (H ₂ O zalivano plazečo deteljo sorte 'Menna' smo zalivali samo z vodo)
HOS	hlapljive organske spojine (<i>Volatile Organic Compounds = VOCs</i>)
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti ali tekočinska kromatografija pri visokih pritiskih (<i>High Performance Liquid Chromatography</i> ali <i>High Pressure Liquid Chromatography</i>)
ICP Vegetation	mednarodni program za vplive zračnih onesnažil in drugih stresov na kmetijske in druge ne-lesnate rastline (<i>International Cooperative Programme on Effect of Air Pollution and Other Stresses on Crops and Non-Wood Plants</i>)
konc.	koncentracija
LSD test	test najmanjših statistično značilnih razlik za preskuse mnogoterih primerjav (<i>Multiple range least significant difference test</i>)
Me	mediana
mg/g SS	miligram na gram suhe snovi
N oz. n	velikost vzorca
NRDP	naprava za razžveplanje dimnih plinov
n.v.	nadmorska višina
NC-R klon	na ozon odporen klon plazeče detelje 'Regal'.
NC-S klon	na ozon občutljiv klon plazeče detelje 'Regal'.

NO	dušikov oksid
NO ₂	dušikov dioksid
NO _x	dušikovi oksidi (NO+NO ₂ =NO _x)
O ₃	ozon
OAF	zaplinjevanje rastlin na prostem (<i>Open Air Fumigation</i>)
OTC	poskusna komora brez pokrova (<i>Open Top Chamber</i>)
p	statistično tveganje (<i>significant level</i>)
PLL	od ozona poškodovani listi na lonec (%)
PLPL	od ozona poškodovana listna površina na lonec (%)
PLR	od ozona poškodovani listi na rastlino (%)
pošk.	poškodba
ppb	delcev na milijardo (<i>part per billion</i>)
ppb.h	delcev na milijardo v uri (<i>part per billion in hour</i>)
ppm	delcev na milijon (<i>part per million</i>)
PS-I	fotosistem I
PS-II	fotosistem II
RKB5	rekonstrukcija kotla B5 v Termoelektrarni Šoštanj
ROS	reaktivni prosti radikali (<i>reactive oxygen species</i>)
RV	relativna zračna vlaga (%)
SO ₂	žveplov dioksid
SOD	superoksid dizmutaza
SP	stopnje prostosti
SS	suha snov
Std.	Standardn -i, -o, -a (Std. napaka, Std. odklon)
TEŠ	Termoelektrarna Šoštanj
TET	Termoelektrarna Trbovlje
TETOL	Termoelektrarna-toplarna Ljubljana
MOL	Mestna občina Ljubljana
TPP	termoelektrarna (<i>Thermal Power Plant</i>)
UNECE	Ekonomska komisija združenih narodov za Evropo (<i>United Nations Economic Commission for Europe</i>)
vzor.	vzorčenje
WMO	Svetovna meteorološka organizacija (<i>World Meteorological Organization</i>)
GAW	program meritev onesnaženosti zraka v predelih daleč od virov onesnaženja, ki ga izvaja svetovna meteorološka organizacija (<i>Global Atmospheric Watch</i>)
VDI	Društvo nemških inženirjev (<i>Verein Deutscher Ingenieure</i>)

1 UVOD

Rezultati meritev onesnaženosti zraka ne omogočajo neposrednih (direktnih) zaključkov o vplivih izmerjenih koncentracij zračnih onesnažil na živeče organizme. Možen vpliv ni odvisen samo od doze onesnažila, ampak na to vplivajo številni drugi dejavniki, kot je klima, hranila, predispozicija, starost, sočasen vpliv drugih onesnažil, itd. V tem pogledu dobi uporaba bioindikatorjev ustrezno vlogo pri ugotavljanju učinkov zračnih onesnažil. Sistematično zbiranje podatkov v povezavi doze onesnažila z učinki na organizmih daje možnost postavitve registra vplivov (popis dovzetnosti na zračna onesnažila). Inventarizacija vplivov je poleg emisijskih in imisijskih meritev zračnih onesnažil lahko tretji informacijski sistem v kontroli onesnaženosti zraka. Uporaba bioindikatorjev ni nadomestek za fizikalno-kemične metode meritev koncentracij zračnih onesnažil, ampak daje dodatne informacije o učinkih zračnih onesnažil na organizme. Ocena kvalitete zraka z uporabo bioindikatorskih rastlin je utemeljena z naslednjo definicijo: bioindikatorji so organizmi ali združbe organizmov, ki reagirajo na okoljske vplive s spremembami v svojih vitalnih funkcijah in/ali s spremembami v svoji kemični sestavi in prav to nam daje možnost, da lahko naredimo zaključke o stanju v njihovem okolju (Schubert, 1985; Arndt in sod., 1987). Večina stresorjev (zračna onesnažila, težke kovine, herbicidi, suša...) povzroča v rastlinah nastanek oksidantov, zato govorimo o oksidativnem stresu. Stres je reakcija živega organizma na dražljaje iz okolja, ki so izven zanj optimalnih vrednosti (Stress responses in ..., 1990).

Danes sodobne metode bioindikacije sprememb v okolju temeljijo na stresni fiziologiji rastlin oz. organizmov. Rastline so izpostavljene dnevnim in sezonskim spremembam v okolju in odražajo v svojem razvoju širok spekter odzivov in biokemijskih adaptacij na stresne razmere. Čeprav vemo, da se kisikovi radikali konstantno tvorijo v vseh delih celic kot stranski produkt normalnega celičnega metabolizma je preživetje celic odvisno od zadostne zaščite pred njimi. Vse aerobne oblike življenja imajo večnivojske obrambne mehanizme, ki vključujejo dve vrsti zaščite, ti sta encimska in neencimska antioksidativna zaščita. Taka mnogoterost je zahtevana zaradi reaktivnih oblik kisika (ROS), ki nastajajo v različnih celičnih in ekstracelularnih delih, in ker se ROS razlikujejo v difuzijskih in topnostnih lastnostih ter v nagnjenosti k reakcijam z različnimi organskimi molekulami (Perl-Treves in Perl, 2002).

Ali je rastlina v stresu, lahko odgovorimo le, če primerjamo dano situacijo z običajnim stanjem rastline. Zato so se v svetu razvile različne izpostavitvene tehnike oziroma poskusne metode (Saxe, 1991), najboljši približek dejanskim razmeram pa je izpostavitvev rastlin na prostem z neprekinjenim spremljanjem okoljskih spremenljivk (Bortier in sod., 1999).

V zadnjih 10-tih letih je bil v Sloveniji dosežen napredek v zmanjšanju emisij zračnih onesnažil zlasti pri proizvajalcih električne energije iz fosilnih goriv. Promet in transportna dejavnost pa sta vedno pomembnejša nosilca odgovornosti pri onesnaževanju zraka s primarnimi in sekundarnimi onesnažili. Ozon je zračno onesnažilo, ki nastaja sekundarno iz primarnih zračnih onesnažil in je njegov kraj pojava pogostokrat različen od območja virov njegovih predhodnikov. Med merjenimi zračnimi onesnažili (dušikovi oksidi, žveplov dioksid, ozon) ima ozon najmočnejše oksidacijske sposobnosti, zato pri

organizmih hitreje povzroča stanje oksidativnega stresa kot druga onesnažila. Fizikalno-kemijske meritve ozona kažejo velike koncentracije ozona na ruralnih območjih v Sloveniji. Velike koncentracije ozona so pogoste v poletnih mesecih, ravno v času ko sta rast in razvoj vegetacije največji. Ozon ima škodljiv vpliv na zdravje ljudi, živali in rastlin in postaja eden izmed glavnih problemov onesnaženega zraka na lokalni, regionalni, državni in mednarodni ravni.

Ozon prehaja skozi listne reže v rastline enako kot CO₂, ki ga rastline porabljajo v procesu fotosinteze. Na ozon občutljivejših vrstah, sortah ali biotipih kmetijskih rastlin so mnogi ameriški znanstveniki že zgodaj dokazali, da vpliva tudi na zmanjšanje pridelka (Musselman in McCool, 1987; Hansen, 1990).

Vsebinsko se del disertacije vključuje v mednarodni program ICP Vegetation, ki deluje pod okriljem UN/ECE CLRTAP konvencije. Drugi del naloge je bil izdelan po metodologiji, ki je bila uporabljena v mednarodnem LIFE projektu, imenovanem EuroBionet.

Namen disertacije je bil ugotoviti uporabnost odzivne bioindikacije s kmetijskimi rastlinami v primerjavi s fizikalno-kemijskimi meritvami onesnaženosti zraka. Za bioindikacijo ozona in drugih onesnažil smo uporabili različne kazalnike na različnih ravneh, na ravni pridelka rastlin, vizualnih poškodb na listih in biokemijsko-fiziološki ravni z meritvami encimske in neencimske antioksidativne zaščite celic. Med pomembnejšimi neencimskimi antioksidanti smo v listih preučevanih rastlin (bioindikatorji) merili vsebnosti askorbinske kisline, alfa tokoferola in pigmente (klorofil a in b, lutein, zeaksantin, alfa in beta karoten). Merili smo aktivnost encima za detoksifikacijo superoksidnih radikalov, to je superoksid dizmutazo. Ugotovili smo kateri izmed testiranih biokemijskih kazalnikov stresa so učinkovitejši za opredelitev problema negativnih učinkov ozona in drugih zračnih onesnažil na rastline v ekološko bolj obremenjenih okoljih v Sloveniji. Namen je bil spremljati odzive rastlin na oksidativen stres zaradi zračnih onesnažil v urbanem in ruralnem okolju Šaleške doline, saj je za obe okolji značilen različen dnevni hod koncentracij ozona in dušikovih oksidov.

Cilj raziskovalnega dela je bil določiti učinkovitost sanacijskih ukrepov za zmanjšanje emisij iz termoenergetskih objektov na osnovi odziva bioindikatorskih rastlin, prvič s poudarkom tudi na komercialno zanimivih sortah nizkega fižola in plazeče detelje pri nas.

Osnovna hipoteza raziskovalnega dela je, da se bodo negativni učinki ozona in drugih zračnih onesnažil, ki so povzročitelji oksidativnega stresa pri rastlinah, po zmanjšanju emisij onesnažil iz TEŠ zmanjšali. V letih od 2002 do 2003 smo ugotavljali stanje rastlin pred, v letih 2004 in 2005 pa stanje po sanaciji emisij NO_x v TEŠ. Pred 2001 smo ugotavljali tudi stanje rastlin pred sanacijo SO₂ emisij iz TEŠ. Predpostavili smo, da se bodo po sanaciji SO₂ in NO_x pozitivni odzivi rastlin razlikovali med poskusnimi mesti. Za poskusna mesta v ruralnem okolju smo pričakovali večje deleže poškodovane listne površine od ozona in manjši pridelek kot na mestih v urbanem okolju. Ocenili smo primernost dveh vrst rastlin, ki sta z vidika kmetijske pridelave pri nas tržno pomembni, za uporabo v namene odzivne bioindikacije. Z uporabljenimi biokemijskimi parametri smo določili razlike v tolerantnosti vrste izbranih rastlin (plazeča detelje, nizek fižol, tobak) na ozon. Prvič v Sloveniji smo uporabili merjenje odziva rastlin na onesnažila na osnovi

antioksidativne aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih. Pričakovali smo povečano aktivnost encima superoksid dizmutaze v listih tistih rastlin, ki so bolj izpostavljene ozonu in zračnim onesnažilom zaradi mesta poskusa ali obravnavanega časovnega obdobja. V odvisnosti od vrste rastline, obdobja izpostavitve zunanjim dejavnikom okolja ter poskusnega mesta smo ugotavljali biokemijski odziv rastlin na ozon tudi na ravni neencimske antioksidativne zaščite rastlin, to je vsebnost alfa tokoferola in askorbinske kisline. Predpostavljali smo, da se bodo vitalnejše rastline (večja vsebnost fotosinteznih pigmentov) na oksidativen stres, povzročen z zračnimi onesnažili, uspešnejše odzvale, tako da bodo tvorile več antioksidantov.

2 PREGLED OBJAV

2.1 SESTAVA IN KVALITETA ZUNANJEGA ZRAKA

Atmosfera je plinski ovoj, ki obdaja naš planet. Njegove sestavine in povprečne vrednosti v volumskih odstotkih so prikazane v preglednici 1.

Preglednica 1: Sestava zraka (skupna količina 5×10^{15} t) (Stanners in Bourdeau, 1995; Blasing in Jones, 2003).

Table 1: Composition of air (total amount 5×10^{15} t) (Stanners and Bourdeau, 1995; Blasing and Jones, 2003).

④ ③ Sestavine atmosfere	Povprečna vrednost (volumski %)	Povprečni čas razpada	③ Smer sprememb (v % na leto)	④ Toplogredni učinek (W/m^2) ^②
③ Dušik (N_2)	78,09	-		
③ Kisik (O_2)	20,95	-		
③ Argon (Ar)	0,93	-		
③ Vodni hlapi (H_2O)	0-3	8-10 dni		
④ Ogljikov dioksid (CO_2)	372,3 ppm	5-200 let	+0,4	1,46
③ ④ Metan (CH_4)	$0,17 \times 10^{-3}$ ③ 1843/1729 ppb ① ④	7-10 let ③ 12 let ④	+1 (zmanjševanje na +0,6)	0,48
③ Vodik (H_2)	$0,06 \times 10^{-3}$	-	+0,6	
③ Dušikov dioksid (NO_2)	$0,033 \times 10^{-3}$	130 let	+0,3	
④ Didušikov oksid (N_2O)	317/316 ppb ①	114 let		0,15
③ Ogljikov monoksid (CO)	$4-20 \times 10^{-6}$	0,4 leta	+1-2	
③ ④ Ozon (O_3), troposferski	$1-10 \times 10^{-6}$ ③ 34 ppb ④	nekaj tednov do mesecev ③ od nekaj ur do tednov ④	+1,5	0,35
③ Ozon (O_3), stratosferski	$1-5 \times 10^{-5}$	nekaj mesecev	-0,5	
③ Amoniak (NH_3)	$1-100 \times 10^{-8}$	3 dni		
③ Žveplov dioksid (SO_2)	$1-500 \times 10^{-7}$	3 dni		
③ Dušikovi oksidi (NO_x)	$1-5000 \times 10^{-8}$	3 dni		
④ Freoni: CFC-11 CFC-12 CFC-113	260/257 ppt ① 547/540 ppt ① 81/81 ppt ①	45 let 100 let 85 let	+5-10	0,34
③ Peroksiacetil nitrati (PAN)	$1-50 \times 10^{-7}$			
③ Hlapni ogljikovodiki (HOS)	$1-10 \times 10^{-5}$			

Legenda:

① - Prva številka predstavlja vrednost za srednjo zemljepisno širino severne hemisfere (Mace Head, Irska) in druga številka predstavlja vrednost za srednjo zemljepisno širino južne hemisfere (Cape Grim, Tasmanija).

② - Povečevanje toplogrednega učinka posameznega plina ali skupine plinov je sprememba v razmerju med sedanjim stanjem in stanjem iz leta 1750. V tem obdobju se je zaradi naraščajočih koncentracije enega toplogrednega plina ali skupine plinov ustvarila dodatna gostota energijskega toka (povečanje toplogrednega učinka – enota je W/m^2), ki je razpoložljiv v sistemu zemeljske atmosfere.

③ - Vir: Stanners in Bourdeau, 1995.

④ - Vir: Blasing in Jones, 2003.

ppt – part per trilijon, ppb – part per bilijon.

Večji del mase celotne atmosfere je v troposferi, ki sega od tal do višine 9 km nad poloma in 17 km nad ekvatorjem. Del troposfere je tudi tako imenovana prizemna plast zraka, ki je debela nekaj 10 m in je za številne organizme, ki živijo v njej, še posebno pomembna. Ta plast se razlikuje od drugega dela troposfere po tem, da se na majhne razdalje močno spreminjajo vrednosti meteoroloških spremenljivk in zračnih primesi. Spremembe so v tej plasti tudi nekaj stokrat večje kot višje v troposferi. To velja zlasti za temperaturo, vlago in količino primesi (Hočevnar in Petkovšek, 1988). Čist zrak je ena izmed vrednot, ki neposredno vplivajo na zdravje ljudi, živali, rastline oziroma na stanje ekosistemov kot tudi na kvaliteto materialov. Zato je spremljanje njegove kvalitete pomembna okoljevarstvena naloga (Notar in sod., 2000).

Zrak služi kot medij za prenos onesnaženja z mesta njegovega nastanka na druga, celo zelo oddaljena mesta. Razlikujemo:

- lokalno onesnaženje (v obsegu nekaj 10 km od vira onesnaženja),
- regionalno onesnaženje (v obsegu nekaj 100 km od vira onesnaževanja),
- kontinentalno onesnaženje (v obsegu več 1000 km od vira onesnaževanja),
- globalno onesnaženje (prizadene cel planet) (Stanners in Bourdeau, 1995).

Za pline, ki so pomembni pri globalnem onesnaženju zraka, so izračunani letni trendi povečevanja oziroma zmanjševanja koncentracij in njihov vpliv na globalno segrevanje zemeljskega ozračja (preglednica 1).

Dolgo časa je veljalo prepričanje, da se koncentracije onesnažil v zraku pri prehodu iz dimnikov v atmosfero razredčijo na zanemarljivo majhne vrednosti. Meritve zadnjih 20 - 30 let so to trditev ovrgle (Notar in sod., 2000).

Vzroki za to so (Stanners in Bourdeau, 1995):

1. Vsa troposfera ni sposobna razredčiti izpuščenih onesnažil. V nižji plasti atmosfere je največ izpustov v mešalnem pasu – turbolentnem delu atmosfere. Njegova višina se spreminja glede na vremenske razmere in je od 100 m do 1000 m. Zračna onesnažila se iz tega pasu v nekaj urah razširijo na večjo prostornino zraka, nekateri pa lahko zaidejo tudi v višje dele troposfere. Če je turbolenca mešalne plasti majhna, se onesnažila zgostijo na manjšem območju in tako povzročijo velike koncentracije zračnega onesnaženja – smog. Smog se pojavlja ob zelo šibkih vetrovih hkrati s temperaturno inverzijo. V troposferi temperatura zraka z višino pada, za inverzijsko plast (od 100 do 300 m nad tlemi) pa je značilen začasen dvig temperature z višino. Prav tako je za omenjeno plast značilna slaba prevetrenost in počasnost mešanja zraka.
2. Emitirana onesnažila se v atmosferi razpršijo, mešajo, transportirajo in sodelujejo v različnih kemičnih reakcijah z drugimi naravnimi sestavinami atmosfere. Nastala mešanica se vrne na zemeljsko površino in škodljivo vpliva na živo in neživo okolje.
3. Snovi se različno dolgo zadržujejo v atmosferi (preglednica 1), kar je odvisno od njihove obstojnosti, hitrosti usedanja in vremenskih razmer. Če se zadržijo v atmosferi do 30 dni, se z vertikalnim mešanjem razpršijo po vsej troposferi. V primeru, da je njihova obstojnost daljša (med 6 in 12 mesecev), potujejo z zračnimi tokovi in lahko preidejo iz severne na južno poloblo in obratno. Še bolj obstojne snovi, ki se v atmosferi zadržujejo več kot leto dni, pa preidejo v višje plasti, iz troposfere v stratosfero.

Onesnaževalci z emisijami zračnih onesnažil ne vplivajo na kvaliteto zraka le na lokalni ravni, ampak se to onesnaženje lahko širi preko državnih meja. Onesnažen zrak je zato skrb širše mednarodne skupnosti in ena glavnih smernic UN/ECE za zaščito svetovnega okolja je uresničevanje CLRTAP konvencije in med podpisnicami je tudi Slovenija.

Večja mesta se spoprijemajo z negativnimi vplivi onesnaženega zraka, ki se kaže v pojavih (Stanners in Bourdeau, 1995; Notar in sod., 2000):

- zimskega smoga med kurilno sezono s preseženimi vrednostmi žveplovega dioksida in lebdečih delcev,
- poletnega smoga zaradi ozona, ki neposredno nastaja zaradi emisij dušikovih oksidov in hlapnih ogljikovodikov ob močnem sončnem sevanju,
- preseženih mejnih koncentracij onesnažil žveplovega dioksida, lebdečih delcev, benzena, benzenopirena, svinca in drugih.

Zaradi naraščajočega prometa naraščajo emisije dušikovih oksidov in ogljikovodikov. To so spojine, ki so vključene v različne fotokemične reakcije v atmosferi, katerih rezultat je ozon in cela skupina organskih spojin. S skupnim imenom pravimo tako nastalim zračnim onesnažilom fotooksidanti. Za ozon je izračunan 1,5 % letni trend naraščanja koncentracij (preglednica 1). Med fotooksidante štejemo tudi peroksiacetyl nitrat (PAN), dušikov dioksid, vodikov peroksid, dušikovo in dušikasto kislino ter mravljično kislino. Koncentracije teh oksidantov hkrati naraščajo in usihajo, zato navadno poročajo le o koncentraciji ozona kot indikatorju skupne količine oksidantov (Likar, 1998). Tako kot v drugih evropskih državah tudi v Sloveniji postaja stanje onesnaženosti zraka v poletni sezoni (poletni smog) vse večji problem (Planinšek, 2003; Planinšek, 2007).

Ozon nastane, če reagira atomarni kisik z molekularnim kisikom, torej tudi pri vsakem procesu, pri katerem nastanejo iz molekul kisika deloma atomi kisika. Tvorbena entalpija je pozitivna, kljub temu da je reakcija med molekularnim in atomarnim kisikom eksotermna (Lazarini in Brenčič, 2004). Zaradi endotermne reakcije je potrebno sintetizirati ozon pri čim nižji temperaturi. Najprimernejša je metoda pridobivanja ozona iz kisika v električnem polju (ozonizator). S to metodo je mogoče pretvoriti do 15 prostorninskih odstotkov kisika v ozon.

Ime ozon izhaja iz grške besede ozein, kar pomeni dišati. Ozon ima značilen vonj, ki ga je mogoče zaznati že pri razredčenju z zrakom v prostorninskem razmerju 1:500000 (Leksikon Cankarjeve založbe, 1985). Vrelišče ozona je $-110,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ in tališče pa $-192,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Čist plinast ozon je modre barve, tekoči ozon je modrovijoličen, trdni ozon je črn. Ozon močno absorbira sončno sevanje od 210 do 290 nm, medtem ko O_2 absorbira pri $\leq 200\text{ nm}$. Ker razpada ozon na atomarni in molekularni kisik, je zelo močan oksidant, močnejši od molekularnega kisika (Lazarini in Brenčič, 2004). Pri sobni temperaturi oksidira mnoge organske snovi. Ozon se uporablja v glavnem za razkuževanje in dezodoriranje ozračja v zaprtih prostorih in za razkuževanje vode (Lazarini in Brenčič, 2004).

Ozon je sestavni del troposfere in stratosfere (Krupa in Manning, 1988; preglednica 2). V vertikalnem stolpcu atmosfere je ozon razporejen približno takole: 0 - 10 km (troposfera) je 10 %, 10 - 35 km 80 % in nad 35 km je 10 % ozona (Cicerone, 1987). V stratosferi je torej 90 % ozona. Ozon iz stratosfere lahko prehaja tudi v troposfero ali pa v troposferi le ta nastaja sekundarno iz primarnih zračnih onesnažil.

Preglednica 2: Primerjava stratosferskega in troposferskega ozona (Lazarini in Brenčič, 2004; Calvet, 1994; Boutron, 1994; Blasing in Jones, 2003).

Table 2: Comparison of stratospheric and tropospheric ozone (Lazarini and Brenčič, 2004; Calvet, 1994; Boutron, 1994; Blasing and Jones, 2003).

	Stratosferski ozon	Troposferski ozon
Lastnosti	»Dober« ali nujno potreben, koristen. Ščiti površino Zemlje pred UV _b in UV _c žarki.	»Slab« ali škodljiv. Oksidira organske molekule.
Reakcije	Razgradnja ozona v stratosferi: $O_3 + X \rightarrow O_2 + XO$ $XO + O \rightarrow O_2 + X$ (X = NO, HO, Cl, Br)	Tvorba ozona v troposferi: $NO_2 \rightarrow NO + O$ $O + O_2 + M \rightarrow O_3 + M$ (M = N ₂ , O ₂ , ...)
Valovna dolžina sončnega sevanja	Sevanje, ki je potrebno za razgradnjo ozona: UV _c ($\lambda < 290$ nm, največja energija) in UV _b sevanje ($\lambda = 290-320$ nm, srednja energija)	Sevanje potrebno za nastanek ozona v prizemni plasti: UV _a ($\lambda = 320 - 400$ nm, najmanjša energija)
Višina nahajanja (km)	9-17 do 100 km (20-27 km največja koncentracija O ₃)	od 0 do 9-17 km
Količina ozona	90 % (200-500 DU)	10 %
Enota za merjenje količine ozona	DU (dobsonova enota)	$\mu\text{g}/\text{m}^3$, ppb, ppm,
Merilnik	Dobsonov spektrofotometer	V Sloveniji uporabljajo merilnike tipa ML Ozone Analyzer Model 9841 in 8841 API 200.
Metoda merjenja	Meritve totalnega ozona s sateliti in z baloni, vertikalno porazdelitev ozona z raketnimi sondami in sateliti.	Kalijeva jodidna metoda (Brewer in Milford, 1960). Kontinuirano merjenje z UV absorbcijo (245 nm).
Predhodniki, ki so potrebni za opisane reakcije	CFCl ₃ (CFC-11), CF ₂ Cl ₂ (CFC-12), CCl ₄ (tetraklorometan), CH ₃ CCl ₃ (metilkloroform) ... Ocenjujejo, da en atom Cl razgradi 100.000 molekul O ₃ .	NO ₂ , NO, HOS (lahkohlapne organske spojine), CO, CH ₄ , NMHC (nemetanski ogljikovodiki).
Vplivi na žive organizme	Naraščanje UV _b sevanje ogroža gozdove, travne površine, fitoplankton, pri živalih ruši imunski sistem (alergije), pri ljudeh povzroča kožnega raka, opekline, poškoduje gensko snov (dedno informacijo). Naraščanje UV _b sevanja povečuje razgradnjo ozona v troposferi.	<i>Ljudje:</i> naraščanje astmatičnih in bronhialnih obolenj, vnetje oči, nosne sluznice in sluznice ostalih dihalnih organov, glavobol, neugodno počutje. <i>Rastlinstvo:</i> poškodbe listnega tkiva, zmanjšanje pridelka poljščin...
Trend ozona	- 0,5% letno	+ 1,5% letno
Toplogredni učinek	Halogenski ogljiki prispevajo 0,34 W/m ² .	Troposferski ozon prispeva 0,35 W/m ² .
Mednarodna politika omejevanja	Montrealski (1987), Londonski (1990), Kopenhagenski (1992) protokol.	Genevska konvencija (CLRTAP konvencija) (1979), Goeteborški protokol (1999).

Stratosferski ozon preprečuje prehod ultravijoličnih žarkov sonca do zemeljskega površja in tako ščiti življenje na zemlji. V zadnjih letih prihaja do razgradnje stratosferske plasti ozona zaradi klorofluorogljikovodikov (CFC). Rezultat tega je občasno pojavljanje ozonske luknje nad Antarktiko in še kje (Innes in sod., 2001).

V literaturi najdemo različno izrazoslovje za ozon v troposferi. Tako se srečamo z izrazi kot so nevarni ozon, škodljivi ozon, troposferski ozon, prizemni ozon in v uradnih slovenskih dokumentih tudi ozon v zunanem zraku. Vsi ti izrazi pomenijo isto.

Mnenja med avtorji, kakšno je ozadje koncentracij ozona v prizemni plasti troposfere, so deljena. Innes in sod. (2001) trdi, da je ozadje med 20 in 40 ppb odvisno od letnega časa, Krupa in Manning (1988) poročata, da so značilne povprečne urne koncentracije med 20 – 60 ppb, Singh in sod. (1978) pa 30 ppb. Logan (1985) ocenjuje približno 20 – 30 % zmanjšanje stratosferske plasti ozona severne hemisfere, kar bi se lahko kompenziralo s trendi naraščanja ozona v troposferi v tej geografski regiji. Naraščanje »slabega« ozona v troposferi in tanjšanje ozonske plasti v stratosferi predstavlja svojevrstno paradigmo (preglednica 2).

Koncentracije prizemnega ozona so se v Evropi v zadnjih 100 letih podvojile. Pleijel (2000) ugotavlja, da so zaradi klimatskih lastnosti območja južne Evrope posebej ugodna za tvorbo ozona in zato se največje ozonske epizode dogajajo ravno v teh delih Evrope. Evropske emisije prispevajo od 10 do 20 % k večanju koncentracije troposferskega ozona na severni polobli (Burja, 1996). Obstajajo naravni in antropogeni viri predhodnikov ozona (NO, NMHC, HOS in CO) (Boutron, 1994). Naravni viri NO so emisije iz tal, udari strel, prehajanje iz stratosfere, kjer nastaja z oksidacijo N₂O. Poglavitni viri antropogenih predhodnikov ozona so avtomobilski izpuhi, bencinske črpalke, elektrarne, čistilnice, trgovine z barvili in topili, kemične tovarne, rafinerije nafte in podjetja, ki uporabljajo velike količine topil (Likar, 1998), letalski promet (Boutron, 1994). Dušikov oksid oddajajo zlasti avtomobili (39 %), tovarne in elektrarne, kjer izgorevajo fosilna goriva (32 %) (Likar, 1998). V Sloveniji 60 % predhodnikov ozona izvira iz prometa in distribucije fosilnih goriv (pretakanje in transport goriv), za 40 % pa so krivi energetika, kemična industrija in v manjši meri še nekateri drugi viri (Planinšek, 2003).

Na koncentracije ozona vpliva razmerje koncentracij predhodnikov antropogenega izvora, intenziteta sončnega sevanja in višina dnevne temperature. Meteorološke spremenljivke, ki so tesno povezane z velikimi koncentracijami ozona čez dan, so (Heggstad in Bennet, 1984):

- okoliške temperature v območju od 25-35 °C,
- velika jakost globalnega sončnega obsevanja,
- majhna relativna zračna vlaga z nič ali malo padavin,
- stabilna atmosfera brez ali z zmernim vetričem (0-15 km/h).

Neprekinjena obdobja velikih koncentracij ozona so povezana tudi s prisotnostjo visokega zračnega tlaka. Največje vrednosti ozona so izmerjene v zadnjem delu premikajočega se anticiklona, najmanjše pa v njegovem centru. V spodnjem delu anticiklona se zračne gmote zadržujejo krajši čas, posledica tega je manjša koncentracija ozona v tem delu anticiklona. Ko se območje visokega zračnega tlaka zadržuje nad urbanim območjem, pride do injekcije predhodnikov ozona v zadnji del anticiklona, kjer se zračne gmote zadržujejo dlje časa. To zagotavlja ugodne razmere za fotokemični nastanek ozona ob anticiklonskem obdobju (Vukovich in sod., 1977).

Na kvaliteto zraka v alpskih predelih odločilno vplivata dva dejavnika, to je lokalna emisija predhodnikov ozona in transport onesnaženih zračnih mas iz sosednjih območij (Kelly in sod., 1984). Ob intenzivni fotokemični produkciji ozona na širšem območju v poletnih mesecih lahko pride do nastanka ozonskih epizod, ko se koncentracije ozona povečujejo iz dneva v dan. Ozonske epizode se ponavadi zaključijo s prehodom hladne fronte in pojavom padavin, ko koncentracija ozona izredno hitro pade. Orešnikova (1995) je primerjala dnevne hode ozona na Krvavcu in v Ljubljani v času ozonskih epizod in

ugotovila, da je največja povprečna polurna koncentracija ozona v Ljubljani dosežena okoli poldneva, medtem ko na Krvavcu šele pozno popoldan ali zvečer. Pojav si razlaga z višino mešanja zračnih mas prizemne plasti, ki je poleti višja kot pozimi. Plast mešanja zračnih mas doseže merilno postajo na Krvavcu. Zato na merilni postaji Krvavec občasno izmerijo povečane vrednosti ozona, del teh pa je posledica fotokemične produkcije na širšem območju Ljubljane.

V območjih z mediteranskim podnebjem (Portici, Italija) ugotavljajo za 10 dnevna obdobja veliko medsebojno odvisnost med povprečnimi 12-urnimi koncentracijami ozona in jakostjo globalnega sončnega obsevanja (GSS) ter povprečnimi temperaturami. Urne koncentracije ozona so v tesni zvezi s temperaturo in samo v nekaj primerih tudi z GSS.

Za troposferski ozon je značilen dnevni in letni hod koncentracij. Letni hod koncentracij ozona ima maksimalne vrednosti spomladi in minimalne pozimi. Ta hod je posebno izrazit v gosto naseljenih predelih. V višje ležečih krajih je letni hod ozona slabše izražen. Poleg običajnega letnega hoda, ki se pojavlja v naseljenih predelih in območjih s čistim zrakom, poznamo še neobičajen letni hod. Dnevni hod ozona ima v naseljenih območjih navadno dobro izražen maksimum, ki se pojavi v zgodnjih popoldanskih urah, minimum pa pred sončnim vzhodom (Singh in sod., 1978; Planinšek in sod., 1997).

Z netipičnim dnevnim hodom ozona označujemo tista območja, ki imajo dnevno dva maksimuma. Glavni maksimum se pojavi podobno kot v naseljenih območjih nekje v zgodnjem popoldnevu. Ima enake meteorološke, kemijske in fotokemijske osnove. Drugi maksimum se pojavi v nočnih urah, najpogosteje v drugi polovici noči in se ga ne da pojasniti s kemičnimi reakcijami. Vzrok nočnega maksimuma je vertikalni transport zraka in ima lokalni značaj. Nočno hlajenje mestnih območij s hladnim okoliškim zrakom je zelo zaželeno, vendar v primeru, če zračne mase niso onesnažene. Vertikalen transport zraka iz plasti, ki ležijo nad plastjo mešanja, lahko povzročijo nočno sekundarno povečanje koncentracij ozona. V omenjenih plasteh je ozon prisoten, ker je zaščiten pred NO – svojim porabnikom (Planinšek in sod., 1997).

Ozon in njegovi predhodniki se s pomočjo daljinskega transporta prenesejo z anticikloni na oddaljena podeželska in gorata območja (Vukovich in sod., 1977). Lahko tudi 100 km stran od mesta nastanka, saj življenjska doba ozona traja okoli 10 dni (Logan, 1985). Srednje dnevne koncentracije ozona so običajno večje na podeželju kot v mestih. Vzrok temu so majhne koncentracije dušikovega monoksida (NO), ki je porabnik ozona. Koncentracije NO ne kažejo dnevnega hoda, zato so koncentracije ozona manj izrazite kot v naseljenih območjih. Kot edini bistveni porabnik ozona nastopajo v predelih s »čistim« zrakom tla in zelene površine rastlin – listi. Avtohtona proizvodnja ozona je na teh območjih zelo majhna. Edini vir predhodnikov za ozon predstavljajo ogljikovodiki, izopreni in terpeni, ki jih izločajo rastline.

Kot primer največjega onesnaženja z ozonom pogosto navajajo Kalifornijo in obalo ob teksaškem zalivu v ZDA. Pri nas v Sloveniji, je leta 1998 Likar poročal, da so bile koncentracije ozona največje leta 1988. Kasneje je Planinšek (2007) ugotavljal, da je bilo izrazito vroče poletje z veliko sončnega sevanja leta 2003, zato to leto močno odstopa od ostalih let po onesnaženosti zraka z ozonom. V vegetacijski dobi so v Sloveniji presežene mejne imisijske koncentracije ozona na vseh merilnih mestih (Poročilo o stanju..., 1999; Notar in sod., 2000). V skladu z novejšo zakonodajo pa so vsa območja v Sloveniji v najslabšem kakovostnem razredu, saj koncentracije povsod, tudi na podeželju in v višjih

legah, presegajo ciljne vrednosti (Planinšek in sod., 2007). V povprečju so bile izmerjene največje koncentracije na področjih intenzivnejšega sončnega sevanja na Krvavcu in Jančah, ki ležijo na obrobju Ljubljanske kotline na nadmorski višini 1720 m in 790 m. Velike so tudi koncentracije na vplivnem območju termoelektrarn, v Zavodnjah in na Kovku (Ciglar in sod., 1994; Kopušar, 2003b). Koncentracije ozona so največje med 12. in 16. uro, na Primorskem in ob Obali pa med 12. do 18. uro. Podatke o onesnaženosti z ozonom je od aprila 2008 mogoče dobiti na spletnih straneh Agencije RS za okolje, kjer je poleg poročil objavljena tudi napoved koncentracij ozona za prihodnje dni.

Kemijo nastanka in razgradnje prizemnega ozona sta natančno opisala Calvet (1994) in Boutron (1994). Troposferski **ozon neposredno nastaja s fotokemično reakcijo** NO₂ kot direktnega predhodnika. NO₂ pri svetlobi valovne dolžine 320 do 430 nm disociira v dušikov oksid in nascentni kisik O(3P). Sledi reakcija atomarnega kisika (O) z molekularnim kisikom (O₂) in še tretjim udeležencem te reakcije (M), ki služi za odvod energije, v ozon. Kadar v okolici pravkar nastale molekule ozona ni substance s katero bi reagirala novo nastala molekula O₃, ta spet reagira z NO in tvori NO₂ in O₂. Takšen krogotok reakcij med dušikovimi oksidi in ozonom poteka v mestu, kjer so stalno velike koncentracije dušikovih oksidov zaradi velike gostote prometa. Temu posledično koncentracije ozona v mestih nihajo in imajo značilen dnevni hod z maksimumom v popoldanskem času in minimumom tik pred sončnim vzhodom.

Da se koncentracija ozona dvigne nad koncentracijo, ki je določena s fotostacionarnim stanjem, se mora razmerje premakniti v korist NO₂. Zato mora obstajati mehanizem konkurenčnih reakcij, da vstopa NO vanje, še preden lahko reagira z ozonom. To lastnost imajo hidroperoksi radikali (HO₂[•]) in organski peroksi radikali (RO₂[•]), ki omogočajo nastajanje novih molekul NO₂. Peroksi radikali nastanejo ob razgradnji lahkolapnih ogljikovodikov (HOS), metana (CH₄) in nemetanskih ogljikovodikov (NMHC) ter ogljikovega monoksida (CO). Neto produkcija ozona bi bila največja, ko bi vsi peroksi radikali, ki so nastali ob razpadu HOS, sodelovali pri procesu nastajanja NO₂.

Karbonili (aldehidi in ketoni) nastanejo v atmosferi pri razgradnji različnih organskih spojin in so močan vir kisikovih radikalov. Poleg fotolize pa reagirajo karbonili še z radikali (OH[•], NO₂[•], NO₃[•]), ki se nahajajo v atmosferi. Acil radikali (RCO[•]) nastanejo iz višjih aldehydov (RCHO) in lahko naprej reagirajo s kisikom, da nastane acil peroksi radikal (RC(O)O₂). Acil peroksi radikal z NO₂ tvori peroksiacil nitrat (CH₃C(O)O₂NO₂ = PAN), ki je tudi močan fotooksidant. PAN je termično nestabilen in reakcija med oksidacijo aldehydov je na strani nastajanja radikala in NO₂. Zato razpad HCHO in višjih aldehydov vodi do nastanka dodatnega ozona v prisotnosti NO_x.

Zmanjšanje oziroma **razgradnja ozona v prizemni plasti zraka** je posledica kemijskih, fotokemijskih in heterogenih reakcij.

V onesnaženih območjih so za razgradnjo O₃ najpomembnejše naslednje reakcije:



Na neonesnaženih področjih poteka reakcija:



OH[•] nosijo ključno vlogo pri transformacijah zračnih onesnažil v troposferi. Heterogene reakcije lahko izredno zmanjšajo življenjski čas ozona v atmosferi. Zmanjšanje ozona je tudi posledica raznih fizikalnih procesov: suhe depozicije na površino, adsorpcija na aerosole, raztapljanje v oblakih, dežnih kapljah itd.

2.2 TOKSIČNOST OZONA IN DRUGIH ZRAČNIH ONESNAŽIL ZA ORGANIZME JE POVEZANA Z NASTANKOM PROSTIH KISIKOVIH RADIKALOV

Prosti radikali so atomi, ioni in molekule ali njihovi deli, ki imajo na vsaj enem energijskem nivoju elektronov en sam prost elektron. Prosti radikali z lihim številom elektronov so zelo reaktivni (razpolovni čas je med milijoninko in milijardinko sekunde ali še manjši). Zelo reaktivni so tudi prosti radikali s sodim številom neparnih prostih elektronov, ki imajo nasprotne spine. Pri pisanju njihovih kemičnih simbolov proste radikale označujemo s piko desno zgoraj. V primerjavi z reaktivnimi prostimi radikali (ROS – *reactive oxygen species*) pa kemično stabilni prosti radikali kar nekaj velikostnih razredov počasneje reagirajo z drugimi molekulami, ki niso prosti radikali. Primera stabilnih prostih radikalov sta tudi molekularni kisik in dušikov dioksid (Šuput in Kamarić, 1998).

Biokemične poškodbe povzročajo reaktivne kisikove zvrsti. To so poleg reaktivnih molekularnih oblik kisika še drugi prosti radikali s kisikom v svoji strukturi in kisikove spojine, ki niso prosti radikali, vendar pri svojih reakcijah proizvajajo proste radikale (preglednica 3). Med reaktivnimi spojinami samega kisika so najpomembnejši atmosferski kisik O₂[•], kisikov singlet – radikal O₂[•], superoksidni anion O₂^{•-} ter kisikov singlet ¹O₂ in peroksidni ion O₂^{•-}. Po reaktivnosti si sledijo v naslednjem zaporedju: atmosferski kisik O₂[•] < singlet kisik ¹O₂ < superoksidni anion – radikal O₂^{•-} < peroksidni ion O₂^{•-} < singlet kisik (radikal) O₂[•].

Na prvi pogled so si te molekule kisika zelo podobne, vendar je velika razlika, če si podrobneje ogledamo zasedenost njihovih zadnjih dveh elektronskih orbital (preglednica 4). Hidroksilni radikal (OH[•]) in singlet kisik (¹O₂) sta najbolj toksični reaktivni obliki kisika (Pardini, 1995). Pri učinkih prostih radikalov in drugih reaktivnih spojin velja pravilo, da imajo bolj reaktivne spojine navadno intenzivnejše učinke, vendar lokalno na kraju delovanja, medtem ko imajo manj reaktivne spojine večji radij delovanja, kar pa je seveda odvisno tudi od morebitnih difuzijskih preprek (Šuput in Kamarić, 1998).

Preglednica 3: Nekateri reaktivni kisikovi prosti radikali in reaktivne kisikove spojine, ki niso prosti radikali (Šuput in Kamarić, 1998; Pardini, 1995).

Table 3: Some reactive oxygenic free radicals and reactive oxygen compounds, which are not free radicals (Šuput and Kamarić, 1998; Pardini, 1995).

Reaktivne kisikove spojine: SO PROSTI RADIKALI		Reaktivne kisikove spojine: NISO PROSTI RADIKALI	
ZVRST	IME	ZVRST	IME
OH [•]	Hidroksilni radikal	H ₂ O ₂	Vodikov peroksid
O ₂ H [•]	Hidroperoksilni radikal	HClO	Hipoklorna kislina
ROO ^{•a} /LOO ^{•b}	Peroksilni radikal	ROOH ^a	Hidroperoksid
RO ^{•a} / LO ^{•b}	Alkoksilni radikal	ROO ^a	Peroksid
ArO [•]	Aroksilni radikal	LH ^b	Večkrat nenasičene maščobne kisline
NO ₂ [•]	Radikal dušikovega dioksida	O ₃	Ozon
NO [•]	Radikal dušikovega oksida	ONOO [•]	Peroksinitrit
O ₂ ^{•-}	Superoksid	¹ O ₂	Kisikov singlet

^aR = katerakoli organska molekula

^bL = nenasičene molekule lipidov

Preglednica 4: Ponazoritev možnih elektronskih konfiguracij v kisikovi molekuli. Reaktivnost narašča od leve proti desni (Šuput in Kamarić, 1998).

Table 4: Illustration of possibility electronic configuration in oxygen molecule. Reactivity increase from left to right side of table (Šuput in Kamarić, 1998).

Atmosferski kisik:	Singlet kisik:	Superoksidni anion:	Peroksidni anion:	Singlet kisik – radikal:
$\begin{array}{c} \text{O}\uparrow \\ \\ \text{O}\uparrow \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O}\uparrow\downarrow \\ \\ \text{O} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O}\uparrow\downarrow \\ \\ \text{O}\downarrow \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O}\uparrow\downarrow \\ \\ \text{O}\uparrow\downarrow \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O}\uparrow \\ \\ \text{O}\downarrow \end{array}$

(Legenda: O = simbol kisika; puščica ponazarja spin elektrona.)

Danes so nekateri prosti radikali nujno potrebni za normalno delovanje in preživetje sodobnih mnogoceličarjev. Razlago najdemo v pradavnini in evoluciji aerobnega življenja. Začetek prilagajanja živih organizmov na kisik in z njim povezane radikale se je začel pred dvema milijardama let, ko je kopičenje kisika v ozračju doseglo 10 %, kar je bilo pogubno za anaerobno življenje, ki je takrat prevladovalo na Zemlji. To je pomenilo eno najhujših ekoloških katastrof kdajkoli na Zemlji. To ekološko katastrofo so preživela bitja, ki so uporabljala kisik pri svojih normalnih presnovnih procesih. Razviti so morala tudi mehanizme s katerimi so kompenzirala toksične učinke kisika. Pri tem so adaptacije šle še dlje, tako da so posegle tudi v fiziološke procese (Šuput in Kamarić, 1998; Halliwell in Gutteridge, 1989). Danes rastline same proizvajajo proste kisikove radikale ($\text{O}_2^{\cdot -}$ in H_2O_2) kot rezultat normalnega aerobnega metabolizma v kloroplastih in mitohondrijih med fotosintezo in dihanjem (Elstner, 1982; Sharma in Davis, 1997). Asimilacijo molekularnega kisika imenujemo endogeni oksidativni stres, ki lahko z eksogenim oksidativnim izzivom iz okolja skupaj pripeljeta do toksičnega vpliva na organizme (Pardini, 1995; Mudd, 1996). Kisikovi prosti radikali so po današnjih spoznanjih vpleteni v številne patofiziološke procese, ki vodijo od akutnih do kroničnih poškodb (Šuput in Kamarić, 1998; Mittler in sod., 2004).

Interakcije med rastlino in glivami, bakterijami, mehničnim stresom, velikimi temperaturami zraka, sušo, in zračnimi onesnažili vključno z žveplovim dioksidom in ozonom sprožijo nastajanje prostih radikalov (Pell in sod., 1997; Mittler in sod., 2004; Suzuki in Mittler, 2006). Ozon kot močan oksidant je ekstremno reaktiven. Prvi so opisali ozon kot toksično zračno onesnažilo Richard in sod. (1958). Ozon deluje kot abiotični dejavnik, ki sproži v rastlinah enake obrambne odzive kot na primer napad patogena (Schraudner in sod., 1997). V današnjem času tanjšanje plasti stratosferskega ozona in trendi naraščanja koncentracij troposferskega ozona posledično povečujejo nastajanje prostih radikalov.

Vsako zračno onesnažilo deluje na svoj način in v različnih koncentracijah. Pogosto pa v okolju prihaja do sinergističnega oz. antagonističnega delovanja različnih onesnažil. Posebno učinkovito deluje ozon z žveplovim dioksidom (sinergističen učinek). Poškodbe, ki jih povzročata skupaj, so večje, kot če delujeta oba plina ločeno (Mehlhorn in sod., 1986; Tarman, 1992; Lepper, 1992).

2.2.1 Kemijske poti nastanka prostih radikalov v celicah

Zračna onesnažila se po vstopu skozi stomatalno odprtino (listno režo) raztope v ekstracelularni tekočini (medcelična tekočina) in reagirajo z biološkimi sestavinami, kot so proteini in lipidi. Ti se v celični steni in membranah oksidirajo, lipidi peroksidirajo in tak

začetek verižne reakcije daje razlog, da več prostih radikalov povzroči povečano permeabilnost (prepustnost) celičnih membran. Vse to vodi do več metaboličnih motenj in poškodb genetskega materiala (Heath, 1980; Yunus in Iqbal, 1996; Pell in sod., 1997).

Nastajanje prostih radikalov v naravnem okolju so opisali že mnogi, med drugimi tudi Elstner (1982), Halliwell in Gutteridge (1989), Pardini (1995), Perl-Treves in Perl (2002), Halliwell (2006):

Superoksidni anion ($O_2^{\cdot-}$) nastaja pri enostopenjski redukciji molekularnega kisika:



Superoksidni anion je pomemben izhodiščni prosti radikal pri številnih poškodbah celic in tkiv. V vodnih raztopinah je superoksidni anion razmeroma slab oksidant in zmerno močen reductent. Večino biokemičnih poškodb povzročajo druge reaktivne zvrsti, ki nastajajo pri reakcijah superoksidnega aniona. Povratna reakcija je dismutacijska, ki poteka v dveh stopnjah:

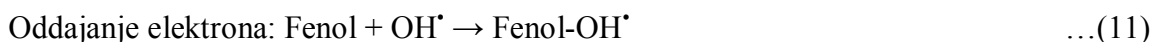


Celotna reakcija ((7)+(8)) je:



Ta reakcija poteka počasi, ker je koncentracija vodikovih ionov pri fiziološkem pH majhna. Tipične hitrostne konstante za reakcije $O_2^{\cdot-}$ z nekaterimi biomolekulami so 10^4 do $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, medtem ko z lipidi, H_2O_2 in aminokislinami praktično ne reagira, saj je hitrostna konstanta z njimi okrog $1 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Zato $O_2^{\cdot-}$ ni močno reaktiven in lahko deluje daleč od kraja nastanka. H_2O_2 je eden najbolj stabilnih intermediatov pri redukciji $O_2^{\cdot-}$ v vodnih raztopinah. Kot električno nevtralna zvrst lahko prehaja skozi membrane, medtem ko $O_2^{\cdot-}$ ne more razen, če so v membranah ustrezni anionski kanali. Sam superoksidni anion je slabo reaktiven v vodi, bolj reaktiven je v hidrogenirani obliki kot HO_2^{\cdot} , ki lahko povzroči peroksidacijo lipidov. Poglavitno škodljivo delovanje superoksidnega aniona je redukcija kovinskih ionov v Fentonovih reakcijah tako, da nastaja hidroksilni radikal OH^{\cdot} .

Hidroksilni radikal je zelo reaktivna zvrst, ki lahko reagira skoraj z vsako bio-molekulo. Ima zelo kratek razpolovni čas (10^8 do $10^{11} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$), ki mu ne dovoljuje difuzije daleč od kraja nastanka. OH^{\cdot} radikali reagirajo z odvzemanjem, dodajanjem ali prenosom elektronov.



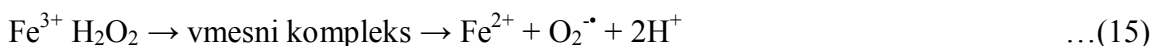
Pod vplivom ionizirajočih žarkov nastajajo lahko prosti radikali posredno ali neposredno. Posreden način je pri radiolizi vode. Voda je vsesplošno topilo v živem svetu. Lahko je tudi strukturno vezana v biopolimerih. Če ionizirajoči žarki neposredno zadenejo biopolimer, lahko izbijejo elektron iz njega:



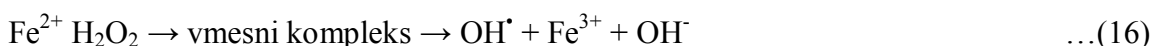
Biopolimerov prosti radikal ima lahko elektron brez para ne samo na kisikovem atomu, temveč tudi na žveplovem, dušikovem ali ogljikovem atomu (heteroradikali). Prosti

radikali nastanejo tudi pri homolitični fisiji. Pri razpadu kovalentne vezi vsak atom obdrži svoj elektron in vsaj enemu atomu zato ostane prost elektron, torej je prosti radikal.

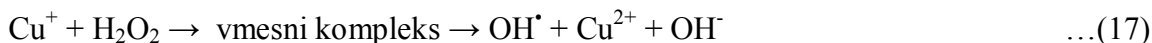
Tudi kovine bistveno prispevajo k nastajanju prostih radikalov v organizmu, kadar se čezmerno nalagajo v tkivih. V laboratorijskih razmerah nastaja hidroksilni radikal kot produkt neposredne reakcije med $O_2^{\cdot -}$ in H_2O_2 (Haber-Weissova reakcija), vendar se je pokazalo, da ta reakcija ne poteka v bioloških sistemih. V živih sistemih poteka reakcija večstopenjsko. Za reakcijo je bistvena udeležba kovinskih soli v sledovih (železove in bakrove). Z železovimi ioni katalizirane reakcije superoksidnega aniona in vodikovega peroksida imenujemo po Fentonu, ki jih je prvi opisal pred več kot sto leti.



ali



Hidroksilni ion lahko nastane tudi pri reakciji vodikovega peroksida z bakrom:



Celotna reakcija je:



V končni stopnji:

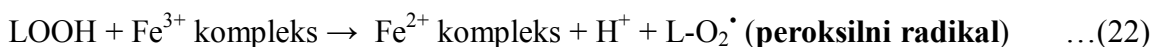
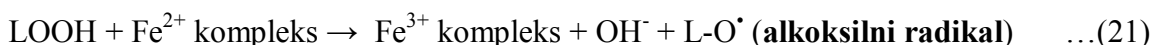


Ko se ozon razcepi v vodi po Weiss-ovem mehanizmu, se sprosti velika količina hidroksilnih ionov, različnih radikalov in vodikov peroksid (Heath, 1980). Hidroksilni radikal, ki nastane pod vplivom ozona v citoplazmi, praktično ne more biti genotoksičen (ne more neposredno poškodovati DNA), ker ima zelo kratek razpolovni čas in zato kratko difuzijsko razdaljo. Za hidroksilni radikal, ki je eden najbolj reaktivnih kisikovih zvrsti, ni znanega zaščitnega mehanizma znotraj celic, z izjemo morda alfa tokoferola (Heath, 1980). Genotoksičen je lahko le, če nastane v jedru ali v mitohondriju (deluje epigenetično). Pri genotoksičnih učinkih se lahko oksidira sladkorna komponenta nukleinskih kislin (deoksiriboza oziroma riboza) ali pa baze (npr. hidroksilacija gvanilne skupine DNK z OH^{\cdot}). Od zmogljivosti popravljalnih sistemov je odvisno, ali se bo poškodovano mesto odstranilo in DNK zakrpala, ali pa se bo poškodba ohranila in uveljavila posledice.

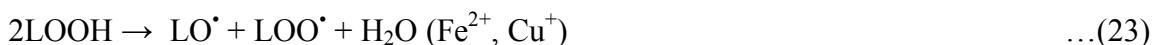
Pri lipidni peroksidaciji fosfolipidov in nenasičenih maščobnih kislin lahko nastanejo **heteroradikali** s prostim elektronom na C atomu:



Železo je pomembno tudi pri lipidni peroksidaciji, zlasti pri reakcijah z lipidnim hidroperoksidom (L-OOH):



Skupno lahko ponazorimo razpad lipidnih peroksidov v peroksilne in alkoksilne radikale v navzočnosti železovih ali bakrovih kompleksov tako:



Peroksidacijo večkrat nenasičene kisline (LH) lahko sprožijo poleg OH^\bullet radikalov tudi alkoksilni radikali (LO^\bullet) in peroksilni radikali (LO_2^\bullet).



Radikal L^\bullet sproži novo verižno reakcijo, LOOH pa prek cikličnih peroksidov in cikličnih endoperoksidov daje aldehide in polimerizacijske produkte.

Že v začetnih fazah lipidne peroksidacije se z njo močno zmanjša antioksidativna zaščita celic, kar vodi v pozitivno povratno zvezo. Alkoksilni in peroksilni radikali napadejo beljakovine, v reakcije vstopajo verjetno tudi ogljikovi prosti radikali, ki nastanejo v verižnih reakcijah lipidne peroksidacije, in prizadenejo normalne funkcije membranskih proteinov s tem, da jih prečno poveže ali inhibira njihove funkcionalne skupine, na primer NH_2 ali SH_2 . V membranah tako nastajajo veliki agregati nefunkcionalnih proteinov in celična membrana propada. Fosfolipidi, vgrajeni v strukturo membrane, so razmeroma odporni proti peroksidaciji. Že majhna poškodba membrane pa lahko sproži verižno reakcijo, v kateri nastajajo lizofosfolipidi, produkti peroksidacije, ki imajo detergentom podobne delovanje in tako poškodujejo membrane. Skozi poškodovano membrano vstopajo kalcijevi ioni, iz celice pa se izgubljajo vitalne molekule in kalijevi ioni, kar vodi v končni fazi v propad celice.

Vodikov peroksid nastaja predvsem kot posledica encimskega odstranjevanja $\text{O}_2^{\bullet -}$ (dizmutaze, peroksidaze). Neposredno lahko inaktivira encime s skupinami $-\text{SH}$. Oksidira lahko tudi nekatere ketokisline (npr. piruvično). Lahko prehaja skozi celične membrane in zaradi razmeroma majhne reaktivnosti lahko reagira z molekulami daleč od mesta nastanka. V citosolu lahko reagira z železovimi in bakrovimi ioni in nastaja HO^\bullet .

2.2.2 Mesta nastanka prostih kisikovih radikalov v rastlinskih celicah

Mittler (2002) je objavil obsežen pregled mehanizmov in mest nastanka prostih kisikovih radikalov v rastlinskih celicah ter obrambe rastlinskih celic, na način razgradnje in izogiba. Prosti kisikovi radikali v rastlinskih celicah nastajajo v kloroplastih, mitohondrijih, endoplazmatskem retikulumu, mikrotelescih, plazmatski membrani in celični steni.

a.) Kloroplasti

V kloroplastih so štiri mesta, kjer lahko nastajajo reaktivne oblike kisika:

1. Fotosistem I (PS-I) lahko reducira kisik v Mehlerjevi reakciji v kateri iz molekularnega kisika preko superoksida nastane vodikov peroksid (Elstner, 1991). Monovalentna redukcija kisika na PS-I poteče pod pogoji, ko je količina NADP^+ omejena in ko se v ciklični fosforilaciji ne porabi višek elektronov. Raven razpoložljivega elektronskega akceptorja NADP^+ ne zadošča za sprejem vseh elektronov, zato elektrone sprejme molekularni kisik (psevdociklični elektronski transport). Posledica je tvorba superoksidnega aniona, ki ga nato odstranjuje superoksid dizmutaza. Pri tem nastane strupeni vodikov peroksid, ki lahko inaktivira številne encime (med drugim tudi encime Kalvinovega cikla) ali pa reagira s superoksidom in tvori hidroksil radikal (McKersie in Leshem, 1994).

2. Eksitacijska energija fotoaktiviranega klorofila se normalno prenaša na reakcijske centre fotosistemov. V elektronskem transportnem sistemu se lahko v razmerah, ki preprečujejo njegovo optimalno delovanje, ta energija porabi za aktivacijo kisika iz triplet v singlet stanje. Nastane singletni kisik (Eltner in Osswald, 1994).

3. Manj pomembno mesto je nastajanje radikalov v kloroplastih na reakcijskem centru fotosistema II (PS-II). Oksidacijo PS-II omogočijo prenosi štirih elektronov iz vode na PS-II reakcijski center. Pri tem nastaja kisik. V določenih razmerah lahko pride do puščanja elektronov iz procesa oksidacije vode na molekularni kisik ali do sproščanja delno reduciranih kisikovih spojin (McKersie in Leshem, 1994).

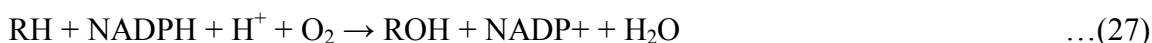
4. Fotorespiracija je najbolj običajna oksidacijska pot v kloroplastu. V procesu fotorespiracije rubisco katalizira adicijo kisika na C² RuBP (ribulozabifosfat). Tvori se fosfoglikolat in fosfoglicerat. Čeprav ta ne proizvaja prostih kisikovih radikalov v kloroplastih, ga pa proizvaja nadaljnji metabolizem glikolata v peroksisomih, ki vodi do nastanka vodikovega peroksida (Eltner, 1991; Eltner in Osswald, 1994).

b.) Mitohondriji

Večina kisika se porabi z encimom citokrom oksidazo v elektronskem transportnem sistemu mitohondrija, ki vključuje zaporeden prenos 4 elektronov na kisik in sprostitvev H₂O. Rastlinski mitohondriji imajo dodatno mesto redukcije kisika z alternativno oksidazo, ločeno od citokrom oksidaze z njeno odpornostjo na cianide. Kakorkoli že, nobeno od teh mest ne proizvede značilno veliko količino superoksidnih radikalov (Rich in Bonner, 1978). Izolirani mitohondriji proizvedejo H₂O₂ in singlet kisik v prisotnosti NADPH (Loschen in sod., 1974). Različni Fe-S proteini in NADH dehidrogenaza so tudi možna mesta tvorbe superoksida ali vodikovega peroksida (Turrens in sod., 1982).

c.) Endoplazmatski retikulum (ER)

Na ER se dogajajo različni oksidativni procesi (oksidacija, hidroksilacije, dealkilacije, deaminacije, dehalogenacije in desaturacije). Oksigenaze mešanih funkcij, ki vsebujejo hem jedro, vežejo kisik na organske substrate, donor elektronov je NADPH. Reakcija je katalizirana s citokromom P₄₅₀:



Najbolje raziskan citokrom P₄₅₀ v rastlinah je šikimat-4-hidroksilaza, ki deluje v biosintezah flavonoidov in ligninov. Aktiviranje kisika s tem sistemom je nujni predpogoj za adicijsko reakcijo kisika v sintezi kompleksnih metabolitov. Nastanek superoksida z mikrosomsko NAD(P)H je odvisen od transporta elektronov, ki vključuje citokrom P₄₅₀ (Winston in Cederbaum, 1983). Po univalentni redukciji substrata (RH) in dodanem triplet kisiku se oblikuje kompleks P₄₅₀ – RHO₂. Kompleks lahko razpade na P₄₅₀ - RH in sprostijo se superoksidni radikali.

d.) Mikrotelesca

Peroksisomi in glioksisomi so organeli z eno membrano. Ti organeli svoje encime vključujejo v β-oksidacijo maščobnih kislin in glioksilatni kislinski cikel, ki vključuje glikolat oksidaze, katalaze in različne peroksidaze. Glikolat oksidaze proizvajajo H₂O₂ v dveh prenosih elektronov od glikolata do kisika (Lindqvist in sod., 1991). Ksantin oksidaze, urat oksidaze in NADH oksidaze tvorijo superoksidne radikale kot posledica

oksidacije njihovih substratov. Reakcija ksantin oksidaze je pogosto uporabljena *in vitro* kot vir enega mola superoksida med pretvorbo ksantina v sečno kislino (Fridovich, 1970).

e.) Plazmatske membrane

Aktivnost zaradi superoksida nastale NAD(P)H oksidaze je bila jasno določena ravno v obogateni frakciji plazmaleme. Flavoproteini v plazmatskih membranah producirajo superoksidne radikale z redoks ciklom določenih kinonov ali dušikovih spojin. V koreninah, NAD(P)H oksidaze reducirajo Fe^{3+} v Fe^{2+} v obliko, ki se lahko prenaša. Motnje v delovanju teh koreninskih encimov bi vplivale na proizvodnjo superoksidnih radikalov. Rastlinske NAD(P)H oksidaze imajo lahko analogno vlogo živalskim encimom. Levkociti imajo NADH oksidaze na zunanji površini membran, ki se aktivira kot odgovor na stresni dejavnik s tvorbo superoksidov. Superoksidi sprožijo oksidacijsko reakcijo, ki lahko uniči potencialni patogen. V rastlinah povzročajo glive podobno tvorbo superoksidnih radikalov, kar je povezano z hiperobčutljivostjo na nekatere patogene. Tudi ranitev, vročinski šok ali ksenobiotiki aktivirajo tvorbo superoksidnih radikalov in tako dajo signal rastlinski celici, da odgovori na biološki, fizikalni ali kemični stres (Doke in sod., 1991).

f.) Celična stena

Celične stene so aktivno mesto metabolizma in tudi aktivacije kisika. Nekaj teh reakcij se vključuje tudi v obrambni sistem proti patogenom. Druge so lahko vključene v degradacijo ali kompartmentacijo ksenobiotičnih kemikalij. Kakorkoli že najbolj običajna reakcija je biosinteza. Na primer, fenilpropanoid predhodniki lignina so povezani z H_2O_2 odvisno reakcijo, ki je vezana na tvorbo lignina. NADH nastaja z malat dehidrogenazo v celični steni. Nato se uporabi za tvorbo H_2O_2 , verjetno z NADH oksidazo na plazmalemi. Diamin oksidaze so tudi vključene v proizvodnjo aktivnih oblik kisika v celični steni, tako da rabijo diamine ali poliamine (putrescin, spermidin, kadaverin...) za redukcijo kinona, ki se avtooksidira s tvorbo peroksidov (Elstner, 1991).

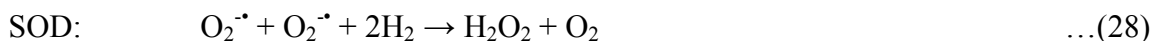
2.2.3 Zaščita rastlinskih celic pred prostimi radikali

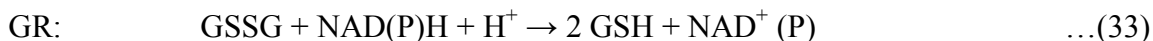
Rastline so skozi evolucijo razvile številne mehanizme za razstrupljanje toksičnih oblik prostih kisikovih radikalov. Temeljna zaščita celice je v prvi vrsti njena strukturna in funkcijska integriteta (Šuput in Kamarić, 1998). Bolj specifična zaščita temelji na sposobnostih posameznih encimov, da odstranjujejo proste radikale in druge reaktivne kisikove zvrsti, in na delovanju antioksidantov, ki niso encimi, vendar preprečujejo, zmanjšujejo ali ustavljajo verižne oksidacije, sprožene s prostimi radikali (Šuput in Kamarić, 1998).

1.) Encimska zaščita rastlinske celice pred prostimi radikali

Encimi, ki so vključeni v zaščito celice so: superoksid dizmutaze (SOD), katalaze (CAT), od selena odvisne glutation peroksidaze (GPOXs), od selena neodvisne glutation peroksidaze, izoencimi glutation S-transferaze (GSTPX) in glutation (GSSG) reduktaze (GR) (Pardini, 1995).

Reakcije katalizirane s temi encimi so naslednje:





SOD katalizirajo dismutacijo (razcepitev) superoksidnega radikala v vodikov peroksid in vodo. Odkar je znano, da so SOD prisotne v vseh aerobnih organizmih in v večini podceličnih enot, ki lahko tvorijo aktiviran kisik, se domneva, da imajo centralno vlogo v obrambi organizmov pred oksidativnim stresom (McKersie in Leshem, 1994; Pardini, 1995). Pri sesalcih je oblika SOD v citosolu z bakrom ali cinkom, medtem ko se v mitohondrijih nahaja Mn-SOD. V prokariotih in rastlinah je manj pogosto prisotna tudi Fe-SOD. Kljub mnogoštevilnim raziskavam, niso odkrili drugih substratov na katere bi encim SOD deloval katalitično razen na superoksidne radikale (Pardini, 1995).

CAT je tetramerični hemoprotein, ki razgrajuje H_2O_2 (29). Encim so našli v vseh aerobnih evkariontih in je pomemben pri odstranitvi H_2O_2 nastalega v peroksisomih (mikrotelesca), pri oksidazah vključenih v β -oksidacijo maščobnih kislin, glikolatnem ciklu fotorespiracije in katabolizmu purina. Stresne razmere, kot so slanost, vročinski šok ali mraz, povzročijo zmanjšanje aktivnosti katalaz. To ima lahko velik vpliv pri sposobnosti rastline, da tolerira oksidativni stres (McKersie in Leshem, 1994).

Glutationska peroksidaza odstranjuje H_2O_2 tako, da ga porablja za oksidacijo glutationa (GSH) (30). Z odstranjevanjem $\text{O}_2^{\cdot -}$ in H_2O_2 onemogoča nastajanje radikalov OH^{\cdot} . GSH je tripeptid (Glu-Cys-Gly) čigar antioksidativna funkcija je povečana s sulfhidrilno skupino cisteina (Rennenberg, 1982). Pri oksidaciji dveh glutationskih molekul nastane med njima disulfidna vez (GSSG). Količnik med GSH/GSSG v normalnih celicah je velik, zato mora biti mehanizem, ki reducira GSSG nazaj v GSH. To nalogo opravlja encim glutation reduktaza, ki katalizira reakcijo (33). GSH lahko reagira s singlet kisikom, superoksidom in hidroksi radikali in je kot čistilec prostih kisikovih radikalov. GSH lahko stabilizira membranske strukture z odstranitvijo acil peroksidov, ki nastanejo pri lipidni peroksidaciji. Kot reducent obnavlja askorbinsko kislino iz oksidirane v njeno reducirano obliko z encimom dehidroaskorbinska reduktaza (McKersie in Leshem, 1994).

2.) Neencimska zaščita rastlinske celice pred prostimi radikali

Rastlinska celica odgovori na vdor fotooksidantov (O_3 , PAN, NO_x), čigar posledica je nastanek strupenih oblik prostih radikalov, z aktiviranjem antioksidativnega sistema in tvorbo stresnih proteinov (Stress responses in..., 1990; Amundson in sod., 1991; Guri, 1993). Izraz antioksidant je prvotno veljal za snovi, ki pretrgajo verižni proces pri lipidni peroksidaciji. Proučevanje lipidne peroksidacije je največ prispevalo k spoznanju pomena prostih radikalov v celici in zaščiti pred njimi. Dandanes se ta izraz rabi v širšem pomenu. To je poljubna snov, ki v koncentraciji, ki je majhna v primerjavi s koncentracijo tarčne snovi prostega radikala, prepreči, odloži ali zavira oksidacijo tarčne snovi (Šuput in Kamarić, 1998). Antioksidanti lahko učinkujejo na različnih stopnjah oksidacijskega procesa. Pri lipidni peroksidaciji na primer lahko preprečijo sprožitev (inicijacijo) z odstranjevanjem prostih radikalov, kot je na primer OH^{\cdot} . Lahko razgradijo perokside v produkte, ki niso radikali (npr. alkoholi). Lahko odstranjujejo intermediarne radikale (kot so peroksi in alkoksi radikali) in tako pretrgajo verižno reakcijo. Takšni antioksidanti so fenoli in aromatični amini.

Vitamin E (alfa tokoferol) spada med fenolne antioksidante in se kot topen v maščobah kopiči v hidrofobni notranjosti membran. S prispevanjem vodika peroksilnemu radikalu pretrga verižno reakcijo. Sam pri tem pridobi en elektron brez para. Vendar je kot prosti radikal bolj stabilen in se včasih sam razgradi ali pa ga askorbinska kislina reducira nazaj v alfa tokoferol. Tokoferol je prisoten v vseh višjih rastlinah, v nefotosintezno in fotosintezno aktivnih tkivih. Alfa tokoferol je na splošno najbolj aktivna oblika tokoferolov, druge oblike so prekursorji njegove biosinteze. Je manj učinkovit čistilec superoksidnih radikalov kot beta karoten. Tokoferoksilni radikal, ki nastane pri vezavi alfa tokoferola s peroksilnim radikalom, je stabiliziran s polno substituiranim benzokinonskim obročem. Nastajanje radikalov je prekinjeno. Njegova namestitev na površini membran mu dopušča, da se njegov tokoferoksilni radikal reducira z askorbinsko kislino v vodni fazi in se regenerira nazaj v alfa tokoferol (McKersie in Leshem, 1994).

Ena izmed najpomembnejših antioksidantskih molekul v rastlinskem svetu je askorbinska kislina. Vloga **vitamina C (askorbinska kislina)** v rastlinski celici je lahko dvorezna; deluje lahko kot antioksidant ali prooksidant, odvisno od razmer v okolju. V navzočnosti ionov Fe^{3+} in Cu^{2+} v vodnih raztopinah je askorbinska kislina lahko prooksidant. V nižji valenčni stopnji ioni teh kovin (Fe^{2+} , Cu^{+}) katalizirajo nastajanje prostih radikalov (OH^{\bullet}). Od razmerja koncentracij ionov teh kovin in askorbinske kisline je odvisno ali bo askorbinska kislina delovala kot anti ali kot prooksidant. Če je koncentracija askorbinske kisline majhna v primerjavi s koncentracijo kovinskih ionov (Fe^{3+}), bo askorbinska kislina delovala kot prooksidant, če pa je koncentracija velika, bo učinkovala kot antioksidant. Pri odstranjevanju prostih radikalov deluje kot reducent (dajalec elektronov) in se pri tem sama oksidira in kmalu razpade. Eden izmed produktov je oksalna kislina. Rastlinska in živalska tkiva so razvila mehanizme, ki oksidirano obliko askorbinske kisline pretvarjajo nazaj v reducirano. Askorbinska kislina igra pomembno vlogo v mehanizmu prilagoditve organizmov na ozon. Askorbinska kislina se nahaja v različnih delih rastlinske celice (kloroplasti, celične vakuole, celične stene) (McKersie in Leshem, 1994). Največ askorbinske kisline najdemo v kloroplastih. Poleg askorbinske kisline imajo podobno vlogo tudi glutation, tioli, fenoli, stresne amino kisline in stresni proteini (Stress responses in..., 1990; Amundson in sod., 1991; Guri, 1993).

Večina višje razvitih rastlin vsebuje v kloroplastih **karotenoide** kot so: β -karoten, lutein, violaksantin in neoksantin, ter manjše količine zeaksantina, anteraksantina in α -karotena. Sinteza in posledično sestava karotenoidov se spreminja pod vplivom svetlobe in tudi drugih okoljskih dejavnikov (Demmig-Adams in sod., 1996; Šircelj, 1999, 2001, 2005, 2007). O zaščitni funkciji kloroplastnih karotenoidov, ki je zlasti pomembna v razmerah, ki povzročijo v rastlinah stres je pregledno pisala Širceljeva (2008). Karotenoide so dobri lovilci prostih radikalov pri majhnih parcialnih pritiskih kisika, kot je primer v zdravem tkivu. Poleg tega preprečujejo uveljavljanje učinkov singlet kisika (O_2^{\bullet}) in učinkujejo sinergistično z alfa tokoferolom v lipidnem okolju, kjer je askorbinska kislina brez učinka (Young in Britton, 1990). Glavna zaščita beta karotena v fotosinteznih tkivih je direktna pogasitev triplet klorofila (klorofil*), in tako preprečiti nastanek superoksidnih radikalov. Energija se pri tem prenese iz klorofila na karotenoid, sprosti se v obliki toplote. Ta način zaščite odpove, ko svetlobna intenziteta naraste nad saturacijsko točko fotosinteze. Reichenauer in Bolhâr-Nordenkampf (1999) ugotavljata, da ozon lahko spremeni reakcijo listov ob razmerah velike osvetljenosti v kratkem obdobju z aktiviranjem ksantofilnega cikla in v dolgem obdobju s spremembo pigmentnega razmerja. Oboje vodi do oddajanja večje kapacitete toplote oziroma energije absorbiranih fotonov. Zeaksantin pospeši

spremembo triplet v singlet klorofil in je pri tem bolj učinkovit kot beta karoten. Ksantofilni cikel vključuje reverzibilno reakcijo med dvema oblikama ksantofilov, violaksantina in zeaksantina. De-epoksidazni encim katalizira epoksidacijo violaksantina v zeaksantin ob prisotnosti viška svetlobe in epoksidaze katalizirajo obratno reakcijo v temi ali slabi svetlobi. De-epoksidaze imajo manjši pH optimum (pH = 5,1) medtem ko imajo epoksidaze večji pH optimum (pH = 7,5). Reducirana askorbinska kislina služi kot dajalec elektronov de-epoksidazam, medtem ko NAD(P)H priskrbi reduciran ekvivalent za epoksidaze (McKersie in Leshem, 1994). Encimi obeh reakcij so v kloroplast-tilakoidnemu lumnu, zato je med periodo fotosinteze lumen kisel in se kopiči zeaksantin. Obratna reakcija se zgodi v temi in akumulira se violaksantin (Foyer, 1993).

2.3 AKUTNI IN KRONIČNI ODZIV RASTLIN NA OZON IN DRUGA ZRAČNA ONESNAŽILA

Delovanje zračnih onesnažil na rastline je lahko akutno ali kronično. V prvem primeru gre za kratkotrajno delovanje velikih koncentracij onesnažil, ki povzročajo jasno vidne kloroze in nekroze listnega tkiva, odpadanje listov, cvetov in plodov. Odgovor rastlin sledi v zamiku nekaj dni, po pojavu povečanih koncentracij (Batič in sod., 1996a, 1996c; Skelly in sod., 1999; Innes in sod., 2001). Rastline v primeru akutnih koncentracij ne odgovarjajo na ekstremno velike koncentracije, saj se v tem primeru listne reže zaprejo zaradi prevelikega stresa. V drugem primeru gre za dolgotrajnejše delovanje majhnih koncentracij onesnažil (Innes in sod., 2001), ki upočasnijo rast in razvoj ter povzročajo počasen propad celotne rastline, kar ima tudi ekonomski pomen (Kickert in Krupa, 1991; Holland in sod., 2002; Holland in sod., 2006). Kronični odgovori ne vodijo le do vidnih poškodb rastlin, so pa zelo pomembni, ker lahko vodijo do zmanjšanja pridelka rastlin, še preden se vidne poškodbe sploh razvijejo. Kronične poškodbe se pogosto lahko dokažejo samo z fiziološkimi in biokemičnimi metodami (Steubing, 1982). Larcher (1995) ugotavlja, da akutne poškodbe (pokažejo se že po nekaj urah ali dneh) so prepoznavne po pojavu kloroz, razbarvanju listov, tkivnih in organskih nekrozah ali odmrtnosti celotne rastline in da so te poškodbe v splošnem vidne samo v neposredni bližini vira onesnaženja. Kronične poškodbe (pokažejo se v daljšem obdobju izpostavljenosti – več mesecev ali v daljšem obdobju), pogosto tudi brez posebnih simptomov, vodijo do zmanjšane produktivnosti in nepopolne fertilitnosti (sterilnost cvetnega prahu). Mnogi avtorji opozarjajo, da so simptomi kroničnih in akutnih poškodb, še posebej pa kroničnih poškodb, lahko zamenljivi s simptomi normalnega staranja, pomanjkanja hranil, drugih okoljskih stresov, patogenov, insektov (Diagnostic injury to..., 1987; Innes in sod., 2001; Kopušar, 2003b).

Odziv rastline z izogibom ali toleranco na škodljiv vpliv zračnih onesnažil vključuje spremembe na biokemični, fiziološki in morfološki ravni (Iqbal in sod., 1996). Rastline regulirajo vstop zračnih onesnažil skozi listno režo tako, da omejijo vstop plinastim molekulam in tako zaščitijo življenjsko pomembne fiziološke procese, kot sta na primer fotosinteza in transpiracija. Delovanje listnih rež je normalno uravnavano s spremembami z notranjimi rastnimi regulatorji.

Poškodbo lahko povzroči absorbirano onesnažilo ali pa snovi, ki nastanejo iz njega. Če pa se njegova koncentracija povečuje ali traja njihovo zadrževanje v tkivih dlje časa, sistemi notranje obrambe celic odpovedo in pride do poškodb membran, ki vodijo v motnje pritiska in transporta. Sledi propad celičnih organelov, kar se odraža v propadanju posameznih tkiv; navzven se to kaže kot kloroza, kasneje nekroza listov, cvetov, plodov,

prezgodnje staranje in propad organizmov. Če se onesnaženje nadaljuje ali celo stopnjuje, začno propadati posamezni osebki, najprej občutljivejši nato odpornejši (Batič, 1994). Občutljivost rastlin na onesnažila je lahko različna med vrstami in tudi med različnimi sortami iste vrste (Iqbal in sod., 1996; Sane in sod., 1996; Kopušar, 2003b; Mills in sod., 2007).

2.3.1 Diagnoza vidnih poškodb na listih

Posledice ireverzibilnih sprememb v rastlinah zaradi vplivov onesnaženega zraka se pokažejo na listih v obliki vidnih simptomov. Narava teh simptomov je odvisna od vrste rastline, vrste in koncentracije zračnega onesnažila in trajanja izpostavitvenega obdobja (Posthumus, 1982a; Treshow, 1984). Vidne simptome (vizualni) na različnih rastlinskih vrstah so beležili Heagle in sod. (1994), Innes in sod. (2001), Kopušar (2003b) in še mnogi drugi. Nekroze listnega tkiva so simptomi bolj drastičnih vplivov zračnih onesnažil, ki vključujejo nekaj celic. Razlikujemo med pegastimi ali pikastimi nekrozami, nekrozami konic listov, nekrotične obrobe ter medžilne in obročkaste oblike nekroz (Innes in sod., 2001). Ozon povzroča nekrotične pege na listih tobaka (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃'); HF (vodikov flourid) najobičajneje povzroča nekroze vrhov listov in obrobne nekroze na tulipanih in gladiolah; medtem ko NO₂ in SO₂ pogosto povzročata medžilne nekroze. Poseben primer obročkaste nekroze, povzročene zaradi peroksiacetil nitratov (PAN), so bile opisane na listih male pekoče koprive in enoletne modre trave (Treshow, 1984).

Ozon prehaja v rastlino skozi reže v normalnem procesu izmenjave plinov med listom in okolico (Wieser in Havranek, 1994). Posledica oksidacije komponent celične membrane je sprememba v njeni permeabilnosti. To se kaže v spremenjeni prepustnosti za vodo in ione (Heath, 1980). Žveplov dioksid in ozon naj bi povečala prepustnost membran, predvsem za kalijeve in magnezijeve ione (Mitterhuber in sod., 1989). Zelo hitro lahko pride do razgradnje kloroplastov in temu sledi razgradnja klorofila – zelenega listnega barvila. V primeru, ko je razgradnja klorofila večja od njegove sinteze, je posledica izguba zelene barve lista, kar imenujemo kloroze (Krupa in Manning, 1988). Klorotične poškodbe so pomemben simptomatičen znak, po katerem lahko ocenjujemo prisotnost določenega onesnažila v ozračju, saj so le te značilno obarvane. Pri rastlinah z dobro razvitim parenhimom so poškodbe sprva omejene le na nekaj palisadnih celic, nato se poškodovanost širi proti površini in pojavijo se vidne poškodbe. Enokaličnice, ki nimajo zdiferenciranega mezofila, imajo poškodbe vidne na obeh straneh listov in se pojavljajo kot klorotične pege med vzporednimi žilami. V začetku so te poškodbe zelo omejene, nato se širijo in so v zadnjem stadiju precej podobne naravnemu staranju rastline. Starejši listi so običajno bolj poškodovani kot mlajši, ker so dlje časa izpostavljeni in je skupen vnos ozona večji (Innes in sod., 2001). Iz poskusov v kontroliranih razmerah zaplinjevanja rastlin je znano, da se splošne ozonske poškodbe kažejo kot temno obarvanje zgornje površine listov (rjavo do purpurno rdeče), kot pike oziroma pege na zgornji ploskvi listov (manjše kot 1 mm) ali kot splošna depigmentacija zgornje ploskve (bronzing ali pordečenje). Spodnja ploskev listov pri ozonskih poškodbah nikoli nima prej opisanih simptomov. Simptomi se pojavljajo le v medžilnih delih listov (Innes in sod., 2001).

Prednost občutljivih bioindikatorjev, kot je tobak 'Bel W₃' je v tem, da vpliv efektivno absorbirane doze ozona lahko direktno merimo. Klumpp in sod. (2006a, 2006b) so ugotavljali relativno majhne razlike v poškodovanosti (ozonske poškodbe) listov med mesti znotraj lokalne mreže poskusov, medtem ko so bile razlike med sezonami in leti

močno vzročno povezane s spremenljivostjo meteoroloških dejavnikov in z njimi povezanimi koncentracijami ozona. Ugotovili so še, da določena poskusna mesta kažejo linearno odvisnost med poškodbami na listih izpostavljenih tobakov in koncentracijami ozona, a pri drugih mestih ni ugotovljene nobene odvisnosti med ozonom in poškodbami.

Simptome vidnih poškodb zaradi ozona so zabeležili na čez 30 vrstah kmetijskih rastlin in 80-tih vrstah naravne vegetacije, do sedaj (Hayes in sod., 2007). Vidne poškodbe so beležili v 16 državah, ki predstavljajo vse regije Evrope, od severne do južne Evrope. V nekaterih primerih, so bili poškodovani vsi listi od ozona, kot na primer v Grčiji na polju čebule in 85% listov na polju lubenic v letih 1995 in 2004.

2.3.2 Diagnoza nevidnih poškodb

Preden poškodbe postanejo vidne, rastline reagirajo na okoljske strese z zapletenimi vzorci notranjih odzivov. Za zaščito vegetacije moramo opisati in predvideti poškodbe rastlin z natančnimi, objektivnimi meritvami, in s parametri, ki so dovolj občutljivi, reagirajo specifično in zanesljivo vodijo do poškodb. Kar nekaj fizioloških odzivov se uspešno uporablja v bioindikaciji zgodnjih ozonskih poškodb na rastlinah, čeprav se lahko izkažejo pri ločeni uporabi, da niso vedno dovolj specifični. Eden od problemov pri fizioloških odzivih je ločevanje antropogenega in naravnega vpliva izpostavljenih rastlin na prostem. Oba vključujeta podobne fiziološke procese. Druga težava pa je, da različne vrste rastlin reagirajo različno. Saxe (1996) je naredil pregled bioindikativnih metod, uporabljenih za diagnozo nevidnih poškodb. To so meritve fotosinteze in stomatalne prevodnosti, listni pigmenti, fluorescenca klorofilov, vsebnosti elementov (npr. žveplo, magnezij, aluminij...), vsebnosti metabolitov, aktivnost encimov, morfološke analize, spremembe ultrastrukture in histopatologija, genetske analize, mešane metode in multivariantne metode. Slednje zajemajo celo širše področje kot bioindikacija, njihov cilj je pridobiti znanje za razumevanje delovanja celotnega ekosistema (Kickert in Krupa, 1991; Emberson s sod., 2000a; Wieser in sod., 2000).

Ozon vpliva na metabolizem rastline na več ravneh in povzroča nepravilnosti v številnih fizioloških procesih, še pred nastankom vidnih poškodb. Posledica razgradnje klorofila a, glavnega fotosinteznega barvila, je motnja v fotosinteznem delovanju rastline (Pell in Brennan, 1973). Poleg razgradnje klorofila je lahko vzrok za zmanjšanje fotosinteze tudi oslABLJENO delovanje nekaterih fotosinteznih encimov (npr. ribuloze bifosfat karboksilaze pri rižu), motnje v transportu elektronov in zapiranje listnih rež. Ozon inhibira fotosintezo, poznani so posamezni primeri, ki so natančneje raziskani (Hassan in Tewfik, 2006; Francini in sod., 2007).

Francini in sod. (2007) so učinek ozona (200 ppb, 5 ur) na metabolno aktivnost NC-S (občutljivega) in NC-R (odpornega) klonu plazeče detelje 'Regal' preučevali ob koncu in po 24 urah zaplinjevanja z ozonom. NC-S je pokazal poškodbe na listih in permeabilnost membrane se je signifikantno povečala, kar je kazalo na poškodbe membrane. Nobenih sprememb ni bilo opaženih pri NC-R klonu. Po končanem tretiranju sta oba klonu zmanjšala sposobnost fiksacije CO₂. Pri NC-S je bil opažen močno negativen učinek na fotosintezno sposobnost v glavnem zaradi mezofilne omejitve. Fotosinteza je, ko je bil stres odstranjen, ponovno dosegla isto velikost. Z ozonom je bila povzročena fotoinhibicija. Med periodo obnavljanja je rahlo narasla vsebnost klorofilov a in b in karotenoidov pri NC-S (*ibid.*).

Posledica inhibicije fotosinteze je manjša sinteza ogljikovih hidratov. Vendar so pri nekaterih rastlinah po določenem času ugotovili več sladkorjev, kar je bila verjetno posledica zmanjšane translokacije in pretvorbe v ogljikove hidrate. Pri vrsti bora (*Pinus ponderosa* Lawson.) ozon povzroči naraščanje sladkorjev, škroba in fenolov v listih in njihovo zmanjšanje v koreninah. Sladkorji imajo morda pomembno vlogo kot čistilci prostih radikalov, ki nastanejo zaradi ozona, zato njihovo naraščanje lahko deloma nevtralizira fitotoksičen efekt (Malhotra in Khan, 1984). Proces respiracije je lahko stimuliran ali inhibiran. V primeru izpostavljenosti listov tobaka (*Nicotiana tabacum* L.) ozonu je prišlo do inhibicije v mitohondrijih (Lee, 1967). Medtem ko je pri fižolu (*Phaseolus vulgaris* L.) prišlo do stimulacije dihanja. Narasla je vsebnost ATP molekul (Malhotra in Khan, 1984).

Ravno tako so poznani primeri zmanjšanja in povečanja vsebnosti amino kislin po izpostavitvi rastlin ozonu. Ozon vpliva na metabolizem dušika z inhibicijo nitratne reduktaze. Biosinteza maščob je pod vplivom ozona inhibirana. Pomemben je njegov oksidativni mehanizem, s katerim vpliva na spremenjene lastnosti membran (Heath in Pacher, 1968).

Poleg klorofila so v rastlini prisotni še drugi pigmenti, na katere ozon vpliva. Karoteni so sposobni absorbirati sončno energijo in tako zmanjšati vzbujeno stanje klorofilov. Zato imajo dvojno vlogo: so pomožni lovilci svetlobe in ščitijo pred fotooksidacijo. Beta karoten ščiti klorofil a pred fotooksidacijo v reakcijskem centru fotosinteze in njegovi bližini, zato se njegova količina v rastlini poveča v primeru oksidativnega stresa. Pokazatelj oksidativnega stresa je tudi povečana vsebnost zeaksantina (ksantofilni rastlinski pigment), ki se tvori iz violaksantina (Stress responses in..., 1990). Razumevanje biokemičnih kazalnikov, ki zagotavljajo zaščito pred oksidativnimi poškodbami (npr. poškodbe od ozona in drugih onesnažil) je nujno potrebno za razvoj bolj odpornih rastlin glede na naraščajoče število okoljskih stresov (Yunus in Iqbal, 1996).

Zaradi delovanja ozona lahko pride do razpada kloroplastov in klorofila in to posledično pripelje do zmanjšanja rasti in pridelka rastlin, saj so fotosintati nujni za normalno rast (Heath, 1994). Motena je reproduktivna sposobnost, ki se pokaže z zmanjševanjem biomase cvetov in zmanjšani proizvodnji semen (Sanz in sod., 2007). Posledica vseh opisanih motenj v metabolizmu rastlin ima v kmetijstvu tudi gospodarsko-ekonomski učinek. Največji vpliv ozona na biomaso plazeče detelje uporabljene v ICP Vegetation programu so določili v južni Evropi, posebej še v Italiji in Grčiji, kjer je redukcija biomase čez 30% v določenih letih. Zmanjšanje biomase čez 10% so potrili v vzhodnem in zahodnem Mediteranu in kontinentalnem delu centralne Evrope. Tako velikih zmanjšanj v biomaso niso beležili v severni Evropi in centralni Evropi ob Atlantiku (Hayes in sod., 2007).

2.4 VPLIVI ZUNANJIH DEJAVNIKOV OKOLJA NA ODZIVNOST RASTLIN NA OZON IN DRUGA ZRAČNA ONESNAŽILA

Onesnažila se sprostijo iz vira onesnaženja, nato se disperzirajo (razpršijo) v atmosferi in transmitirajo (prenesejo) na določena mesta, kjer se njihova koncentracija imenuje imisija. Sprejem onesnažila v rastline je rezultat doze onesnažila in odziva rastline nanj, kar pa je odvisno od hitrosti vetra, temperature, svetlobe, zračne vlage, vrste rastline, starosti listov in drugih dejavnikov (Knabe, 1982).

Manning (2003) in Klumpp in sod. (2006a) ugotavljajo, da je dejanski fluks ozona v liste močno reguliran od različnih okoljskih dejavnikov, ki bolj kot koncentracije ozona določajo učinke na rastlinah. Absorbcija plinov in poškodbe so pogosto večje v svetlem delu dneva kot ponoči, kar je povezano z odpiranjem in zapiranjem listnih rež. Listne reže večine rastlin so ponoči zaprte, zato izpostavitve velikim koncentracijam ozona v tem času povzročajo manj poškodb na rastlinah je že leta 1970 ugotavljal Guderian. Študije z različnimi vrstami rastlin so pokazale, da občutljivost rastlin na ozon narašča z rastjo temperature od 3 do 30 °C (Dunning in sod., 1974; Shinohara in sod., 1973). Velike nočne in nizke dnevne temperature tudi povečajo občutljivost rastlina na ozon. Nad 30 °C je odziv rastlin na ozon običajno obraten. Relativna zračna vlaga vpliva na listni turgor in posredno tako na kontrolo odprtosti listnih rež in izmenjavo plinov iz okolja v rastline. Vstopanje zračnih onesnažil in poškodbe rastlin zato naraščajo z večanjem relativne zračne vlage. Pleijel (2000) ugotavlja, da kljub pogostim velikim koncentracijam ozona v Mediteranski regiji, poškodbe rastlin zaradi ozona niso tako velike kot bi pričakovali, ker prevzem ozona skozi listne reže ni tako velik zaradi suhe klime. Velissarios (1999) pa je prišel do zaključka, da so namakane rastline veliko bolj občutljive na poškodbe ozona kot druge. Tudi dlje časa trajajoča velika zračna vlaga povzroči anatomske in morfološke spremembe na listih, kar prav tako lahko poveča sprejem npr. ozona v rastlino. Rastline, ki rastejo ob majhni relativni vlagi, razvijejo debelejšo kutikulo na listih od tistih, ki rastejo v večji relativni vlagi (Rentschler, 1973) in zato postanejo manj občutljive na ozon. Rastline so najbolj občutljiveše na ozon pri relativno majhnih svetlobnih intenzitetah, zmernih temperaturah in veliki relativni zračni vlagi, kar je verjetno posledica odprtosti listnih rež pri omenjenih razmerah (Benton in sod., 1995). Sanz in sod. (2007) so ugotovili, da rastline progaste detelje (*Trifolium striatum*) pognojenje z dušikom kompenzirajo z ozonom povzročene učinke samo, ko so izpostavljene srednje veliki koncentraciji ozona (nefiltriran zrak), toda ne v primeru velikih koncentracij ozona (nefiltriran zrak plus 40 nl/l dodanega ozona glede na koncentracijo v zunanjem zraku).

2.5 METODOLOGIJE IN IZPOSTAVITVENE TEHNIKE ZA BIOINDIKACIJO OZONA

Občutljivostne reakcije rastlin za spremljanje (monitoring) kvalitete zraka so lahko zgodnji indikatorji za težave pri ljudeh. Uporaba organizmov v okolju, kjer organizmi živijo, imenujemo pasivni biomonitoring (bioindikacija), aktivni biomonitoring (bioindikacija) pa je izpostavitve testnih organizmov v testnem območju za določen čas v čisto specifičnih (standardiziranih) pogojih. Med metodama aktivnega in pasivnega monitoringa zato obstajajo velike razlike (Witting, 1993). V današnjem času bioindikacija pridobiva na pomenu, kar se kaže v njeni uporabnosti v politiki in zakonodaji kot enem izmed indikatorjev trajnostnega razvoja okolja (Kienzl in sod., 2003)

Poznanih je kar nekaj poskusnih tehnik, ki so bile uporabljene pri preučevanjih vplivov ozona na rastline. Celovit pregled tehnik in metodologij najdemo v člankih Saxe (1991) in Manning in Krupa (1992). Najbolj razširjena tehnika za poskuse ugotavljanja vplivov ozona na rastline je uporaba poskusnih komor brez pokrova (OTC – *Open Top Chamber*) (Hogsett in sod., 1985; Lepper, 1992; Nussbaum in sod., 1995; Biolley in sod., 1996; Sandermann in sod., 1997; Sanz in sod., 2007). Uporaba OTC-jev ne prevladuje samo v poskusih z ne-lesnatimi vrstami rastlin, temveč tudi pri drevesnih vrstah rastlin. Kar 45 % objavljenih del od leta 1990 do 1997 predstavlja rezultate poskusov, izpeljanih v OTC (Bortier in sod., 1999). V prej omenjenih člankih prevladujejo kot preučevane vrste z

rodov *Picea* in *Pinus* (> 45 % objavljenih del). V nekaterih študijah so uporabili tudi zaplinjevanje rastlin na prostem (OAF – *Open Air Fumigation*) (Wulff in sod., 1992; Sandermann in sod., 1997) in sistem na prostem z dodatnim zaplinjevanjem s CO₂ (FACE – *Free Air CO₂ Enrichment*) (Kimball, 1992; Idso in Idso, 1994; Kimball in sod., 2002).

Bolj stvaren približek k dejanskim razmeram rastlin v naravnem okolju je izpostavitvev poskusa na polju brez rastlinjakov. Vplivi ozona na polju se lahko ocenijo z meritvami odziva rastlin na različnih poskusnih mestih z različno velikimi izpostavitvami ozonu (Wieser in Havranek, 1994; Kopušar, 2003b; Hayes in sod., 2007). Neprekinjeno spremljanje ozonskih koncentracij in okoljskih spremenljivk je v takih primerih nujno potrebno (Bortier in sod., 1999). Alternativna možnost vključuje tudi uporabo primerjave različno odpornih kultivarjev na ozon (Pačnik, 1998; Pačnik in sod., 1999, Kopušar, 2003b) ter uporabo bioindikatorskih rastlin in zaščitnih kemikalij (Kuehler in Flagler, 1999; Pačnik in sod., 1999; Pačnik, 1998; Bienelli, 1997; Batič in sod., 1996a, 1996b, 1996c; Heagle in sod., 1995; Fagnano in Zoina, 1995; Kopušar, 2003b). Brennan in sod. (1990) so uporabili EDU (etilendiurea) raztopino za spremljanje odziva soje (*Glycine max* (L.) Merr.) na ozon v pogojih zunanje izpostavitve, enako so uporabili EDU Clarke in sod. (1990) za krompir (*Solanum tuberosum*), Kostka-Rick in Manning (1993) za fižol (*Phaseolus vulgaris* L.), pri podzemni detelji (*Trifolium subterraneum* 'Geraldton') Pihl Karlsson s sod. (1995) in Bienelli (1997) in Kopušar (2003b) za plazečo deteljo (*Trifolium repens*). V Kijevu v Ukrajini so v zunanjem zraku z uporabo podzemne detelje (*Trifolium subterraneum* 'Geraldton') testirali fitotoksičnost ozona in nekatere naravne in sintetične snovi, kot zaščito pred ozonom. Vse uporabljene substance so bile pri podzemni detelji le delno učinkovite pri zagotavljanju zaščite pred ozonom. Vodni ekstrakt iz listov rastlin, ki imajo flavonoidne-antioksidante kažejo šibkejšo zaščitno vlogo in so manj stabilni v zunanjih (poljskih) pogojih kot so sintetični antioksidanti. Med obravnavanimi naravnimi substancami so uporabili ekstrakt iz navadne bazilike in žametnice, ki sta bila bolj učinkovita zaščitnika pred ozonom kot ekstrakt iz muškatne kadulje (Blum in Didyk, 2007).

Pogosto se dogaja, da se na odprtem poskusnem polju določena vrsta bioindikatorja izkaže za neuspešno, čeprav se je v predhodnih laboratorijskih poskusih izkazala kot zelo uspešna in primerna. Vzrok je lahko, da bioindikatorska vrsta ni dovolj občutljiva za manjše imisijske koncentracije onesnažil v zunanjem okolju ali da ne reagira na enak način v zunanjih okoljskih razmerah (meteorološki dejavniki) kot v laboratorijskem okolju (Steubing, 1982).

2.6 PRIMARNA, SEKUNDARNA IN TERCIARNA RAVEN SPREMLJANJA ONESNAŽENOSTI ZRAKA Z OZONOM IN DRUGIMI ONESNAŽILI V SLOVENIJI

Kot primarno raven spremljanja zračnih onesnažil razumemo spremljanje količine emisij posameznih primarnih zračnih onesnažil v določenih obdobjih. Sekundarno raven predstavljajo meritve imisijskih koncentracij zračnih onesnažil (Kopušar, 2003b). Primarna in sekundarna raven spremljanja onesnaženosti zraka je zakonodajno regulirana s strani države Slovenije in Evropske unije. Terciarno raven predstavlja beleženje in vrednotenje učinkov zračnih onesnažil na organizmih, pri čemer se poslužujemo bioindikacijskih metod in organizmov bioindikatorjev. Bioindikacija lahko predstavlja nadgradnjo primarnim in sekundarnim meritvam onesnaženosti zraka, ki pa kot v mnogih drugih

državah tudi v Sloveniji ni zakonodajno regulirana. Le CLRTAP konvencija (Konvencija o prekomejnem onesnaževanju zraka na velike razdalje) nalaga obvezo vsem podpisnicam in tako tudi Sloveniji, da spremlja učinke zračnih onesnažil na organizme. Obvezo je Slovenija do sedaj posredno uresničevala le preko financiranja Agencije za raziskovalno dejavnost RS (ARRS) v obliki podpore posameznim aplikativnim raziskavam.

Biomonitoring mreže na mednarodni ravni, kot sta na primer ICP Forest (De Vries in sod., 2003) za lesnate rastline in ICP Vegetation za kmetijske in druge ne-lesnate rastline (Harmens in sod., 2004), imajo namen s standardiziranimi metodami bioindikacije ozona zbrati rezultate merjenih učinkov iz čimvečjega števila poskusnih mest, da bi na ravni cele Evrope lahko ovrednotili učinke onesnaženosti zraka z ozonom v kombinaciji z drugimi okoljskimi dejavniki na vegetacijo. Oba mednarodna programa, ICP Forest in ICP Vegetation, delujeta pod okriljem CLRTAP konvencije.

De Temmerman in sod. (2004) ugotavljajo, da so verjetno ravno pomanjkljivosti v standardizaciji bioindikacijskih metod eden glavnih razlogov, zakaj so biomonitoring tehnologije manj vključene v zakonodajo kot metode, ki temeljijo na fizikalno-kemijskih meritvah. Standardizacija metod je nujno potrebna za primerljive rezultatov med različnimi mesti in/ali različnimi leti. Prve nacionalne pobude za standardizacijo bioindikatorskih metod so bile dane v Nemčiji v Društvu nemških inženirjev (*Verein Deutscher Ingenieure*, 2003) in jih poznamo kot VDI – smernice. Prvi znani standardizirani sistem bioindikacije je bil narejen za laško ljuljko (*Lolium multiflorum*) v Nemčiji (Scholl in Rudolph, 1972) in je bil dokončno oblikovan v VDI-smernice leta 1978 in leta 2003 revidiran (VDI 3957/2, 2003). Poznamo tudi VDI-smernice za izpostavitve tobaka (VDI 3957/6, 2003; Klumpp in sod., 2006a, 2006b) ter še nekatere druge vrste rastlin (VDI 3792/5, 1991; VDI 3957/1, 1999; VDI 3957/3, 2000; VDI 3957/5, 2007; VDI 3799/1, 1995; VDI 3799/2, 2003).

V podpoglavju 2.7.1 smo skupaj predstavili primarno in sekundarno raven spremljanja onesnaženosti zraka z ozonom in drugimi za rastline pomembnimi onesnažili. V podpoglavju 2.7.2 pa smo predstavili tretjo raven, to so dosedanje raziskave v Sloveniji na področju spremljanja učinkov ozona in drugih zračnih onesnažil z bioindikatorskimi metodami.

2.6.1 Zakonodaja na področju onesnaženosti zraka

Pravni temelji varovanja okolja v Sloveniji temeljijo na Zakonu o varstvu okolja (Zakon o varstvu..., 2004; Zakon o varstvu..., 2006; Zakon o spremembah..., 2008).

V Goeteborgu na Švedskem je bil leta 1999 podpisan protokol o zmanjšanju zakisljevanja, evtrofikacije in prizemnega ozona (UNECE, 1999). Slovenija je sprejela vse obveznosti s »Protokolom o zmanjševanju zakisljevanja, evtrofikacije in prizemnega ozona h konvenciji iz leta 1979 o onesnaženju zraka na velike razdalje preko meja« (2003). Zakon o ratifikaciji protokola h Konvenciji iz leta 1979 o onesnaževanju zraka na velike razdalje preko meja glede nadzora nad emisijami dušikovih oksidov ali njihovih čezmejnih tokov (MPKOZV) je bil objavljen 2. decembra 2005. Protokol zahteva od pogodbenic občutno zmanjšanje emisij SO₂, NO_x, HOS in NH₃ do leta 2010. Slovenija bo morala v primerjavi s stanjem 1990 za 27 % oziroma 5 % zmanjšati emisije NO_x in HOS. Protokol med drugim v 6. členu (2. točka) navaja, da je vsaka pogodbenica dolžna zbirati in hraniti podatke o učinkih koncentracij v zunanjem zraku in usedlin žvepla, dušikovih spojin, hlapnih organskih spojin ter ozona na organizme (ljudi, živali, rastline) in materiale, v 8. členu pa

zavezuje pogodbenice k spodbujanju raziskav, spremljanju stanja in sodelovanju v zvezi z mednarodnim usklajevanjem metod izračunavanja in vrednotenja škodljivih učinkov, povezanih s snovmi, obravnavanimi v tem protokolu.

Evropska skupnost je izdala direktivo 2002/3/EC o ozonu. V slovensko zakonodajo so zahteve te direktive prenesene v Uredbi o ozonu v zunanjem zraku (2003). Ta določa alarmne, opozorilne, ciljne in dolgoročno naravnane vrednosti koncentracij ozona. Predpisane vrednosti so podane v preglednici 5. Opozorilna vrednost za ozon je $180 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in alarmna vrednost je $240 \mu\text{g}/\text{m}^3$ za enourno povprečje.

Določena je tudi mejna dovoljena koncentracija ozona za delovna mesta $0,2 \text{ mg}/\text{m}^3$ (po OSHA – *Occupational safety and health administration* – Urad za varnost pri delu in zdravju) (Likar, 1998).

Preglednica 5: Ciljne in dolgoročno naravnane vrednosti za ozon v Sloveniji (Vir: Uredba o ozonu..., 2003).
Table 5: Aspired and long-term oriented ozone values in Slovenia (Source: Uredba o ozonu..., 2003).

I. CILJNE VREDNOSTI ZA OZON		
	Parameter	Ciljna vrednost za leto 2010
Ciljna vrednost za varovanje zdravja ljudi	Največja dnevna 8-urna srednja vrednost	$120 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ne sme biti preseženih več kot v 25 dneh v koledarskem letu, izračunano kot povprečje v obdobju treh let
Ciljna vrednost za varstvo rastlin	AOT40 izračunan iz 1-urnih vrednosti v obdobju od maja do julija	$18.000 (\mu\text{g}/\text{m}^3)\cdot\text{h}$ kot povprečje v obdobju petih let
II. DOLGOROČNO NARAVNANE VREDNOSTI ZA OZON		
	Parameter	Dolgoročno naravnane vrednosti
Dolgoročno naravnana vrednost za varovanje zdravja ljudi	Največje 8-urna dnevna srednja vrednost v koledarskem letu	$120 \mu\text{g}/\text{m}^3$
Dolgoročno naravnana vrednost za varstvo rastlin	AOT40 izračunan iz 1-urnih vrednosti v obdobju od maja do julija	$6.000 (\mu\text{g}/\text{m}^3)\cdot\text{h}$

Cilje izboljšanja kakovosti zraka opredeljuje tudi Direktiva 2001/81/ES o zgornji meji nacionalnih emisij v zrak za določene snovi (direktiva NEC). Mejne emisije za Slovenijo v direktivi znašajo 27.000 t za žveplov dioksid (SO_2), 45.000 t za dušikove okside (NO_x), 40.000 t za nemetanske hlapne ogljikovodike (NMVOC) in 20.000 t za amonijak (NH_3), doseči pa jih moramo do leta 2010 (Uredba o nacionalnih..., 2005; Uredba o spremembi..., 2007). Obvladovanje in zmanjševanje emisij v zrak je cilj Nacionalnega programa varstva okolja (ReNPVO) (Resolucija o nacionalnem..., 2006), v okviru katerega deluje operativni program s to nalogo. Namen ReNPVO je zagotoviti boljšo kakovost zraka s postopnim zmanjševanjem emisij SO_2 , NO_x , HOC in NH_3 v zrak. Zaradi manjših izpustov bi bilo posledično manj troposferskega O_3 , zakisljevanja in evtrofikacije. Skupne emisije predhodnikov ozona (NO_x , NMVOC, CO, CH_4) so se v obdobju 1990-2005 v Sloveniji zmanjšale za 14 %, emisije iz energetskih virov pa za 17 % (Kazalci okolja v..., 2008a). Emisije NO_x in NMVOC so bile leta 2005 večje od ciljnih vrednosti za leto 2010. Zlasti emisije NO_x bodo problematične glede doseganja cilja, kar je razvidno iz trenda v zadnjih treh letih, to pa potrjujejo tudi projekcije emisij do leta 2020 iz Operativnega programa doseganja nacionalnih zgornjih mej emisij onesnaževal zunanjega zraka (Kazalci okolja v..., 2008a). Cilj za emisije NMVOC bo zaradi manjših emisij po oktobru 2007 lažje dosegljiv (Kazalci okolja v..., 2008a). V pripravi je revizija direktive 2001/81/ES. Revidirana direktiva bo postavila nove cilje za emisije SO_2 , NO_x , NMVOC,

NH₃ in PM_{2,5} za leto 2020. Ukrepe v zvezi z varovanjem zdravja ljudi v okolici naprav, ki kot nepremični viri onesnaževanja zaradi svojega obratovanja povzročajo onesnaževanje zunanjega zraka, ter ukrepe v zvezi z zagotavljanjem varstva ljudi in okolja pred škodljivim učinki onesnaževanja zunanjega zraka zaradi emisije snovi v zrak iz teh naprav določa Uredba o emisiji snovi v zrak iz nepremičnih virov onesnaževanja (2007).

Pravilnik o monitoringu kakovosti zunanjega zraka (2007) določa merila in metode merjenja ter druge tehnike ocenjevanja kakovosti zunanjega zraka zaradi zračnih onesnažil, za katera so določene mejne in alarmne oziroma ciljne vrednosti. Monitoring kakovosti zraka obsega vzpostavitev mreže stalnih vzorčevalnih mest za merjenje koncentracije onesnaževal v zraku, izvajanje neprekinjenega in občasnega vzorčenja in merjenja koncentracije onesnaževal v zraku na vzorčevalnih mestih, izvajanje občasnega vzorčenja in merjenja koncentracije onesnaževal na začasnih vzorčevalnih mestih z namenom izboljšanja prostorske ločljivosti ter potrjevanja modelskih izračunov in objektivnih ocen ter ocenjevanje kakovosti zraka na podlagi rezultatov meritev. Slovenija je razdeljena na območja glede na različne ravni onesnaženosti zraka (Sklep o določitvi območij..., 2003). Sklep o določitvi območij in stopnji onesnaženosti zaradi žveplovega dioksida, dušikovih oksidov, delcev, svinca, benzena, ogljikovega monoksida in ozona v zunanjem zraku (Sklep o določitvi območij..., 2003) določa dve poselitveni območji z več kot 100.000 prebivalci (Ljubljana, Maribor) in štiri območja onesnaženosti (Preglednica 6).

Preglednica 6: Območja onesnaženosti in raven koncentracij zračnih onesnažil na posameznem območju onesnaženosti v Sloveniji (Vir: Sklep o določitvi območij..., 2003).

Table 6: Polluted areas and the concentration levels of air pollutants in particular polluted areas in Slovenia (Source: Sklep o določitvi območij..., 2003).

Oznaka območja onesnaženosti	Obseg območja onesnaženosti	SO ₂	NO ₂	PM ₁₀	Pb	CO	Benzen	O ₃
SI 1	območje Pomurja in Podravja brez območja Mestne občine Maribor	5	2	2	5	5	5	1
SI 2 *	območje Koroške, Savinjske doline, Zasavja in Posavja	3	2	2	5	5	5	1
SI 2a	območje občin Velenje, Šoštanj in Šmartno ob Paki	1						
SI 2b	območje občin Trbovlje, Zagorje in Hrastnik	1						
SI 2c	območje občine Krško	1						
SI 3	območje Gorenjske, osrednje Slovenije in jugovzhodne Slovenije brez območja Mestne občine Ljubljana	5	2	2	5	5	5	1
SI 4	območje Goriške, Notranjsko-Kraške in Obalno-Kraške statistične regije	5	2	2	5	5	5	1
SI L	območje mestne občine Ljubljana	4	2	2	5	5	4	1
SI M	območje mestne občine Maribor	5	2	2	5	5	4	1

Kjer je:

- oznaka 1 za preseženo mejno vrednost ali vsoto mejne vrednosti in dopustnega odstopanja oziroma ciljno vrednost, če gre za ozon,
- oznaka 2 za koncentracijo med mejno vrednostjo in dopustnim odstopanjem,
- oznaka 3 za koncentracijo med zgornjim pragom za ocenjevanje in mejno vrednostjo,
- oznaka 4 med spodnjim in zgornjim pragom ocenjevanja in
- oznaka 5 pod spodnjim pragom ocenjevanja.

Glede ozona so vsa območja v Sloveniji v najslabšem kakovostnem razredu, saj koncentracije povsod, tudi na podeželju in v višjih legah, presegajo ciljne vrednosti.

Najbolj onesnaženo območje je Primorska zaradi transporta ozona iz Padske nižine ugotavlja Planinšek (2007). Glede žveplovega dioksida so območja občin Velenje, Šoštanj, Šmartno ob Paki, Trbovlje, Zagorje, Hrastnik in Krško pravtako v najslabšem kakovostnem razredu. Koncentracije dušikovega dioksida in prašni delci so na celotnem ozemlju Slovenije med mejno vrednostjo in dopustnim odstopanjem (preglednica 6).

V Sloveniji potekajo meritve ozadja onesnaženosti zraka (v nadaljnjem besedilu: meritve ozadja) na dveh vzorčevalnih/merilnih mestih, na vzorčevalnem mestu Iskrbi pri Kočevski Reki (Iskrba) in na merilnem mestu Krvavec. Vzorčevalni/merilni mesti se nahajata v neobremenjenem območju, proč od lokalnih virov onesnaženja, zato sta glede na izpostavljenost zračnim masam reprezentativna za širše področje. Namen meritev ozadja na vzorčevalnih/merilnih mestih v Sloveniji je predvsem pridobiti informacijo o stanju onesnaženosti zraka na širšem področju za zaščito okolja (narava, rastline, živali) in ljudi ter za potrebe študij daljinskega transporta. Vzorčevalni/merilni mesti z meritvami onesnaženosti zraka oziroma s podatki o koncentracijah onesnaževal v zraku delujeta v merilnih mrežah dveh mednarodnih programov, evropskem EMEP (*European Monitoring and Evaluation Programme*) in svetovnem WMO-GAW (*World Meteorological Organisation – Global Atmosphere Watch*). Glede na to, da slovenska zakonodaja ne predpisuje posebnih zahtev glede neavtomatskih meritev ozadja, le-te potekajo v skladu z zahtevami in priporočili omenjenih mednarodnih programov, evropskem EMEP v okviru CRLTAP (*Convention on Long-range Transboundary Air Pollution*) in svetovnem GAW preko WMO.

2.6.2 Bioindikacija zračnih onesnažil s poudarkom na ozonu – terciarna raven

Biomonitoring zračnih onesnažil z rastlinami je v uporabi že mnogo desetletij, prvi natisnjeni vir o škodi, ki jo je povzročil onesnažen zrak, pa je bil objavljen leta 1661 v John Evelynovi knjigi z naslovom »*Fumifugium*« (zbrano v De Temmerman in sod., 2004). Bioindikatorji ne zahtevajo vira elektrike in klimatsko kontroliran prostor za učinkovito uporabo, njihova prednost je tudi v specifični simptomologiji, ki odraža absorbirane koncentracije ozona, te pa niso nujno povezane z zunanji koncentracijami ozona, na to ima odločilen vpliv stomatalna prevodnost listnih rež (Manning, 2003).

Bioindikacijo ozona z občutljivimi kultivarji tobaka je v Sloveniji prvič izvedla raziskovalna ekipa s prof. Batičem. Leta 1991 so izpostavili različne kultivarje tobaka na 22 mestih v Sloveniji. Rezultati poskusa so pokazali, da pri nastanku značilnih poškodb na listih sorte tobaka 'Bel W₃' koncentracija ozona presega 50 ppb (Batič in sod., 1994, 1995b). Sledenje prisotnosti ozona v Sloveniji z različno občutljivimi sortami tobaka ('Bel W₃', 'Bel W_b', 'Bel W_c') (Batič in sod., 1995b) se je nadaljevalo s preučevanjem vplivov na gojene rastline, plazečo deteljo in druge vrste rastlin (Batič in sod., 1996a, 1996b, 1996c; 1997b; Bienelli, 1997; Pačnik, 1998; Jurkovnik, 2001; Džuban, 2002; Krivec, 2002; Kopušar, 1996, 1998, 2000, 2003a, 2003b; Kopušar in Savinek, 2001).

Bienellijeva (1997) je ugotavlja na Kovku v Zasavju velik vpliv ozona na rast in razvoj plazeče detelje (*Trifolium repens* 'Menna'), ugotovila je, da EDU spojina (etilendiurea) ni uspešno zaščitila rastlin pred ozonom. Podobni ugotovitvi navajata tudi Pačnikova (1998) za poskusni mesti Ljubljana in Iskrba pri Kočevju in Jurkovnikova (2001) za poskusni mesti Žalec in Ljubljana. Raziskave z odpornimi in občutljivimi kloni plazeče detelje (*Trifolium repens* 'Regal') sta izvedla Džuban (2002) in Krivec (2002). Džuban (2002) je na poskusnih mestih Ljubljana, Iskrba pri Kočevju in Rakičan pri Murski Soboti ugotovil

zmanjšanj pridelok pri občutljivem klonu plazeče detelje za 10 – 30 %; zmanjšanj pridelok zaradi ozona je ugotovila za poskusno mesto Zavodnje tudi Krivecova (2002).

Kopušarjeva (2003b) je spremljala na petih območjih v Sloveniji (Zavodnje, Kovk, Vnajnarje, Ljubljana in Iskrba) negativne vplive troposferskega ozona na kmetijske rastline z uporabo dveh različnih izpostavitvenih metod hkrati, to je z: (i) uporabo dveh različno odpornih klonov (NC-R in NC-S klon *Trifolium repens* 'Regal'); (ii) zaščito rastlin z uporabo antioksidanta EDU pri *Trifolium repens* 'Menna'. Ugotovila je, da so rezultati z dvema različno odpornima klonoma iste vrste boljši pokazatelji stresa zaradi ozona v naravnem okolju, zlasti na ravni pridelka in fizioloških odzivov. Ozonske poškodbe je evidentirala tudi na drugih vrstah rastlin kot so: soja (*Glycine max* (L.) Merr.), podzemna detelja (*Trifolium subterraneum* L.), sončnica (*Helianthus annuus* 'Arrowhead'), topolistna kislica (*Rumex obtusifolius* L.), gozdni slezenovec (*Malva sylvestris* L.), navadni regrat (*Taraxacum officinale* Weber in Wiggers), koruza (*Zea mays* L.), krompir (*Solanum tuberosum* L.). Kopušarjeva (2003b) je ocenila, da zaradi ozona v Sloveniji nastane 10 – 23 % izgub v pridelkih pri občutljivejših vrstah kmetijskih rastlin. Med drugim je Kopušarjeva (2003b) ugotovila še: (i) da med AOT40_{GSS>50W/m2} in razredi poškodovanosti občutljivega klona na ozon (NC-S klon) plazeče detelje 'Regal' obstaja pozitivna linearna odvisnost; (ii) da lahko pričakujemo pojav ozonskih poškodb 3. in 4. (srednje močne do močne poškodbe) razreda, ko je vsota AOT40_{GSS>50W/m2} večja od 1,87 ppm.h; (iii) da se odziv plazeče detelje 'Menna' in 'Regal' na velike ozonske koncentracije na biokemični ravni pokaže v manjši vsebnosti beta karotena in večji vsebnosti zeaksantina; (iv) da med klonoma plazeče detelje 'Regal' ni značilnih razlik v povprečnih vsebnostih askorbinske kisline in alfa tokoferola; (v) da imajo k manjšemu pridelku NC-S klona plazeče detelje 'Regal' glede na NC-R klon večji prispevek zmanjšanje biomase cvetov in ne toliko zmanjšanje biomase listov, stolonov in pecljev, katere rastlina uspešno nadomešča s tvorbo novih; (vi) da je zaradi dušika v obliki uree v EDU raztopini, uporaba te zaščitne kemikalije za raziskave vpliva ozona na rastline, fiksatorje atmosferskega dušika, sporna; (vii) da EDU uspešno preprečuje nastanek vidnih ozonskih poškodb na listih plazeče detelje 'Menna', nima pa vpliva na razlike v pridelku med EDU zalivanimi in nezalivanimi rastlinami.

Mikuževa (2004) je primerjala pri *Trifolium repens* 'Regal' različne vrste poškodb zaradi sesajočih žuželk s poškodbami, nastalimi zaradi ozona. Ugotovila je, da so le poškodbe, ki jih povzroča stenica *Halticus apterus* Linnaeus, tako po obliki kot tudi po velikosti še najbolj podobne poškodbam, povzročenim z ozonom. Poškodbe, ki so jih povzročile preostale preučevane žuželke na listih plazeče detelje 'Regal', so se precej razlikovale od poškodb od ozona. S primerjavo NC-R in NC-S klonov *Trifolium repens* 'Regal' so preučevali interakcijo med herbivori in občutljivostjo rastlin na ozon (Kopušar in sod., 2005). Tolerantnost rastlin na ozon, nima vpliva na afiniteto fitofagnih organizmov, kot so sesajoče in grizajoče žuželke, glive in virusi. Listi z ozonskimi poškodbami imajo manj pogosto poškodbe zaradi listnih zavrtačev; samice listnih zavrtačev pri odlaganju jajčec raje izberejo liste, ki nudijo kakovostnejšo hrano novo izleglim fitofagnim ličinkam (Kopušar in sod., 2005). Na velikost vizualnih poškodb zaradi žuželk in drugih patogenih organizmov na listih nimajo vpliva povprečne dnevne koncentracije ozona in drugih zračnih onesnažil (*ibid.*).

S citogenetsko bioindikacijo (v letih 1999-2001) je odziv šalotke (*Allium cepa* L. var *ascalonicum*) na ozon in druga zračna onesnažila spremljala Glasenčnikova (2004) na

petih območjih v Sloveniji. Batič in sod. (2005a, 2005b) menijo, da bi glede na prekoračene kritične vrednosti za ozon za vse tipe vegetacije na vseh mestih morala država Slovenija v okviru aktivnosti slovenskega nacionalnega okoljskega programa zagotoviti finančna sredstva za vsaj minimalno sledenje učinkov vseh pomembnejših zračnih onesnažil v okviru programa ICP Vegetation, katerega dejavnosti so v podporo CLRTAP konvenciji.

3 MATERIALI IN METODE

Spremljanje odziva rastlin na ozon in druga zračna onesnažila smo izvajali na treh prostorskih ravneh. Prvo raven predstavlja posamezno poskusno mesto (11 mest), drugo raven lokalno območje (Šaleška dolina - 9 mest; preglednica 7) in tretjo raven primerjava s termoenergetsko dejavnostjo obremenjenih območij v Sloveniji (Zasavje, Šaleška dolina, obrobje Ljubljanske kotline; preglednica 8).

Na teh obravnavanih termoenergetskih območjih je izpostavljen Analitično nadzorni alarmni sistem ekološkega informacijskega sistema (ANAS EIS) meritev zračnih onesnažil. V preteklosti je bil tukaj evidentiran tudi večji vpliv emisij lokalnih onesnaževalcev na imisijske koncentracije ozona (O_3), žveplovega dioksida (SO_2) in dušikovih oksidov (NO_x). Poleg kontinuiranih meritev zračnih onesnažil se na teh mestih merijo tudi nekatere druge okoljske spremenljivke (temperatura zraka, relativna zračna vlaga, smer in hitrost vetra). Poskusi so potekali še v Žerjavu v Mežiški dolini (Narodni dom in Matvoz), kjer kontinuiranih meritev zračnih onesnažil ni.

Za izračun trendov zračnih onesnažil s trendi odziva rastlin smo uporabili metodologijo ICP Vegetation mednarodnega programa (ICP – Vegetation Coordination Centre, 2002; preglednica 8). V Zavodnjah smo v okviru ICP Vegetation programa poskuse izvajali od leta 1996, v Vnajnarjah in Kovku od leta 1999 in v Žerjavu pri Narodnem domu od leta 2000 ter pri Matvozu od leta 2002. Na vseh teh poskusnih mestih smo imeli poskuse s sorto plazeče detelje *Trifolium repens* 'Regal' vse do leta 2005.

V poskusih v Šaleški dolini smo uporabili tobak 'Bel W₃' (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') po metodologiji, ki so jo razvili za EuroBionet projekt Klumpp in sod. (2000). EuroBionet projekt je bil financiran v okviru LIFE programa, zato je tudi ta metoda izpostavitve že dobro preizkušena. Poleg tobaka smo izpostavili na istih mestih še dve komercialno zanimivi vrsti kmetijskih rastlin, ki sta pogosto uporabljene v kmetijski pridelavi v Sloveniji. Izbrali smo plazečo deteljo 'Milka' (*Trifolium repens* 'Milka') in nizek rumenostročni fižol sorte Berggold (*Phaseolus vulgaris* 'Berggold'). *Trifolium repens* 'Regal' in *Nicotiana tabacum* 'Bel W₃' sta v svetu dobro znani bioindikatorski vrsti za spremljanje odzivov na ozon.

V Šaleški dolini je bilo šest poskusnih mest v neposredni bližini avtomatskih merilnih postaj (Analitično nadzorni alarmni sistem ekološkega informacijskega sistema TEŠ (EIS TEŠ)), kjer se merijo imisijske koncentracije žveplovega dioksida. Ostala tri mesta (Šmartno ob Paki, Lipje in Velenje – jezero) so bila izbrana na podlagi kriterijev kot so geografska lega, oddaljenost od virov predhodnikov ozona, namembnost oziroma raba prostora in smeri vetrov. V Šaleški dolini se samo na dveh mestih (Velenje - center in Zavodnje) izvajajo meritve koncentracij ozona. Poleg Velenja-center smo kot urbano mesto v statističnih obravnavanjih šteli še Šoštanj. V ruralnem okolju so mesta Graška gora, Topolšica, Veliki Vrh, Lipje in Šmartno ob Paki. Velenje – jezero je tik ob mestnem okolju in smo ga v nalogo vključili zaradi rabe prostora v rekreacijske namene, kot so hoja, tek, plavanje in ribištvo. Zaradi povečane fizične aktivnosti ljudi na tem območju (še zlasti v lepem vremenu) je izpostavljenost ljudi ozonu lahko toliko večja. Poskusna mesta so bila na različnih nadmorskih višinah, od 310 m do 800 m (preglednica 7).

Preglednica 7: Osnovni geografski podatki o poskusnih mestih na območju Šaleške doline (ANAS EIS-Termoelektrane Šoštanj (TEŠ) po EuroBionet metodi izpostavitve.

Table 7: Basic geographical data on experiment sites in the area of the Šalek Valley (ANAS EIS – Šoštanj Thermal Power Plant (TEŠ)) where the EuroBionet exposure method was used.

Poskusna mesta	Zračna razdalja od TEŠ (m)	Lega TEŠ glede na poskusno mesto	Nadmorska višina (m)	Gauss-Krügerjeve koordinate	
				X	Y
TEŠ	0	/	360	504418	136530
ZAVODNJE	7400	jugovzhodna	750	500166	142610
VELIKI VRH	2540	severovzhodna	556	503540	134129
ŠMARTNO OB PAKI	5150	severovzhodna	310	503174	131533
GRAŠKA GORA	7283	jugozahodna	800	509888	141349
ŠOŠTANJ	500	južna	365	504623	136981
VELENJE – center	4742	severozahodna	400	508972	135218
VELENJE – jezero	3491	zahodna	410	507894	136548
LIPJE	8177	severozahodna	470	512356	134632
TOPOLŠICA	4240	jugovzhodna	380	501757	139867

Preglednica 8: Geografska lega poskusnih mest po ICP Vegetation metodi izpostavitve in vrste meritev avtomatskih merilnih postaj.

Table 8: Geographical position of the experiment sites where the ICP Vegetation exposure method was used, and types of automatic measuring stations.

Merilna postaja	n.v. (m)	GKKx	GKKy	T (°C)	SV	HV (m/s)	RV (%)	SO ₂	O ₃	NO _x	NO ₂
								(µg/m ³)			
KOVK – Zasavje (EIS TET: EIMV)	600	510936	550880	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
ZAVODNJE – Šaleška dolina (EIS TEŠ: EIMV)	770	514268	550025	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
VNAJNARJE – obrobje Lj. kotline (MOL: EIMV)	630	510088	547460	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	/
ŽERJAV: Narodni dom in Matvozov vrh – Mežiška dolina				/	/	/	/	/	/	/	/

Legenda: EIS – Ekološko informacijski sistem; TET – Termoelektrarna Trbovlje; TEŠ – Termoelektrarna Šoštanj; MOL – Mestna občina Ljubljana; EIMV – Elektroinštitut Milana Vidmarja Ljubljana; n.v. – nadmorska višina; GKK – Gauss-Krügerjeve koordinate; T – temperatura zraka; SV – smer vetra; HV – hitrost vetra; RV – relativna zračna vlaga.

3.1 OPISI IZBRANIH OBMOČIJ IZVAJANJA POSKUSOV

3.1.1 Šaleška dolina z okolico (Zavodnje, Šoštanj, Velenje, Lipje, Šmartno ob Paki, Graška Gora, Veliki Vrh, Topolšica)

Šaleška dolina predstavlja svet med Smrekovcem in Paškim Kozjakom, med Ložniškim gričevjem ter vzhodnimi Karavankami (Šalej, 1999). Ima zmernocelinsko podnebje in spada v osrednjoslovensko klimatsko območje. Za ta tip podnebja je tipično, da se v najhladnejšem mesecu povprečna temperatura giblje med 0 °C in –3 °C, v najtoplejšem pa

med 15 °C in 20 °C, povprečna letna temperatura je 9 °C. Značilen je subkontinentalni padavinski režim in povprečna letna količina padavin med 1100 in 1400 mm. Poletja v Šaleški dolini so zmerno topla, zime pa mrzle. Dolino pred mrzlimi vetrovi s severa varuje hribovito obrobje Karavank (Ogrin, 1996).

Krajevno najbolj spremenljiva faktorja zaradi odvisnosti od konfiguracije terena sta smer in hitrost vetra. Vendar prevladujejo vetrovi v smeri severozahod – jugovzhod, kar se ujema s smerjo osi doline. Pri tem je veter v dolini najšibkejši, z višino se krepi. Krajevno kroženje zraka je najbolj značilno nad Šoštanjem (Šalej, 1999). Največ dni z meglo je jeseni in pozimi. V tem času je v Šaleški dolini pogosta temperaturna inverzija. Ugotovili so dve inverzijski območji: prizemna temperaturna inverzija ter višje subsidenčna temperaturna inverzija. Višina prizemne temperaturne inverzije se običajno giblje med 360 in 460 m n. v. in ščiti dno doline pred onesnaženim zrakom, saj so dimniki TEŠ visoki 100, 150 in 230 m. Zgornja subsidenčna inverzija je na nadmorski višini 750 do 1000 m, ki zapre pot dimnim plinom iz TEŠ, tako da se ti kopičijo pod vrhom plasti zraka s temperaturno inverzijo in se nato s pobočnimi vetrovi pomikajo navzdol proti dnu doline, ki ga zaradi prizemne inverzije ne dosežejo. Značilna je lokalna cirkulacija zraka, pobočni vetrovi pihajo ponoči navzdol in podnevi navzgor.

Glavni točkovni vir primarnih zračnih onesnažil v Šaleški dolini in njeni okolici predstavlja Termoelektrarna Šoštanj (TEŠ), ki proizvede za Jedersko elektrarno Krško največ električne energije v Sloveniji. V letu 2006 je TEŠ proizvedla 28,6 % slovenske električne energije in od leta 1956 do 2006, za proizvodnjo električne energije TEŠ pokurila 145.325.615 ton velenjskega premoga – lignita (BiTEŠ 2006). V preglednici 9 so prikazane emisije iz TEŠ, količina porabljenega premoga in proizvodnja električne energije v obdobju od 1980 do 2006.

V Sloveniji so se emisije SO₂ na proizvedeno električno energijo v največji meri zmanjšale zaradi namestitve razžveplalnih naprav na bloku 4 (1995) in 5 (2001) TEŠ. Dodatno je k zmanjšanju emisij SO₂ prispevala občasna priključitev blokov 1 – 3 TEŠ na razžveplalno napravo bloka 4 (2002) (Kazalci okolja v..., 2008b). Zmanjševanje emisij NO_x na proizvedeno energijo je manj uspešno (-19 %). V glavnem je posledica izvedbe ukrepov zmanjšanja emisij NO_x z rekonstrukcijo kurilnega sistema bloka 4 TEŠ (1992) in izvedbo primarnih ukrepov na bloku 5 TEŠ (2003). V prihodnje se bo intenzivnost v smeri zmanjševanja NO_x še povečala. Zmanjšanje emisij ogljikovega dioksida (CO₂) je posledica izboljšanja izkoristka proizvodnje obstoječih naprav. TEŠ je na 61. mestu med stotimi največjimi termoenergetskimi objekti v EU27 po emisijah NO_x (Barrett in Holland, 2008).

V Šaleški dolini se v okviru ekološkega informacijskega sistema (EIS) TEŠ redno spremljajo koncentracije zračnih onesnažil na osmih stalnih merilnih mestih (Šoštanj, Topolšica, Zavodnje, Graška gora, Velenje, Veliki Vrh, Pesje in Škale). Vplivno območje TEŠ je zaradi emisij iz TEŠ najbolj obremenjeno z žveplovim dioksidom, koncentracije ostalih onesnažil (tudi ozona) pa so primerljive s koncentracijami na podobnih območjih v Sloveniji (BiTEŠ, 2006). Občine Velenje, Šoštanj in Šmartno ob Paki so uvrščene glede na onesnaženost z SO₂ in ozonom v razred 1, kar predstavlja največjo stopnjo onesnaženosti (Sklep o določitvi območij..., 2003).

Preglednica 9: Emisije iz TEŠ, količina porabljenega premoga in proizvedena električna energija v obdobju 1980–2006 (BiI TEŠ, 2006).

Table 9: Emissions from the Šoštanj Thermal Power Plant, amount of coal used and amount of electrical energy produced in the period 1980–2006 (BiI TEŠ, 2006).

Leto	Elektrika (MWh)	Premog (t)	SO ₂ (t)	NO _x (t)	CO (t)	CO ₂ (t)	Prah (t)
1980	3.511.683	4.032.561	89.168	10.322	521	4.084.055	3.151
1981	4.127.072	4.791.563	97.599	11.808	647	4.695.472	3.419
1982	4.170.014	4.975.633	118.124	11.832	619	4.750.702	4.980
1983	4.467.065	5.244.070	123.382	12.221	647	4.931.174	3.741
1984	3.955.766	4.649.297	105.166	10.936	581	4.402.365	3.617
1985	3.703.913	4.563.274	107.021	10.630	553	4.262.893	3.343
1986	3.811.079	4.617.161	106.645	10.809	560	4.342.170	3.630
1987	3.032.540	3.720.927	82.690	9.135	485	3.659.247	2.550
1988	3.464.098	4.180.618	97.402	9.804	507	3.945.283	3.161
1989	3.308.736	3.901.697	93.630	10.360	545	4.054.472	4.604
1990	3.433.551	3.909.290	92.964	12.389	507	3.782.023	5.731
1991	2.928.942	3.393.968	80.390	11.057	440	3.142.725	7.495
1992	3.327.908	3.769.382	79.988	9.009	505	3.587.029	6.085
1993	3.414.135	3.920.132	86.101	9.770	523	3.731.473	8.121
1994	3.237.233	3.617.408	80.516	9.483	484	3.434.461	4.917
1995	3.288.014	3.647.368	51.663	10.025	761	3.581.956	2.765
1996	3.182.124	3.594.074	51.804	10.154	626	3.287.774	1.845
1997	3.565.017	4.043.530	53.093	11.572	739	3.698.747	2.377
1998	3.681.289	4.105.638	55.053	11.963	734	3.821.570	2.316
1999	3.307.712	3.726.093	47.665	9.096	589	3.334.732	1.077
2000	3.453.379	3.717.714	44.253	10.379	541	3.540.040	460
2001	3.784.525	3.981.257	18.071	11.403	693	3.887.053	467
2002	4.146.288	4.210.130	22.871	12.779	931	4.740.476	632
2003	3.951.564	3.934.502	13.334	10.936	1.033	4.366.652	480
2004	4.044.140	4.022.626	7.951	8.877	1.300	4.536.876	419
2005	4.138.660	3.871.295	10.341	9.054	1.236	4.622.632	332
2006	4.268.949	3.863.167	6.190	9.130	1.394	4.662.431	158
Skupaj	98.705.396	110.004.375	1.823.075	284.933	18.701	109.268.417	81.873
Povprečje	3.655.755	4.074.236	67.521	10.553	693	4.046.978	3.032

V Velenju so AOT40 vrednosti v obdobju 4 let trikrat presegale vrednost 18.000 $\mu\text{g}/\text{m}^3\cdot\text{h}$ (ciljna vrednost za zaščito vegetacije in je zastavljena za povprečje obdobja petih let). Leta 2003 je bila vrednost AOT40 56.553 $\mu\text{g}/\text{m}^3\cdot\text{h}$, leta 2004 17.510 $\mu\text{g}/\text{m}^3\cdot\text{h}$, leta 2005 19.786 $\mu\text{g}/\text{m}^3\cdot\text{h}$ in leta 2006 51.790 $\mu\text{g}/\text{m}^3\cdot\text{h}$. Število dni s preseženo ciljno vrednostjo za ozon v Velenju (od 1997 do 2006), ko je največja povprečna 8-urna drseča vrednost več kot 120 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (letna mejna vrednost znaša 25 dni) je bilo največje leta 2003 (87 dni) in leta 2006 (66 dni); najmanjše pa leta 1997 (0 dni) in leta 2001 (1 dan). Opozorilne vrednosti za ozon (največja urna vrednost več kot 180 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) so bile v Velenju prekoračene največkrat leta 2006 (6 dni) in 2005 (5 dni), v drugih letih opozorilne vrednosti niso bile prekoračene oziroma so bile prekoračene največ en dan (Planinšek, 2007). V preglednici 10 so predstavljene srednje letne imisijske koncentracije za žveplov dioksid (SO₂), dušikove okside (NO_x) in ozon (O₃). Najdaljši niz meritev koncentracij zračnih onesnažil v Šaleški dolini obstaja za lokacijo Zavodnje.

Preglednica 10: Pregled srednjih letnih koncentracij SO₂, O₃, NO_x in NO₂ (µg/m³) na merilnih mestih TEŠ v Šaleški dolini v obdobju 1992–2006 (BiTEŠ, 2006).

Table 10: Average annual concentrations of SO₂, O₃, NO_x and NO₂ (µg/m³) observed at TEŠ measurement sites in the Šalek Valley in the period 1992–2006 (BiTEŠ, 2006).

	Leto	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	
Žveplov dioksid (SO ₂)	Šoštanj	51	41	29	34	29	44	42	52	50	38	24	13	11	8	
	Topolšica	55	34	20	20	18	20	17	18	11	14	16	6	5	4	
	Zavodnje	47	49	26	33	42	43	42	31	20	19	15	8	12	7	
	Graška gora	47	50	27	28	36	32	32	34	15	16	10	6	6	6	
	Velenje	20	13	6	10	11	10	10	7	5	7	8	6	4	5	
	Veliki Vrh	58	53	49	57	53	63	72	56	51	51	45	30	33	20	
	Pesje	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	15	7	6	4
	Škale	-	-	-	-	-	-	-	16	19	11	12	12	8	8	3
	Mobilna postaja	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	7	5	6
Ozon (O ₃)	Zavodnje	79	78*	71	66	72	72	64	58	75	66	78	64	75	76	
	Velenje	-	-	-	-	35	43	41	38	39	53	55	43	46	54	
	Mobilna postaja	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51	69	
NO _x	Zavodnje	6	13	9	5	7	7	6	7	4	6	6	5	3	3	
	Škale							8	8	5	14	8	9	5	8	
NO ₂	Zavodnje	6	14	10	6	9	8	7	9	5	8	7	7	5	5	
	Škale							9	9	7	16	11	10	6	10	

Onesnažen zrak posledično vpliva tudi na zakisanost padavin. Časovni pregled kislosti padavin od leta 1988 dalje nakazuje zakisovanje padavin. Padavine so najbolj kisle na obrobju Šaleške doline (Veliki Vrh - pH 3,6; Zavodnje - pH 3,9) (Svetina, 1998).

Zaradi problema z onesnaženostjo zraka v Zavodnjah oziroma v Šaleški dolini so se na tem območju že v preteklosti začele intenzivne raziskave vplivov onesnaženega zraka na organizme z metodami bioindikacije. Območje Zavodnjah porašča gozdna združba Luzulo albide - Fagetum (Meusel, 1973), ki je acidofilni gozd bukve in belkaste bekice na silikatu (Marinček in Čarni, 2002). Toda po zaslugi človeka je v Zavodnjah smreka prevladujoča drevesna vrsta, zato so v Zavodnjah od leta 1987 naprej ravno na tej drevesni vrsti naredili največ raziskav o vplivih onesnaženosti zraka.

Kolar je navajal leta 1988, da območje Zavodnjah po popisu poškodovanosti gozdov spada v najvišji, četrti razred poškodovanosti. Največji oksidativni stres pri smreki (*Picea abies* (L.) Karst.) na osnovi biokemijskih analiz iglic na vplivnem območju TEŠ je bil določen v Zavodnjah in Lajšah (Ribarič Lasnik, 1996). Vzrok se pripisuje velikim, dlje časa trajajočim koncentracijam SO₂ in O₃ v kombinaciji s pomanjkanjem hranil. Kot zunanji pokazatelj največjega oksidativnega stresa se kaže v največjem odstotku osutosti in največjim indeksom osutosti pri smreki (Ribarič Lasnik, 1996; Batič in sod., 1995a). Batič in sod. (1994) so v raziskavah bioindikacije ozona s tobakom (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') ugotavil, da je največja stopnja poškodovanosti listov tobaka bila na poskusnih mestih Zavodnje in Veliki vrh pri Šoštanju. Al Sayegh Petkovšek (1996) je ugotavila, da je

mikorizni potencial gozdnih tal v Zavodnjah manjši v primerjavi z Mislinjskim grabnom, kar se odraža v manjšem številu kratkih korenin semenk smreke v lončnem poskusu. Vsebnosti rastlinskega pigmenta zeaksantina v semenkah smreke, ki so rasle v substratu iz Zavodnej so bile velikokrat pod mejo določitve, kar lahko pomeni, da je bila zmanjšana sposobnost kloroplastov, da bi opravljali svojo funkcijo, saj zeaksantin sodeluje v popravljalnih mehanizmih znotraj kloroplasta. Vsebnosti askorbinske kisline kot antioksidativne molekule v iglicah smreke se povečujejo od leta 1993 naprej in je v letu 2000 dosegla povprečno že 7,22 mg/g SS. Povečana obrambna sposobnost in vitalnost smreke je nedvomno posledica ugodnejših klimatskih razmer in zmanjšane emisije iz TEŠ po letu 1995 (Ribarič Lasnik, 2001). Al Sayegh Petkovškova in sod. (2008) so stanje gozdnega ekosistema ocenjevali na osnovi fizioloških pokazateljev stresa (fotosintetski pigmenti, askorbinska kislina, alfa-tokoferol, vodotopni tioli, celokupna vsebnost žvepla). V ta namen so vzorčili smreko (*Picea abies* (L.) Karsten) na stalnih vzorčnih mestih na imisijskem območju TEŠ (Lajše, Topolšica, Laze, Veliki Vrh, Graška Gora, Zavodnje, Brneško sedlo, Kramarce, Kope, Smrekovec) in primerjalno na Pokljuki. Glede na skupno vsebnost žvepla v iglicah smrek so lokacijo Veliki Vrh uvrstili v 4. razred z največjimi vsebnostmi žvepla, lokacijo Lajše, Topolšica in Zavodnje pa v 3. razred. Obremenjenost okolja z SO₂ se je po izgradnji čistilnih naprav v TEŠ zmanjšala in Al Sayegh Petkovškova in sod. (2008) ugotavljajo, da so se vsebnosti žvepla v iglicah zmanjšale in da so se parametri vitalnosti dreves povečali. Med 5 območji (Šaleška dolin, Mežiška dolin, Zasavje, Ljubljanska kotlina in Iskrba na Kočevskem) v Sloveniji je Glasenčnikova (2004) potrdila značilne razlike glede vplivov genotoksičnosti okolja na šalotko (*Allium cepa* var *ascalonicum*) in med manj obremenjene uvrstila Ljubljansko kotlino in tudi širšo Šaleško dolino z izjemo Velikega Vrha.

V rogovju srnjakov uplenjenih v Šaleški dolini v obdobju 1961 – 2006 je Pokorny ugotovil izrazit in kontinuiran upad vsebnosti Pb in fluoridov s časom. Soodvisnost med letnimi emisijami onesnažil iz TEŠ in povprečnimi letnimi vsebnostmi Pb oziroma fluoridov v rogovju potrjuje, da imajo sanacijski ukrepi na TEŠ pozitiven učinek na manjšo obremenjenost življenske združbe v kopenskih ekosistemih Šaleške doline (Pokorny, 2006; Pokorny in sod., 2004, 2007). Po izgradnji čistilne naprave na TEŠ, Pokorny (2003) ugotavlja upad asimetrije rogovja srnjakov.

Analiza širin branik preživelih dreves na ploskvah bliže TET in TEŠ je pokazala, da so bile branike v obdobju največjega onesnaževanja znatno ožje kot tiste na manj vplivanih lokacijah ugotavljata Levanič in Slapnik (2006). Proizvodna sposobnost rastišč ni izkoriščena, drevesa so v konstantnem stresu, na dodatne okoljske strese se odzivajo občutljiveje kot drevesa zunaj vplivnega območja, normalizacija rasti po nastopu ugodnih ravnih razmer pa je daljša. Po namestitvi odžvepljevalnih čistilnih naprav v TEŠ so se razmere za rast dreves v okolici termoelektrarne izboljšale, kar se kaže tudi v postopoma vedno manjših razlikah med rastjo dreves na vplivnih in manj vplivnih območjih. Izboljšanje rasti prizadetih dreves je bolj izrazito v okolici TEŠ kot v okolici TET (Levanič in Slapnik, 2006; Poličnik in sod., 2008b).

Poličnikova (2008) je ugotovila soodvisnost med emisijami SO₂ iz TEŠ in vsebnostmi Pb v steljki lišajev, izpostavljenih v Šaleški dolini, ter med koncentracijami SO₂ v zraku in vsebnostmi As v steljkah lišajev. S popisi lišajev je ugotovljeno, da se v Šaleški dolini in tudi na vplivnem območju TEŠ ne pojavljajo lišajske praznine in je lišajska vegetacija ohranjena do te mere, da je mogoče določiti na posameznih lokacijah 4 različne razrede

kakovosti zraka (Poličnik, 2008; Poličnik in sod., 2008a). V Šaleški dolini, natančneje v Zavodnjah, so koncentracije ozona tolikšne, da presegajo mejno vrednost določeno za zaščito vegetacije, skozi vso vegetacijsko sezono, zato se ozonske poškodbe na listih bioindikatorskih rastlin pričakovano pojavljajo od začetka do konec poletja, ugotavlja Kopušarjeva (2003b).

3.1.2 Zasavska regija z okolico (Kovk)

Zasavska regija leži v osrčju največje slovenske pokrajine, to je Posavskega hribovja, na skrajnem jugovzhodu Savinjskih alp in hkrati tudi v osrčju Slovenije. Pokrajina ima zmerno celinsko podnebje. Povprečna letna temperatura se giblje med 8 in 10 °C, v najvišjih predelih med 6 in 8 °C. Najtoplejši mesec je julij, ko se ozračje ogreje v povprečju do 19 °C. Najhladnejši mesec je januar, ki komaj seže pod ledišče (-1 °C). Količina padavin se giblje med 1200 in 1300 mm. Najbolj namočen je junij s 140 do 160 mm dežja (Slovenija - pokrajine in ljudje, 1998). Zasavje sestavljajo tri ozke, med sabo povezane doline, v katerih je prevetrenost majhna.

Zasavje predstavlja že vrsto let eno izmed najbolj onesnaženih območij v Sloveniji (Šušteršič in sod., 1997). Največje premikanje zračnih mas je v smeri vzhod – zahod, ki jo narekuje relief. V tej smeri namreč poteka ozka savska dolina. Zrak se ponavadi steka v smeri reke Save. Proti savski dolini odteka zrak iz stranskih dolin. V ozkih savskih dolinah prevladujejo šibki vetrovi, pogosti so temperaturni obrati. Ob razkroju inverzije se zrak dvigne in razprši v smeri vetra, ki piha nad dolinami. V višjih legah veter običajno piha s severozahoda, severa in zahoda ter v teh smereh odnaša emisije Termoelektrarne Trbovlje, ki se dviga ob razpadu temperaturnih obratov. V Trbovljah so že leta 1904 zgradili rudniško električno centralo za pokrivanje potreb po električni energiji pri pridobivanju rjavega premoga (Lenarčič, 1998; cit. iz Levanič in Slapnik, 2006). Tedanja termoelektrarna je v tistem času veljala za najvišji tehnični dosežek na področju proizvodnje termoenergije. Z naraščanjem potreb po električni energiji so elektrarno leta 1915 preselili na lokacijo ob reki Savi, nato pa leta 1933 in 1939 razširili in povečali moč. Prvotna elektrarna je obratovala vse do leta 1968, ko je njena skupna toplotna moč dosegala skoraj 60 MW. V letu 1968 so zagnali novo termoelektrarno z močjo 125 MW.

Zaradi prenizkih dimnikov je začelo propadati rastje v okolici. Rešitev naj bi bila izgradnja 365 m visokega dimnika (največjega v Sloveniji) v letu 1976. Z izgraditvijo tega dimnika se je stanje v bližnji okolici izboljšalo, vendar so se emisije začele prenašati na širšo okolico. Leta 2001 je bilo s strani Ministrstva za znanost in tehnologijo RS in Ministrstva za okolje in prostor RS ter štirih zasavskih občin (Hrastnik, Radeče, Trbovlje in Zagorje) narejena raziskava, ki daje pregledno sliko o onesnaženosti okolja v Zasavju (Ribarič-Lasnik in sod., 2001). Najpomembnejša zračna onesnažila v Zasavju so žveplov dioksid, dušikovi oksidi, prah in organske spojine. Visoke emisije žveplovega dioksida in drugih zračnih onesnažil iz TET in drugih industrijskih dejavnosti v Zasavju (steklarna, cementarna, kemična tovarna) so izredno obremenile okolje in povzročile močne poškodbe okolne vegetacije. Leta 1971 so poškodovani gozdovi segali od Zagorja do Brega pri Sevnici in skoraj do vrha Huma, poškodovanih je bilo prek 5000 ha gozdov (Ribarič-Lasnik in sod., 2001). Emisijske koncentracije žveplovega dioksida v zadnjih desetih letih padajo, toda emisijske koncentracije SO₂, NO_x in CO₂ iz TET kažejo na povečan trend. Vzrok velikih emisij in imisij SO₂ so kisle padavine, ki imajo na rastline direkten vpliv (Ribarič-Lasnik in sod., 2001; Pačnik in Bienelli-Kalpič, 2001). V začetku devetdesetih so

bile srednje letne koncentracije SO₂ v Zasavju med najvišjimi v Sloveniji. Od leta 2004 naprej pa ne presegajo več predpisane letne mejne vrednosti 20 µg/m³. Trend njihovega zmanjševanja je posledica postopnega ukinjanja individualnih kurišč, prehoda na druge energente pri ogrevanju, ukrepov v energetiki in zmanjšanja vsebnosti žvepla v gorivih. V zadnjem obdobju sta bili v Zasavju zgrajeni dve pomembni čistilni napravi za SO₂. Obe delujeta na principu mokrega izločanja SO₂ iz dimnih plinov, s čimer ob že vgrajenih filtrih za čiščenje trdnih delcev iz dimnih plinov še posredno prispevata tudi k zmanjšanju emisij prahu. Njun vpliv na kakovost zraka bo v uradnih podatkih ARSO mogoče spremljati v naslednjih letih (Elektro inštitutu Milan..., 2008). Merilno mesto imisij Kovk leži vzhodno od Zagorja, Trbovelj in Hrastnika. Roža onesnaženja za SO₂ v letu 1999 in 2000 kaže, da iz smeri zahod prihaja največji del onesnaženja s SO₂ (Bole in Kucovan, 2001).

Na obravnavanem območju opazno izginjajo lišajске vrste je ugotavljala Vidergar Gorjup (1998). Da velik problem predstavljajo tudi težke kovine (kadmij, svinec, cink, živo srebro), ki se prenašajo z zračnimi masami opozarjajo Ruprecht (2001), Pačnik in Bienelli-Kalpič (2001), Pokorny (2000). Beričnik Vrbovšek (2001) opozarja na velike koncentracije fluoridov. Prizadetost gozdnega ekosistema na tem območju se kaže tudi v biokemijskih parametrih: zmanjšana vsebnost fotosintezno aktivnih pigmentov, povečana vsebnost askorbinske kisline kot antioksidanta v celicah, povečana vsebnost vodotopnih tiolov (Ribarič-Lasnik in sod., 2001; Pačnik in Bienelli-Kalpič, 2001). Posledica multiplega stresa je večja osutost dreves, kar dokazujejo popisi osutosti krošenj, ki jih je v letu 2000 opravil Gozdarski inštitut Slovenije. O vplivih fotooksidantov zlasti ozona na zmanjšanj pridelek kmetijskih rastlin v Zasavju, na poskusnem mestu Kovk, pa opozarjajo Batič in sod. (1996a, 1996b), kasneje Bienellijeva (1997), Bienellijeva in Orešnikova (1999) in Kopušarjeva (2003b). Močnejši genotoksičen vpliv onesnažil na šalotko (*Allium cepa* var *ascalonicum*) ugotavlja Glasenčnikova (2004) za Zgornjo Mežiško dolino in Zasavje. Vidergar-Gorjup in Batič (1999) sta z izvorno slovensko gozdarsko metodo za ugotavljanje poškodovanosti gozdov in češko metodo za ugotavljanje poškodovanosti in razvejitve iglic raziskovala stopnjo poškodovanosti smreke v Zasavju na desetih izbranih vzorčnih ploskvah. Glavni kriteriji za določitev poškodovanosti dreves po slovenski metodi so osutost krošenj, barva in oblika iglic ter kakovost vrha drevesa ali vej, glede na znane dejavnike žive in nežive narave, medtem ko češka metoda temelji na predpostavki, da zaradi onesnaženosti zraka nastanejo motnje v razvejitvi in oigličeniosti smrekovih vej. Rezultati obeh metod so dali podobno oceno poškodovanosti smreke. Večina opazovanih smrek je bila po slovenski metodi uvrščena med močno poškodovana drevesa, največ nepovratno poškodovanih dreves je bilo na Kovku in Ključevci, najmanj pa na območju Retij.

Pričakovani ukrepi za zmanjšanje emisij iz TET, glede na rezultate zgoraj navedenih raziskav na tem območju, so bili sprejeti maja 2002, ko je vlada RS sprejela sanacijski program za TET 2 z ukrepi za zmanjšanje prekomernih imisijskih koncentracij, ki vključuje tudi izgradnjo čistilne naprave za razžvepljevanje dimnih plinov, s katero žveplove emisije ne bodo presegale predpisanih mejnih vrednosti. Ob tem je sprejela dodaten sklep, da mora Termoelektrarna Trbovlje pripraviti investicijski program za izgradnjo čistilne naprave kot del dolgoročnega razvojnega programa (sporočilo za javnost, dne 31.5.2002, Ministrstvo za okolje in prostor). TET je med stotimi največjimi termoenergetskimi objekti v EU27 po emisijah SO₂ na 33. mestu (Barrett in Holland, 2008). Emisije SO₂ iz TET so se v letu 2006 zmanjšale zaradi namestitve razžveplalne

naprave v TET. Poličnikova in sod. (2008b) ugotavljajo trende zmanjševanja vsebnosti težkih kovin v branikah dreves iz Zasavja.

3.1.3 Ljubljanska kotlina in okolica (Vnajnarje)

Ljubljana leži v južnem delu Savske ravnine, na prehodu Gorenjske v Notranjsko in Dolenjsko oziroma Ljubljanskega polja v Ljubljansko barje. Srednja letna temperatura izračunana za obdobje od leta 1961 do 1990, je v Ljubljani (299 m) 9,5 °C. Srednja julijska temperatura za enako obdobje je 19,6 °C. V Ljubljani je letno 1396 mm padavin. Padavin je dovolj čez vsa leta, poletja so topla in zime mile, zato je za to območje Slovenije značilno zmerno celinsko podnebje (Slovenija – pokrajine in ljudje, 1998). Ljubljana ima s svojo kotlinsko lego izrazito neugoden klimatske razmere, kar se odraža v izraziti neprevetrenosti mesta med dolgotrajnimi obdobji temperaturne inverzije. Inverzijske razmere prevladujejo 60-70% vsega časa v letu. Takrat je gibanje lokalnih vetrov zelo šibko. Mestno središče zaradi gostote poselitve ustvarja izrazit toplotni otok, ki se odraža v tem, da se poleti mestno jedro pregreva, pozimi pa ustvarja kaminski efekt. Razlika temperature med pregretim jedrom in okolico doseže tudi od 6 do 8 °C. Zrak z vseh strani priteka od mestnega roba v središče mesta in se nad mestnim jedrom dviga do zaporne inverzijske plasti in nato dispergira, dokler se ohlajen ponovno ne spusti in na robovih mesta ponovno vstopa v kroženje. Ta proces onemogoča razredčevanje onesnaženega zraka z zračnimi gmotami širšega zaledja. Stanje se izboljša šele po tem, ko se ob vremenskih razmerah, ki prekinejo inverzijo, zračne gmote premešajo s širšim zaledjem. Take razmere navadno prekine močnejši veter ali močnejši sončni žarki, ki ogrejejo tla. V drugem primeru pride do vertikalnega mešanja zračnih gmot, ki lahko povzroči kratkotrajno vendar hudo onesnaženje, ko se najbolj onesnažene zračne mase tik pod inverzijsko plastjo v kratkem času premeša do tal. Kratkotrajno povečano onesnaženje ob preboju inverzijske plasti je posebno očitno v zimskem času, ko sonce okoli poldneva prebije megleno plast (Piltaver, 2001).

TE-TOL in JPE-Sektor daljinsko ogrevanje sodita med največje točkovne vire onesnaženega zraka. Količina snovi, ki jih emitirata v ozračje, so glede na tehnološke danosti predvsem odvisne od obsega proizvodnje ter vrste in kakovosti goriv, ki se pri tem uporabljajo. V zadnjih letih se povečuje uporaba kvalitetnejšega uvoženega premoga v TE-TOL, kar se kaže v občutno manjših emisijskih vrednostih žvepovega dioksida. Onesnaženost zraka v poletni sezoni postaja vse večji problem. Omejitev prometa bi imela pozitiven učinek na onesnaženost zraka in zmanjšanje hrupa v Ljubljani, piše v Poročilu o stanju okolja v Mestni občini Ljubljana (Notar in sod., 2000). Dušikovi oksidi (NO_x) postajajo vse pomembnejša onesnažila v Ljubljani. Največji izvor NO_x (54%) je promet, pretvorniki energije 33 %, široka raba 10 % in industrija s 3 %. Poleg direktnega onesnaženja, ki ga povzročajo, so pomembni predhodniki ozona. Meritve onesnaženosti z ozonom potekajo na 4 merilnih mestih. Povprečna letna vrednost ozona se giblje od 40 µg/m³ v mestnem središču do 77 µg/m³ na merilnem mestu Vnajnarje. Vnajnarje so v ruralnem območju na vzhodnem delu Ljubljanske kotline od mesta oddaljene 9 km (Piltaver, 2001). Roža onesnaženja za ozon v Vnajnarjih kaže, da ozon prihaja iz vseh smeri. Nekoliko intenzivnejša je reakcija iz smeri jugozahoda. Primerjava z mesti v Sloveniji, ki so na podobnih nadmorskih višinah in kjer se izvajajo meritve koncentracij ozona, kaže, da so koncentracije ozona vse leto v Vnajnarjih med največjimi. Imisijske koncentracije SO₂ so približno 60 % posledica onesnaženja iz Ljubljanske kotline, drugi del prihaja z daljinskim transportom iz področij vzhodno od Ljubljane (Čuhalev in sod.,

1999). Povprečne letne koncentracije ozona ($48 \mu\text{g}/\text{m}^3$) so bile v letu 2003 na račun dolgega in vročega poletja večje kot leta 2001 ($43 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Urna opozorilna koncentracija ozona $180 \mu\text{g}/\text{m}^3$ je bila v letu 2003 na merilnem mestu Ljubljana-Bežigrad prekoračena 18 krat (v juniju, juliju in v avgustu), na merilnem mestu Vnajarje pa ni bila prekoračena. Prekoračitev 8-urne ciljne koncentracije ozona $120 \mu\text{g}/\text{m}^3$ v letu 2003 je bilo na merilnem mestu Ljubljana-Bežigrad 81, na merilnem mestu Vnajarje pa 57.

3.1.4 Mežiška dolina (Žerjav-Narodni dom in Matvozov vrh)

Mežiška dolina je pokrajina ob reki Meži na Koroškem, ki teče vzporedno z državno mejo s sosednjo Avstrijo skozi Karavanke in leži med gorama Peco in Uršljo goro ter se potegne proti vrhovoma gora Olševe in Raduhe. Ozka dolina se v zgornjem delu nekoliko razširi le ob sotočju Meže z Javorskim potokom, kar je omogočilo nastanek rudarskega naselja Črna na Koroškem in nižje ob sotočju potoka Šumec, kjer se je razvilo rudarsko naselje Mežica (Mežiška dolina - ..., 2008). Nizvodno se dolina ponovno razširi šele v stiku z Mislinjsko dolino, to je na območju treh dolin ali t.i. koroškega kota. Mežiška dolina ima izrazito zaprto, zatišno lego, ki pa ni le posledica globoke gorske doline, temveč tudi njene lege na obrobju Celovške kotline, kar posredno stopnjuje pogostost temperaturnih inverzij (Špes, 1999). Svojska lega in gore, ko jo obkrožajo, dajejo Mežiški dolini milo alpsko podnebje. Povprečna letna temperatura je $4 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$ in letna količina padavin $1300 - 1600 \text{ mm}$. Območje sodi med najvišje naseljene v Sloveniji, saj segajo obdelovalne površine samotnih kmetij vse do nadmorske višine 1400 m (Kugonič, 1998). Na klimo v dolini vpliva tudi visoka Peca, ki je do 250 dni v letu pokrita s snegom, zato so zime v dolini razmeroma mrzle, poletja pa so zmerno topla (Mežiška dolina., 2008). V dolini se nahajajo štiri občine in sicer Ravne na Koroškem, Prevalje, Mežica ter Črna na Koroškem.

V Mežiški dolini so ležišča železove rude na območju Strojne, cinka in svinca v okolici Mežice in premoga na Lešah, kar je omogočilo industrializacijo doline. Fužinarstvo se je v Črni razvilo v začetku 17. st., pozneje pa še železarstvo na Ravnah in Prevaljah ter doseglo velik razmah v 19. stoletju (Mežiška dolina - ..., 2008). Svinčevo rudo so topili v Zgornji Mežiški dolini v naselju Žerjav. Ta del doline je povečini zelo ozek, globok, skratka zelo zaprt, največji onesnaževalci pa so ravno v najbolj zaprtem delu doline (Špes, 1999). Sredi 19. stoletja je bila Mežiška dolina med industrijsko najbolj razvitimi območji v Sloveniji.

Rudišča se raztezajo na površini 64 km . Dolžina vseh izkopanih rogov je 1.000 km . Najvišji rov je na višini 2.060 m , najnižji pa na globini 267 m absolutne nadmorske višine. V stoletjih rudarjenja so rudarji izkopali okoli 19 milijonov ton rude in pridobili 1 milijon ton svinca in pol milijona ton cinka. Rudna bogastva pod Peco so izkoriščali že Rimljani, prvi pisni viri pa segajo v leto 1665. Z razvojem rudnika so se pospešeno razvijale tudi druge dejavnosti (Pungartnik in Fajmut-Štrucl, 2008). Konec 19. st. so železarne na Prevaljah ustavile proizvodnjo, kar je prizadelo tudi premogovnik v Lešah, ki so ga 1934 dokončno zaprli. V žerjavski topilnici primarnega svinca sicer ne predelujejo več, vendar poteka pridobivanje svinca iz sekundarnih surovin, to je iz odpadnih akumulatorjev, ki jih v topilnico v Žerjavu vozijo predvsem iz tujine.

Dolga leta rudarjenja so svojevrstno zaznamovala življenje ljudi in pokrajino v okolici (Pungartnik in Fajmut-Štrucl, 2008). V Mežiški dolini so bili žveplovi oksidi najpomembnejše emisije, pred ekološko sanacijo in vgradnjo filtrov sta kvarila ozračje in okolje tudi svinec iz topilnice in rdeči železarniški prah. Svoj delež pri onesnaževanju zraka prispevajo tudi gospodinjstva z ogrevanjem stanovanj. Te emisije so toliko bolj

škodljive, ker nastajajo v zimskih mesecih, ob najbolj neugodnih meteoroloških razmerah. Zgornji del Mežiške doline je ekološko zelo občutljiva pokrajina, kjer prevladujejo strmice oziroma pobočja, ki jih pred erozijo tal varuje le gozdna odeja. Poleg trših in odpornejših karbonatnih tal so tu tudi mehkejša in nepropustna silikatna tla, ki kisline iz onesnaženega zraka in padavin teže nevtralizirajo (Špes, 1999).

S prvim razvrščanjem slovenskih krajev v posamezne razrede onesnaženosti ozračja leta 1975 so se vsa štiri urbana naselja Mežiške doline (Črna, Žerjav, Mežica, Ravne) znašla v 4. razredu, torej ne le s čezmerno, temveč celo kritično onesnaženim zrakom. Po sanaciji ravske železarne ter zgraditvi toplovoda ter prašnih filtrov v žerjavski topilnici svinca je naslednja kategorizacija leta 1988 med kritično onesnažene kraje (IV. razred) uvrstila le še Črno in Mežico, Žerjav pa v čezmerno onesnažene (Špes, 1999).

V okolici Črne, Žerjava in Mežice so že leta 1961 ocenili, da je gozd poškodovan na površini skoraj 1.500 ha, od tega pa je skoraj deset odstotkov povsem uničenega. Ob preučevanju dve leti kasneje so se te površine povečale že na 2.360 ha, leta 1966 pa je bilo samo v okolici Žerjava več kot 2.000 ha poškodovanih gozdov (Šolar, 1972; cit. v Špes, 1999). Sredi 70. let so se poškodbe na gozdovih še širile, bilo jih je že 2.700 ha, od tega že 280 ha goličav, ki so strnjene v glavnem okoli Žerjava (Dolina smrti). Prav v tem času je prihajalo do najmočnejših ožigov, gozdno drevje ni propadalo le znotraj opredeljenega imisijskega območja, temveč se je širilo tako, da je bilo ob koncu desetletja že več kot 3.200 ha poškodovanih gozdov (Šolar, 1978; cit. v Špes, 1999).

Do leta 1978, ko so v topilnici vgradili filtre in so se zmanjšale emisije prahu in posledično imisije svinca in težkih kovin. Emisije prahu iz topilnice (oziroma MPI = Metalurgija, plastika, inženiring) so pred posodobitvijo sistema vrečastih filtrov dosegle 72 t, nato pa so upadale, tako leta 1983 na 26,6 t, 1988 na 12,2 t, leta 1993 na 4,75 t in leta 1998 na 1,65 t. Vsebnosti svinca (Pb) v zraku so bile v Žerjavu 84 mg/m³ leta 1967, leta 1976 14,1 mg/m³, leta 1988 1,64 mg/m³ in v letu 1995 0,125 mg/m³ (Problem težkih kovin..., 1999). Končnik (2002) je ugotovil, da se je vnos Pb v ekosisteme s prašno usedlino med obdobjema 1983/85 in 2001/02 zmanjšal za 10 do 20-krat; vnos cinka (Zn) za 3 do 10-krat; vnos kadmija (Cd) za 20 do 30-krat.

Izredna onesnaženost okolja v Zgornji Mežiški dolini je imela za posledico, da so se kompleksne raziskave onesnaženosti zraka, vod, tal, rastlinstva, živalstva in ljudi v območju začele že v šestdesetih letih prejšnjega stoletja in so trajale vse do leta 1990 (zbrano v Istraživanje olova, kadmija..., 1996). Kasneje je bila narejena celovita primerjalna študija onesnaženosti okolja s težkimi kovinami v Zgornji Mežiški dolini med stanji v letih 1989 in 2001 (Ribarič Lasnik in sod., 2002).

Kot posledica emisijam in imisijskim koncentracijam je Kerin že leta 1978 ugotavljal pogosto močno povišane koncentracije svinca v listnati zelenjavi in gomoljnicah (v korenju je bilo do 39 mg/kg svinca, drugod v Sloveniji pa v povprečju 0,29 mg/kg), Gregorovič pa leta 1984 ugotavlja povišane vsebnosti svinca še v krvi, jetrih in ledvicah živine (zbrano v Špes, 1999). V obdobju 2000 – 2002 so določili vsebnosti Cd, Pb, Hg in As v višjih glivah in v vzorcih divjega jagodičja (gozdne jagode, robide, maline, borovnice, brusnice), nabranih v Šaleški, Zgornji Mežiški in Zgornji Savinjski dolini, v Zasavju ter na Kočevskem. Vsebnosti Cd in Pb v Zgornji Mežiški dolini so v večini vrst gliv med največjimi izmerjenimi v Evropi, kar kaže na veliko obremenjenost okolja s temi elementi; nasprotno padejo vsebnosti Hg in As v Zgornji Mežiški dolini v rang

koncentracij, ki je značilen za neonesnažena območja (Pokorny, 2003). V Zgornji Mežiški dolini, v obdobju 2001-2006, so določili trend zmanjševanja vsebnosti Pb, Cd, As in Zn v steljkah lišajev, kar kaže da se kakovost zraka na tem območju izboljšuje (Poličnik, 2008).

Primerjava vsebnosti Pb, Cd, Hg in As v travniških tleh med dvema lokacijama, Žerjav-Narodni dom in Žerjav-Matvozov vrh v letu 2003 je pokazala, da so s težkimi kovinami bolj onesnažena travniška tla v Žerjavu-Narodni dom, kjer vsebnosti Pb v tleh prekoračujejo na obeh globinah (0-6 in 6-12 cm) kritično mejno vrednost za več kot 4-krat. V Žerjavu-Narodni dom so travniška tla bila onesnažena še s kadmijem na obeh globinah (presežena opozorilna vrednost za Cd) in z arzenom (presežena mejna vrednost za As) (Pačnik in sod., 2003). Obsežne raziskave onesnaženosti vrtnih tal v Mežiški dolini in vrtnin (Kugonič in Kopušar, 2000; Kugonič in Pokorny, 2006) kažejo na tveganje za zdravje ljudi.

Decembra 2007 je vlada Republike Slovenije sprejela Odlok o območjih največje obremenjenosti okolja in programu ukrepov za izboljšanje kakovosti okolja v Zgornji Mežiški dolini (2007). Tako so v Zgornji Mežiški dolini zastavili širši program sanacijskih ukrepov degradiranega okolja, v kar so zajeti ukrepi na področju sanacije okolja in ukrepi za zmanjševanja škode za zdravje zaradi obremenjenosti s svincom pri ljudeh (Program sanacije Zgornje Mežiške..., 2007). Cilji sprejetega programa so predvsem zmanjšanje vrednosti svinca, kadmija in cinka v tleh na saniranih območjih pod mejne vrednosti, zmanjšanje izpostavljenosti otrok toksičnim kovinam v njihovih neposrednih okoljih bivanja ter zagotavljanje zdravih pogojev življenja za vse prebivalce. V ta namen bo država vsako leto namenila okoli milijona evrov finančnih sredstev, do leta 2022 okoli 15 milijonov evrov (7.1.2008, Črna na Koroškem, novinarska konferenca).

3.2 IZVEDBA POSKUSOV PO EUROBIONET METODI

3.2.1 Priprava rastlinskega materiala

Vse rastline za izvedbo poskusov po EuroBionet metodi smo vzgajali iz semen. Semena tobaka 'Bel W₃' smo dobili pri prof. dr. Francu Batiču (Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo, Jamnikarjeva 1001, Ljubljana). Primer vzgoje tobaka 'Bel W₃' iz semena do izpostavitve je razviden iz slik 1-3. Pri vzgoji tobaka in ocenjevanju ozonskih poškodb smo se zgledovali po protokolu Klumppa in sod. (2000).



Slika 1: Setev tobaka v plato in rastlinice na stopnji razvitosti 2 listov.

Figure 1: Sowing tobacco in a cultivation tray and plants with 2 leaves developed.



Slika 2: Priprava lončkov in presaditev tobaka v lončke.

Figure 2: Preparing pots and transplanting tobacco into pots.



Slika 3: Stopnje vzgoje tobaka: lonček s 4 šopi tobakov – lonček s 4 rastlinicami tobakov – ena tobakova rastlina v lončku. Na sliki desno je vidna stopnja razvitosti tobaka ob izpostavitvi.

Figure 3: Levels of tobacco growth: a pot with 4 tufts of tobacco – a pot with 4 tobacco plants – one tobacco plant per pot. The picture on the right shows the development level of tobacco at the time of exposing it.

Za raziskavo smo oblikovali posebna stojala (slika 4) z namenom poenotiti dejavnike, kot so oskrba z vodo, preskrbljenost s hranili, kontrola bolezni in škodljivcev, osvetljenost. Na stojalih so bili tobak 'Bel W₃', plazeča detelja 'Milka' in nizek rumenostročni fižol 'Berggold'. Na posamezno poskusno mesto smo izpostavili po 6 rastlin vsake vrste. Lončke je držalo stiroporasto držalo. Lončki so bili s sistemom vrvic povezani z rezervoarjem za vodo. Rastline so tako imele na razpolago vedno dovolj vode. Vsako stojalo je imelo tudi senčilo, ki je preprečevalo na rastlinah nastanek ožigov zaradi sonca.

Zraven vsakega stojala smo izpostavili tudi v večjih 10-litrskih loncih po eno rastlino tobaka 'Bel W₃', ki je bila izpostavljena od začetka poskusa do konca, to je 3 do 4 mesece (slika 4).



Slika 4: Stojalo s poskusnimi rastlinami (plazeča detelja 'Milka', tobak 'Bel W₃' in nizek rumenostročni fižol 'Berggold') in vkopan lonec s tobakom 'Bel W₃' v Topolšici.

Figure 4: A stand with test plants (white clover 'Milka', tobacco 'Bel W₃' and bean 'Berggold') and a pot with tobacco 'Bel W₃' placed into the ground in Topolšica.

3.2.2 Terensko delo

Terensko delo je obsegalo izpostavljanje bioindikatorskih rastlin na posameznih poskusnih mestih skozi vso rastno sezono, popise ozonskih poškodb in vzorčenja listov tobaka za kemijske analize ter vzročnja nadzemnega dela plazeče detelje in strokov nizkega fižola za meritve pridelka.

Rastline nizkega fižola in plazeče detelje na stojalu smo izpostavili za celo obdobje izpostavitve, ki je trajalo približno 8 tednov. Nizek fižol je imel ob izpostavitvi oblikovan prvi sekundarni trojnat list, plazeča detelja pa je imela od 3 do 5 listov.

Za popise ozonskih poškodb smo naredili obrazce (priloga B) za vsako vrsto rastlin posebej, ki smo jih uporabili v vsakem poskusnem letu. Liste pri nizkem fižolu smo označili od 1 do 5, označevanje pa smo dopolnjevali pri vsakem popisu. Popise ozonskih poškodb na vseh rastlinah smo naredili vsakih 14 dni. Plazečo deteljo smo vzorčili na 4 tedne po 3 rastline (slika 5 in slika 6). Tako smo ob vsakem popisu imeli 14 in 28 dni stare liste plazeče detelje. Vzorčene liste in cvetove plazeče detelje smo nato posušili pri 30 °C in stehali. Datumi popisov ozonskih poškodb za tobak, nizek fižol in plazečo deteljo so prikazani v preglednici 11. Pri fižolu smo ob koncu poskusa povzorčili stroke. Stroke smo prešteli, izmerili njihovo dolžino in posušili ter stehali.

Tobak smo izpostavljali v 28 dnevni presledkih. Izpostavljali smo vedno 5 tednov stare rastline. Vsak set tobaka je bil popisovan dvakrat. Prvič, ko so bile rastline izpostavljene 2 tedna in drugič, ko so bile izpostavljene že 4 tedne. Potem smo stare tobake zavrgli in jih zamenjali z novim setom rastlin. Tobake smo od datuma setve do datuma izpostavitve imeli v rastlinjaku.

Preglednica 11: Datumi popisov ozonskih poškodb na listih tobakovih rastlin v letih od 2002 do 2005.

Table 11: Dates of recording ozone injury on the leaves of tobacco plants in the years from 2002 to 2005.

2002	2003	2004	2005
12. julij	16. junij	23. junij	21. junij
25. julij	30. junij	8. julij	5. julij
9. avgust	14. julij	22. julij	19. julij
28. avgust *	29. julij	5. avgust	2. avgust
17. september *	11. avgust	18. avgust	16. avgust
4. oktober	3. september *	8. september *	30. avgust *
	22. september	27. september	14. september
	6. oktober		28. september

Legenda: * vzorčenje listov tobaka za biokemijske analize.



Slika 5: Vzorčenje listov detelje na poskusnem mestu Lipje.

Figure 5: Taking clover samples at the Lipje exposed site.



Slika 6: Primer plazelje detelje na stojalu po vzorčenju.

Figure 6: An example of white clover on a stand after taking samples.

3.3 IZVEDBA POSKUSOV PO ICP VEGETATION PROGRAMU

3.3.1 Priprava rastlinskega materiala

Za izvedbo poskusa smo vsako leto uporabili protokol mednarodnega programa ICP Vegetation (Experimental protokol ..., 1996, 1997, 1999, 2000). Z upoštevanjem navodil protokola smo zmanjšali možnost vnosa subjektivnih napak pri postavitvi in spremljanju celotnega poteka poskusov na različnih poskusnih mestih in med leti. Zagotoviti smo hoteli tudi primerljivost naših rezultatov z drugimi v okviru ICP Vegetation programa.

Stolone na ozon odpornih in občutljivih klonov detelje 'Regal' smo dobili na začetku od A.S. Heagle (USDA, ARS, *Air Quality Research Unit*, 1509 Varsity Drive, Raleigh, North Carolina), ki jih je vzgojil z večletnim selekcioniranjem (Heagle in sod., 1994), kasneje pa iz koordinacijskega centra za ICP Vegetation program. Sadilni material smo vsako leto zamenjali zaradi možnosti prenosa virusnih okužb iz preteklega leta. Stolone odpornih in občutljivih klonov detelje smo potaknili v zemljo v lonce konec aprila ali v začetku maja. Do zakoreninjenja smo jih imeli v pokritem prostoru toliko časa, da so se razvili prvi pravi listi.

Pred izpostavitvijo na poskusna mesta smo iz litrskih lončkov presadili rastlinice plazeče detelje 'Regal' v 10-litrške lonce. Napravili smo samonamakalni sistem sestavljen iz dveh loncev. Zgornji lonec, v katerega smo dali rastni substrat smo na dnu preluknjali. Skozi luknje smo napeljali vrvice (Burgmann-Burceram GS-Glasfaser-Dichtschnur; Chemo d.d. Ljubljana), po katerih so rastline kasneje črpale vodo iz rezervoarja (spodnji lonec). Vrvico smo narezali na dolžino lonca in dolžino od dna zgornjega lonca do dna spodnjega lonca. V spodnji lonec smo dali 10 cm distančnik, na katerega je bil naslonjen zgornji lonec. Spodnjemu loncu smo naredili na strani luknjo (drenažno luknjo) v višini distančnika oziroma dna zgornjega lonca. Tako smo poskrbeli, da je odvečna voda ob močnejših padavinah odteka iz rezervoarja – spodnjega lonca. Lonce smo vkopali v zemljo. Na ta način smo preprečili velika temperaturna nihanja v koreninskem delu poskusnih rastlin. Okoli poskusne parcele smo postavili ograjo, ki naj bi preprečevala hranjenje sesalcem in domači perjadi z našimi poskusnimi rastlinami.

Vse rastline na vseh poskusnih mestih so rasle v enakem rastnem substratu, ki je zagotavljal dovolj makro in mikro-hranil za razvoj rastlin. Kot rastni substrat smo uporabili mešanico bele in črne šote, vermikulita, kremenove mivke in ilovice v razmerju 5:4:1:1:1 (Humko Royal Garden; Humko d.o.o Bled) (preglednica 12). Primer analize mešanice zemlje v lončnem poskusu je prikazan v preglednici 13.

Preglednica 12: Dodatki in lastnosti mešanice zemlje za lončne poskuse (podatki iz embalaže).

Table 12: Substances added and properties of the soil mixture used in pot experiments (data from packaging).

Gnojilo PEGEMIX	1 kg / m ³ zemlje
Zelena galica	1 kg / m ³ zemlje
pH mešanice (CaCl ₂)	6
konduktivnost	0,8 EC
Vsebnost topnih hranil	180-350 mg/l N 200-400 mg/l P ₂ O ₅ 200-450 mg/l K ₂ O

Preglednica 13: Povprečne vrednosti kemijskih lastnosti mešanice zemlje uporabljene v lončnem poskusu pred in po izpostavitvi.

Table 13: Average values of chemical properties of the soil mixture used in a pot experiment before and after exposure.

Datum vzorčenja		pH (H ₂ O)	pH (KCl)	pH (CaCl ₂)	P ₂ O ₅	K ₂ O	N - Kjeldahl	Pb	Cd	As
Pred začetkom poskusa		6,21	5,82	5,84	17,83	226,6	1,170	19,7	0,17	16,1
Ob zaključku poskusa	NC-R	7,19	6,59	/	13,90	104,0	1,185	21,6	0,30	32,7
	NC-S	7,23	6,62	/	14,20	102,0	1,172	22,6	0,28	32,5

V obdobju poskusa se je pH tal rahlo povečal, vsebnosti rastlinam dostopnih oblik makrohranil fosforja in kalija so se zmanjšale, količina dušika je ostala približno enaka, povečale so se tudi vsebnosti težkih kovin. Izmerjene vrednosti Pb in Cd so več kot 50 % manjše kot so določene njune mejne vrednosti; drugače je v primeru arzena, kjer je ob koncu poskusa presežena celo opozorilna vrednost 30 mg/kg suhih tal (Uredba o mejnih, opozorilnih..., 1996). Založenost uporabljene mešanice zemlje z rastlinam dostopno obliko fosforja je dobra (razred C), s kalijem pa so ekstremno preskrbljena (razred E) (Pravilnik o normativih..., 1990). Stročnice imajo veliko potrebo po kaliju. Sadike lahko propadejo, če imajo premalo kalija na razpolago (Frame in Newbould, 1986). Simptomi pomanjkanja kalija na listih plazeče detelje so opisani in slikovno prikazani v knjigi »Nutritional disorders of Plants« (1992) in nepoznavalec bi jih lahko zamenjal za poškodbe, ki jih povzroči ozon. Plazeča detelja zahteva pH, ki ni manjši od 5,5 (Frame in Newbould, 1986). Iz rezultatov analiz mešanice zemlje sklepamo, da je plazeča detelja v lončnih poskusih rasla v optimalnih razmerah.

Pri raziskovalnem delu z bioindikatorskimi rastlinami je pomembno podrobno poznavanje njihove morfologije (korenin, listov, stolonov, cvetov) in okoljskih dejavnikov (vremenski dejavniki: temperatura, svetloba, vlaga, veter; talni dejavniki: tekstura, pH, vsebnost rastlinam dostopnih hranil (fosfor in kalij), dušik, mikroorganizmi), optimalnih za njihovo rast in razvoj. O tem in o načinu setve, vzgoje, oskrbe z vodo in hranili, o boleznih in škodljivcih plazeče detelje (kot našega glavnega preučevanega objekta) so natančni podatki zbrani v Frame in Newbould (1986) in Höglind (1992).

3.3.2 Terensko delo

Skozi vegetacijsko obdobje oziroma od postavitve poskusa na poskusnem mestu do zadnje žetve, ki je bila septembra, redkeje oktobra (odvisno od vremenskih razmer), smo redno preverjali ali je namakanje detelje v loncih iz rezervoarja zadostno. V sušnih poletnih dneh smo rastline pozno popoldne dodatno zalivali z vodo. Po potrebi smo travo med lonci kosili z nitno rotacijsko kosilnico. Plevel v loncih smo redno odstranjevali. Dva dni po izpostavitvi detelje smo jih za boljše ukoreninjenje zalili z vodno raztopino s simbiotskimi bakterijami iz koreninskih nodulov plazeče detelje (*Rhizobium trifolii* Dangeard).

Napade insektov smo kontrolirali z insekticidi iz naravnega piritrina. Največ težav so nam povzročale listne uši (*Aphidae*), ki prenašajo tudi viroze. Tako smo pri opazovanjih listov detelj naleteli tudi na posamezne virusno iznakažene liste in cvetove. Proti deteljni rji

(*Uromyces flectens* Lagerh.), ki se je pojavila v avgustu, nismo škropili, ker ni na našem tržišču ustreznega fungicida. Prav tako nismo ukrepali proti listnim zavrtačem.

Pri določevanju simptomov ozonskih poškodb smo upoštevali metodo, ki so jo shematično prikazali Innes in sod. (2001). Za popisovanje ozonskih poškodb je potrebno določeno znanje iz fitopatologije, kajti nevešč popisovalec lahko zamenja poškodbe na listih, nastale od določenih vrst insektov, z ozonskimi.

Posamezni rastlini v loncu smo prešteli število vseh listov, od tega smo posebej ločeno prešteli z ozonom poškodovane liste (PL). Te podatke smo kasneje preračunali v odstotke poškodovanih listov na lonec (% PLL). Iz odstotkov poškodovanih listov na lonec smo določili razrede poškodovanosti. Na terenu smo za vsako rastlino posebej ocenili njeno zdravstveno stanje in ga ovrednotili s tremi stopnjami (preglednica 14).

Preglednica 14: Razredi poškodovanosti, po katerih ocenjujemo ozonske poškodbe na listih plazeče detelje (Experimental protokol ..., 1999).

Table 14: Classes of injury used to estimate ozone injury on the leaves of white clover (Experimental protokol ..., 1999).

Razredi ozonskih poškodb	Zdravstveno stanje	Stopnje zdravstvenega stanja rastlin
0: ni ozonskih poškodb	O: ozonske poškodbe	1: rahle poškodbe
1: zelo rahla poškodovanost listov, začetki prvih simptomov	S: zakrnela rast	2: srednje poškodbe
2: rahla poškodovanost, 1-5 % listov z malo poškodbami	D: boleznj na rastlini	3: močne poškodbe
3: srednje močne poškodbe, 5-25 % listov s poškodbami	I: poškodbe insektov	
4: močne poškodbe, >25 % listov poškodovanih	SI: poškodbe zaradi polžev	
5: popolnoma poškodovana rastlina zaradi ozona, 90-100 % listov z ozonskimi poškodbami	A: poškodbe živali (zajcev, ptic, ...)	
	V: virusne poškodbe	

Deteljo 'Regal' smo vzorčili v enakih časovnih intervalih. Med dvema vzorčenjema je bil 28 dnevni interval (+/-2 dni). Klone smo rezali 7 cm nad površino zemlje s škarjami, ki smo jih predhodno namočili v 10 % raztopino razkužila Clorox. Tako smo poskušali preprečiti prenašanje virusnih obolenj iz rastline na rastlino.

3.4 LABORATORIJSKO DELO

Na terenu smo uporabljali škarje, stiroporno škatlo, lesene oprijemalke, rokavice in hladilno torbo z zamrznjenimi vložki. Vzorce listov za biokemijske analize smo namočili v tekoči dušik in nato shranili v hladilni torbi (slika 7).



Slika 7: Material, potreben za vzorčenje listov plazeče detelje za biokemijske analize.

Figure 7: Material needed for sampling leaves of white clover for biochemical analyses.

Askorbinska kislina in pigmenti so toplotno in svetlobno občutljive molekule, ker je pri vzorčenju potrebno upoštevati. Razen listnih ploskev, katere smo zamrznili v tekočem dušiku, smo vzorce rastlin (listov, pecljev, stolonov in strokov) posušili v sušilni omari pri 30 °C. Suhe vzorce smo stehali in jih shranili v skladišču. Vzorce listnih ploskev za biokemijske analize smo liofilizirali in zmleli. Tako pripravljene vzorce listov so nato čakali na analize v zamrzovalniku. Laboratorijsko delo je obsegalo pripravo vzorcev za analize in analize vsebnosti alfa tokoferola, askorbinske kisline in nekaterih rastlinskih pigmentov (klorofil a, klorofil b, beta in alfa karoten, zeaksantin, lutein) v listih. Vsebnosti alfa tokoferola, askorbinske kisline in pigmentov smo določali s tekočinsko kromatografijo pri velikih pritiskih (HPLC), aktivnost superoksid dizmutaze (SOD) smo določali spektrofotometrično.

3.4.1 Laboratorijska oprema

Za biokemijske analize rastlinskih vzorcev smo potrebovali:

- laboratorij z vso opremo za rokovanje, hrambo, pripravo in analizo vzorcev
- HPLC (Hewlett Packard, Series 1050) povezan na računalnik 486 Vectra Hewlett Packard s programom za HPLC kromatografijo (Hewlett Packard).
- liofilizator (Chrysta, ALFA 1-4)
- homogenizator (Ultraturaks)
- hladilno omaro (Lth, volumen 300 l)
- sušilno omaro (SO 400N)
- tehtnico (Mettler, AT201)
- pH meter (HANNA instruments, HI 8314)
- magnetno mešalo (TEHNICA Železniki, MM-531)
- mlinček na vodno hlajenje (JANKE & KUNKEL, A10)

- ultrazvočno kopel
- centrifugo (Hettich Universal 16 R)
- dve 15 W fluorescentni žarnici
- UV/VIS spektrofotometer (Perkin Elmer, Lambda 40)

3.4.2 Kemikalije

Za analize rastlinskih pigmentov

- aceton (FLUKA, HPLC-grade)
- etilacetat (BAKER, HPLC-grade)
- metanol (FLUKA, HPLC-grade)
- bidestilirana voda (FLUKA, HPLC-grade)
- acetonitril (FLUKA, HPLC-grade)

Za analize askorbinske kisline

- metafosforna kislina p.a. (FLUKA 79613, 33,5-36,5 %)
- metanol (FLUKA, HPLC-grade)
- ultra čista voda (BARNSTEAD)
- natrijev dihidrogen fosfat p.a. (FLUKA 71496, >99,0 %)
- askorbinska kislina p.a (FLUKA 95210, >99,5 %)

Za analize alfa tokoferola

- heksan (FLUKA, HPLC grade)
- metanol (FLUKA, HPLC-grade)
- vitamin E (FLUKA 95240)

Za analize aktivnosti encima superoksid dizmutaze

- KH_2PO_4 p.a. (FLUKA, 60219)
- methionin p.a. (MERCK, 1.05707.0100)
- nitro modro tetrazolium klorid (NBT) p.a. (MERCK, 1.24823)
- etilendiamintetraocetna kislina dinatrijeva sol dihidrat (EDTA) p.a. (FLUKA, 03680)
- riboflovin p.a. (ALDRICH, R1706-1006)

3.4.3 Analiza vzorcev

3.4.3.1 Določanje vsebnosti rastlinskih pigmentov

Določevanje rastlinskih pigmentov na HPLC smo naredili po Tauszu (1996). Stacionarna faza (kolona) je bila Spherisorb ODS 2 (5 μm , 250 x 4,6 mm). Pred analizami vzorcev smo pripravili mobilno fazo A iz 100 volumskih delov acetonitrila (870 ml), 10 volumskih delov vode (87 ml) in 5 volumskih delov metanola (43,5 ml) in mobilno fazo B iz 2 volumskih delov acetona (666 ml) in 1 volumskega dela etilacetata (333 ml). Topilo A in B smo filtrirali skozi celulozni filter 0,45 μm . Kolono smo spirali z mobilno fazo pri pretoku 1 ml/min 1 uro pred analizami vzorcev. Gradient za vzorce je bil:

- 0 - 18 min. 90 % mobilne faze A in 10 % mobilne faze B.
- 18 - 22 min. 30 % mobilne faze A in 70 % mobilne faze B.

V naslednjih petih minutah se spet vzpostavi začetni gradient (90 % mobilne faze A in 10 % mobilne faze B).

Pripravili smo standardne raztopine (masa trdnega pigmenta / volumen acetona):

- lutein 5 mg / 50ml
- zeaksantin 5 mg / 50ml
- klorofil a 5 mg / 50ml
- klorofil b 5 mg / 50ml
- alfa karoten 5 mg / 200ml
- beta karoten 5 mg / 500ml

Vse osnovne raztopine smo razredčili z acetonom na 20/50 ml (c₂), 10/50 ml (c₃).

Preglednica 15: Razredčitvene koncentracije standardov za posamezne rastlinske pigmente.

Table 15: Dilution concentrations of standards for different plant pigments.

PIGMENTI osnovna raztopina	K O N C E N T R A C I J A (mg/ml)		
	c ₁	c ₂	c ₃
lutein	0,1	0,04	0,02
zeaksantin	0,1	0,04	0,02
klorofil a	0,1	0,04	0,02
klorofil b	0,1	0,04	0,02
alfa karoten	0,025	0,01	0,005
beta karoten	0,001	0,0004	0,0002

V čašo smo natehtali 1 g zmletih listov detelj, fižola ali tobaka, dodali malo CaCO₃ in 5 ml acetona (HPLC grade). Homogenizirali smo do 30 sekund. Vzorec smo nato prenesli v epruveto in centrifugirali 2 minuti, da se je naredila usedlina. Odlili smo zgornji tekoči del. To smo prefiltrirali z injekcijo skozi 45 µm membranski filter v vzorčno stekleničko za HPLC. Vzorčne stekleničke smo zavili v aluminijasti papir, če nismo imeli stekleničk s temnim steklom. Detekcija je potekala za različne pigmente pri različnih valovnih dolžinah: 448 nm (lutein, zeaksantin, alfa karoten in beta karoten)

430 nm (klorofil a)

458 nm (klorofil b)

3.4.3.2 Določanje vsebnosti askorbinske kisline

Za analizo askorbinske kisline smo uporabili metodo, ki jo je razvil Pfeifhofer (1989). Za analizo askorbinske kisline (vitamin C) smo po izbiri mobilne faze (mobilna faza A: 0,5 g NaH₂PO₄ smo raztopili v 1 l ultra čiste vode; mobilna faza B: Metanol (CH₃OH; A in B smo zmešali v razmerju 7 : 3) in stacionarne faze (HP Lichrospher 100 RP-18 (5 µm, 250 x 4,6 mm)) najprej naredili serijo standardnih raztopin z znanimi koncentracijami 20 (15, 10, 5) mg askorbinske kisline. Standarde smo raztopili v 100 ml 1,5 % metafosforne kisline, kar je ustrezalo koncentracijam 0,20 (0,15, 0,10, 0,05) mg/ml askorbinske kisline. Detekcija askorbinske kisline v vzorcu in standardih poteče pri valovni dolžini 254 nm. Za analizo vsebnosti askorbinske kisline v vzorcu smo zatehtali 0,5 g zmletih deteljnih listov in dodali 5 ml 1,5 % metafosforne kisline ter homogenizirali. Centrifugirali smo 10 minut pri 4000 obr./min. Na koncu smo vzorec prefiltrirali skozi 0,45 µm injekcijski celulozni filter.

Na kromatogramu standardov površina pika (vrh krivulje) predstavlja znano koncentracijo askorbinske kisline v standardu. S standardnimi raztopinami smo oblikovali linearno premico in glede na površino pika vzorca je računalniški program za kromatografijo izračunaval koncentracije askorbinske kisline v vzorcih. Pred vsako dnevno analizo

vzorcev smo ponovili serijo standardov, da smo po potrebi naredili korekcijo standardne krivulje.

3.4.3.3 Določanje vsebnosti alfa tokoferola

Alfa tokoferol oziroma 5, 7, 8 - trimetil tokol je v čisti obliki rumena viskozna tekočina, ki razpada pod vplivom svetlobe, toplote in kisika. Analize alfa tokoferola so bile narejene po interni metodi (PM 4.03) laboratorija ERICo Velenje. Uporabili smo stacionarno fazo HP Lichrospher RP-18 (5 μ m, 250 x 4 mm), predkolona (5 μ m, 10 x 4 mm) ali Spherisorb ODS-2 (5 μ m, 250 x 4,6 mm), predkolona (5 μ m, 10 x 4,6 mm).

Koncentracijo alfa-tokoferola (E vitamina) v listih plazeče detelje smo določili iz umeritvene krivulje – metoda eksterne standarda. Pripravili smo standardne raztopine znanih koncentracij (najmanj 5 točk), ki pokrivajo ves interval pričakovanih koncentracij, in ga v določeni meri še presegajo v obeh skrajnih mejah. Različne koncentracije alfa tokoferola (standard) pripravimo tako, da določen volumen osnovne raztopine odpipetiramo v 50 ml merilne bučke in razredčimo z ekstrakcijsko raztopino do oznake. Pripravili smo raztopine v koncentracijskem območju od 0,008 mg/l do 0,8 mg/l. Prefiltrirali smo jih skozi 0,45 μ m teflonski injekcijski filter. Narisali smo umeritveno krivuljo in nato smo začeli z analizami vzorcev.

V čašo smo zatehtali 1 g zmletih listov, dodali smo 4 ml heksana (HPLC grade). Homogenizacija poteka 30 sekund. Vzorec smo prenesli v epruveto in centrifugirali 10 min., da se je usedlina ločila. Vitamin E je v heksanu dobro topen. Zgornji tekoči del smo prefiltrirali skozi 0,45 μ m injekcijski filter (teflon) v temno vzorčno stekleničko, ki smo jo zaprli s pokrovčkom. Vzorec je bil tako pripravljen za analizo. E vitamin smo merili pri valovni dolžini 290 nm.

3.4.3.4 Določanje aktivnosti encima superoksid dizmutaze (SOD)

Metoda meritve aktivnosti encima superoksid dizmutaze po Beauchamp in Fridovich (1971) je povzeta iz Journal of Experimental Botany po Dhindsa in sod. (1981). Po tej preskusni metodi merimo aktivnosti encima superoksid dizmutaze z absorbanco v odvisnosti od časa. Določimo jo spektrofotometrično z merjenjem njene sposobnosti zaviranja fotokemijske redukcije NBT (nitro blue tetrazolium).

Za pripravo encimskega ekstrakta smo zatehtali v čašo 0,5 g liofiliziranih in že zmletih listov. Nato smo dodali 5 ml pufrne raztopine in za noževno konico netopnega polivinilpirolidona ter vse homogenizirali. Po homogenizaciji smo dvakrat do trikrat centrifugirali 10 minut s 4000 obrati na minuto pri 4 °C. Za encimski ekstrakt smo vzeli zgornji del, ki smo ga nazadnje še prefiltrirali skozi injekcijski filter. Pripravili smo si 3 ml reakcijske mešanice. Reakcijska mešanica je vsebovala:

- 2,5 ml pufrne raztopine KH_2PO_4 ,
- 100 μ l raztopine methionina,
- 100 μ l raztopine NBT in
- 100 μ l raztopine riboflovina.

Tej mešanici smo dodali najprej 40 μ l encimskega ekstrakta in nazadnje še riboflavin. To mešanico smo stresali in dali pod dve 15 W fluorescentni žarnici, ki sta bili 30 cm oddaljeni od podlage. Reakcija se je začela, ko smo prižgali žarnici. Meritve osvetljenih

vzorcev smo izvajali v enakih časovnih intervalih (na 2 minuti). Samo merjenje je trajalo 20 minut. Za čas 10 do 15 minut je bilo ugotovljeno, da reakcija poteka linearno. Reakcija se je ustavila, ko smo žarnici ugasnili in smo čaše zavili v alu-folijo. Spektrometer smo vključili vsaj 30 minut pred merjenjem. Merili smo pri valovni dolžini 560 nm. Za kontrolo smo uporabili reakcijsko mešanico, ki je nismo izpostavili osvetljevanju fluorescentne žarnice. Taka mešanica se ne obarva. Koncentracije encimske aktivnosti smo določili iz krivulje Log A560 v odvisnosti od volumna V encimskega ekstrakta, ki smo ga uporabili v reakcijski mešanici (0-50 µl). Ena encimska enota pomeni volumen encimskega ekstrakta, ki ustreza 50 % inhibicije reakcije (1 enota SOD aktivnosti je definirana kot količina, ki 50 % inhibira reakcijo).

3.5 OBDELAVA METEOROLOŠKIH MERITEV IN MERITEV ZRAČNIH ONESNAŽIL

Meteorološke meritve in meritve koncentracij onesnažil smo dobili od HMZ (Hidrometeorološki zavod Republike Slovenije, Ljubljana) oziroma sedaj Agencije za okolje RS, ki opravlja s sistemom ANAS, in od EIMV (Elektroinštitut Milan Vidmar, Ljubljana), ki strokovno skrbi za emisijsko-imisijske sisteme termoelektrarn (EIS TEŠ, EIS TET), ki so lastnice merilnih postaj.

Polurne meteorološke podatke in podatke o zračnih onesnažilih od leta 1996 do 2005, od aprila do septembra, smo nato računsko obdelali za posamezna obdobja izpostavitve rastlin. Pri izračunih masnih koncentracij (ppm, ppb) iz volumskih (mg/m^3 , $\mu\text{g/m}^3$), ki jih dajejo merilniki, so bili upoštevani naslednji pretvorbene koeficienti, ki ustrezajo pogojem 293 °K in 101.3 kPa:

SO₂: 1ppb = 2,66 $\mu\text{g/m}^3$

O₃: 1 ppb = 2,00 $\mu\text{g/m}^3$

NO₂: 1 ppb = 1,91 $\mu\text{g/m}^3$

NO: 1 ppb = 1,25 $\mu\text{g/m}^3$.

Matematična enačba izračuna za primer AOT40 je prikazana spodaj (Leeuw in Zantvoort, 1997):

$$\text{AOT40} = \sum ([\text{O}_3] - 40) * \delta_i \quad [\text{ppb.h}] \quad (34)$$

kjer upoštevamo pogoja

$\delta_i = 0$ za $[\text{O}_3] < 40$ ppb

$\delta_i = 1$ za 0 za $[\text{O}_3] \geq 40$ ppb

Meja 40 ppb je bila predlagana na delavnici projekta ICP Vegetation v Veliki Britaniji že leta 1992. Pri poskusih v kontroliranih razmerah so ugotovili povezavo med koncentracijo ozona 30 - 40 ppb in zmanjšanjem pridelka. Vendar so kot mejo določili 40 ppb, saj je koncentracija 30 ppb preblizu koncentraciji ozona, ki je naravno ozadje v troposferi. Omenjena ugotovitev sloni na podlagi raziskav v štirih državah iz petletnih poskusov (UN/ECE, 1999; Fuhrer in sod., 1997).

Na Finskem (v Koupio) so bile leta 1996, na delovnem srečanju v okviru UN-ECE CLRTAP konvencije določene kritične mejne vrednosti za ozon za gozdna drevesa in kmetijske rastline (preglednica 16).

Preglednica 16: Kritične vrednosti koncentracij ozona za gozdna drevesa in kmetijske rastline za pridelek in za vidne ozonske poškodbe na listih, sprejete v Koupiu leta 1996.

Table 16: Critical levels of ozone concentrations for forest trees and crops and for visible injuries on leaves, accepted in Koupio in 1996.

Izgube pridelka za:	AOT 40 (ppb.h)	Obdobje kopičenja
Kmetijske rastline	5300	maj - julij*
Kmetijske rastline	700	trije zaporedni dnevi med majem in julijem*
Gozd	10 000	april - september, 24 ur v dnevnu
Vidne poškodbe za:	AOT 40 (ppb.h)	Obdobje kopičenja
Kmetijske rastline	200	5 dni ali več [#]
Kmetijske rastline	500	trije zaporedni dnevi med majem in julijem [#]

* vrednosti v svetlem delu dneva (globalno sončno obsevanje $\geq 50 \text{ W/m}^2$)

[#] zračni pritisk vlage v deficitu, to je takrat, ko je $< 1,5 \text{ kPa}$, v času od 9.30-16.30

Iz razmerja izpostavitvene doze in odziva rastlin na ozon, ki temelji na poskusih s pšenico, je značilno zmanjšanje pridelka definirano kot 10 ali več odstotkov izgub pridelka. Postavljene kritične vrednosti ne upoštevajo razlik med vrstami rastlin, kot tudi ni na primer faktorjev, ki bi opisali interakcijo ozona z drugimi onesnažili, zračnim tlakom, vlažnostjo tal, vpliva mineralnih hranil, nadmorske višine in drugo.

Preglednica 17: Kritične vrednosti koncentracij ozona za gozdna drevesa in kmetijske rastline, sprejete v Göteborgu leta 1999.

Table 17: Critical levels of ozone concentrations for forest trees and agricultural plants, accepted in Göteborg in 1999.

	AOT 40 (ppb.h)	Obdobje kopičenja
Kmetijske rastline, Naravna in semi-naravna vegetacija-enoletnice	3000 3000	junij, julij, avgust*
Naravna in semi-naravna vegetacija-enoletnice	7000	6 mesecev
Kmetijske rastline	700	trije zaporedni dnevi med majem in julijem*
Gozd	10 000	april - september, 24 ur v dnevnu

* vrednosti v svetlem delu dneva (globalno sončno obsevanje $\geq 50 \text{ W/m}^2$)

Kasneje leta 1999, prav tako v okviru UN-ECE CLRTAP konvencije, je bil v Göteborg-u na Švedskem sprejet protokol o zmanjševanju zakisovanja, evtrofikacije in prizemnega ozona (Protocol to Abate Acidification, Eutrophication and Ground-level Ozone). Protokol drugače poimenujejo tudi »Multi – pollutant / multi-effect protokol«. Protokol zahteva od pogodbenic zmanjšanje emisij SO_2 , NO_x , HOS in NH_3 do leta 2010. Slovenija je protokol podpisala 1. decembra 1999 in ga kasneje ratificirala. EU je svoj pristop k protokolu ratificirala 23. junija 2003. V protokolu so dodane kritične mejne vrednosti AOT40 za naravno in semi-naravno vegetacijo (preglednica 17). Po letu 2000 so raziskave usmerjene v revizijo tega protokola z razvojem novega pristopa za določevanje kritičnih mejnih vrednosti za ozon za zaščito rastlin, to je z raziskavami fluksa ozona v rastline (sprejem ozona preko listnih rež v rastline) (LRTAP Convention, 2007). Hayes in sod. (2007) ugotavljajo, da se ocene tveganja za rastline izpostavljene ozonu na karti Evrope bolje prilagajajo dejanskim učinkom na rastlinah po metodi fluksa, kot AOT40 metodi. Metoda približevanja s flux modelom predvsem bolje predvideva dejanske negativne učinke ozona na rastline v severni in severozahodni Evropi, kjer AOT40 vrednosti na karti Evrope običajno kažejo, da se poškodbe od ozona na rastlinah niso zgodile, ker niso bile

prekoračene kritične vrednosti AOT40. Model sprejema ozona preko listnih rež v rastline je razvila Embersonova in sod. (2000a) in kasneje ga je nadgradila kot model depozicije ozona in prevodnosti (fluksa) listnih rež za vso Evropo (Emberson in sod., 2000b).

3.6 STATISTIČNA VREDNOTENJE REZULTATOV

Za računalniško obdelavo meritev smo uporabili osebni računalnik (Compaq Intel(R) Pentium, 4 CPU 1,50 GHz, 130.480 KB RAMA) s široko izbiro uporabniških programov. Statistične analize smo opravili s pomočjo programskega paketa Statistica for Windows 5.5 (StatSoft Inc., 1999).

Podatke smo analizirali s parametričnimi in neparametričnimi statističnimi metodami. Med parametričnimi metodami smo uporabili opisne statistične metode, kot je izračun aritmetičnega povprečja (povp.), standardnega odklona (SD), standardne napake (SE), minimalne in maksimalne vrednosti (min., maks.), mediane (Me) in kvartilnih odmikov ($Q_{25}-Q_{75} = 25\%-75\%$) od povprečja. Uporabili smo še t-test za odvisne vzorce in t-test za neodvisne vzorce, analizo variance (enosmerna ANOVA), test najmanjših statistično značilnih razlik v preskusih mnogoterih primerjav (LSD test) in linearno regresijo (Košmelj, 2001; Mead in Curnow, 1983). Med neparametričnimi metodami smo uporabili Kruskal-Wallisovo ANOVO.

Kot statistično značilne (*) smo sprejeli rezultate primerjav, če je bila velikost statističnega tveganja manjša od 5 % ($p < 0,05$). Kadar je bilo tveganje manjše od 1 % ($p < 0,01$) smo označili primerjavo z dvema zvezdicama (**), s tremi zvezdicami (***) smo označili primerjave, ko je bilo tveganje, da smo se zmotili, manjše od 0,1 % ($p < 0,001$).

4 REZULTATI

4.1 ATLAS OZONSKIH POŠKODB

Biomonitoring vidnih (vizualnih) poškodb višjih rastlin v urbanem in ruralnem okolju so v večini primerov raziskav povezane s spremljanjem učinkov ozona ugotavlja De Temmerman in sod. (2004). Simptomi poškodb listov so specifični za nekatera onesnažila in v mnogih primerih se lahko intenzivnost le teh tudi meri. V nekaterih primerih pa različna zračna onesnažila povzročijo nastanek podobnih ali enakih simptomov (na primer SO_2 in NO_2) ali pa jih niz drugih okoljskih stresov posnema (mimikrija). Zato je izkušnost popisovalca v prepoznavanju vizualnih poškodb na rastlinah nastalih zaradi ozona zelo pomembna za primerljivost rezultatov med leti in med mesti poskusov (Kopušar, 2003b). V raziskavah, kjer različni popisovalci ocenjujejo velikost simptomov (vizualnih poškodb) je potrebno predhodno uskladiti način ocenjevanja in oceniti med raziskovalci odstopanja v ocenah, primer je prikazan v Kopušar (2003b). Biomonitoring vizualnih poškodb na rastlinah predstavlja del pomembnih raziskav v mednarodnem programu ICP Vegetation (Harmens in sod., 2007; Hayes in sod., 2007). Uporabljen je bil tudi v LIFE projektu EuroBionet (Klumpp, 2002; Klumpp in sod., 2002). Po našem mnenju potrebuje neizkušen ocenjevalec, na začetku raziskovalnega dela, slikovni atlas oziroma fotografije ozonskih poškodb z ocenami o velikosti teh. Odločili smo se pripraviti takšen atlas ozonskih poškodb za tiste vrste rastlin, ki smo jih obravnavali, da bi naslednikom tega raziskovalnega področja olajšali delo.

V letu 2002 smo prvič preizkušali bioindikacijsko vrednost plazeče detelje sorte 'Milka' in nizkega fižola sorte 'Berggold' za ozon in druga zračna onesnažila. Obe sta v Sloveniji tržno zanimivi vrsti. Njunio bioindikacijsko vrednost smo primerjali z dobro znano bioindikatorsko rastlino za ozon, tobakom sorte 'Bel W₃'. Biomonitoring ozona s tobakom 'Bel W₃' je poznan že mnogo let in v mnogih različnih državah, na primer v Franciji (Vergé in sod., 2002), Nizozemski (Floor in Posthumus, 1977; Posthumus, 1982b), Nemčiji (Kerpen in Faensen-Thiebes, 1985; Reiner in sod., 1985; Kostka-Rick in Hahn, 2005), Estoniji (Koppel in Sild, 1995), Grčiji (Saitanis in Karandinos, 2001), Španiji (Peñuelas in sod., 1999), Italiji (Calfapietra in sod., 2000; Nali in sod., 2001), Braziliji (Klumpp in sod., 1996; 2000b) in Sloveniji (Batič in sod., 1994). Za tobak so slike listov z različnimi velikostnimi ocenami ozonskih poškodb v prilogi A. Slike iz priloge A so nam bile v pomoč pri terenskem ocenjevanju. Poškodovanost listov je "na oko" nemogoče oceniti na 1 % natančno, takšne ocene so mogoče le z računalniškimi meritvami.

Na vsakem poskusnem mestu smo imeli izpostavljenih 6 rastlin tobaka skupaj s 6 rastlinami fižola in 6 rastlinami plazeče detelje. Fižol in plazeča detelja sta bila izpostavljena v razvojni fazi, ko je bil razvit prvi trojnat list do zaključka poskusa (slika 10 in slika 11), medtem ko smo pri tobaku uporabili metodo izpostavljanja vedno enako starih rastlin. Tobakove rastline smo tako menjali na 14 dni ob vsakem popisu (slika 8), kar je zahtevalo tudi setve in pripravo sadik na 14 dni. Slika 8 prikazuje tobak ob izpostavitvi in zaključku poskusa. Poleg tobaka na stojalih smo imeli tobak v 10 litrskem loncu, vkopanem v tla (slika 9), ki je bil izpostavljen od začetka do zaključka poskusa (približno tri mesece).

Ocene poškodovanosti rastlin zaradi vplivov ozona in drugih zračnih onesnažil smo beležili na terenu v vnaprej pripravljene obrazce (priloga B).

Ozonske poškodbe na listih tobaka, so sprva vidne kot oljni madeži, kasneje se na teh mestih pojavijo bele pege, ki se lahko zlijejo med sabo v večje lise. Bele pege lahko kasneje potemnije, nastanejo nekrotične in ireverzibilne poškodbe. Tem poškodbam sledi propad lista. Stopnjevanje v intenzivnosti ozonskih poškodb listu tobaka smo prikazali na sliki 12.

Na listih plazeče detelje 'Milka' so bile ozonske poškodbe tako dobro prepoznavne kot pri tobaku 'Bel W₃'. Na listih so se pojavile bele pege, ki so bile razsute po celi površini lista v medžilnih predelih (slika 13). Velikost peg oziroma ozonskih poškodb na listih je bila okoli 1 mm. Pogosteje so bile pege manjše kot večje od 1 mm. Bele pege na listih plazeče detelje so od 2 do 5-krat manjše od peg na listih tobaka. Pri plazeči detelji 'Milka' smo vse liste ob popisu prešteli, nato smo poškodovane liste, posebej vsakega zase, razporedili v različne range po deležu poškodovane listne površine. Pri tem smo si poskušali predstavljati vso poškodovano površino (vse ozonske pege) kot eno celoto, ki smo jo nato ocenili kot delež cele ploskve enega trodelnega lista (ene tretjine lista). Ocenjene površine poškodb vseh treh delov istega lista smo sešteli in tako dobili delež poškodovane površine glede na celotno površino lista plazeče detelje. Enako smo ravnali tudi pri fižolu, le da je tu poškodovano površino lažje oceniti, ker je število listov manjše in so ploskve vsakega trodelnega lista večje.



Slika 8: Izgled tobakov 'Bel W₃', izpostavljenih na stojalu pred in po 14-dnevni izpostavitvi.

Figure 8: External appearance of the 'Bel W₃' tobacco plants exposed on a stand as observed before the exposure and after a 14-day exposure.



Slika 9: Izgled tobaka 'Bel W₃' v vkopanem loncu ob izpostavitvi in ob zaključku poskusa.

Figure 9: External appearance of the 'Bel W₃' tobacco in a pot placed into the ground as observed at the time of exposure and at the end of the experiment.



Slika 10: Izgled nizkega fižola 'Berggold' ob izpostavitvi in ob zaključku poskusa.

Figure 10: External appearance of the 'Berggold' dwarf beans at the time of exposure and at the end of the experiment.

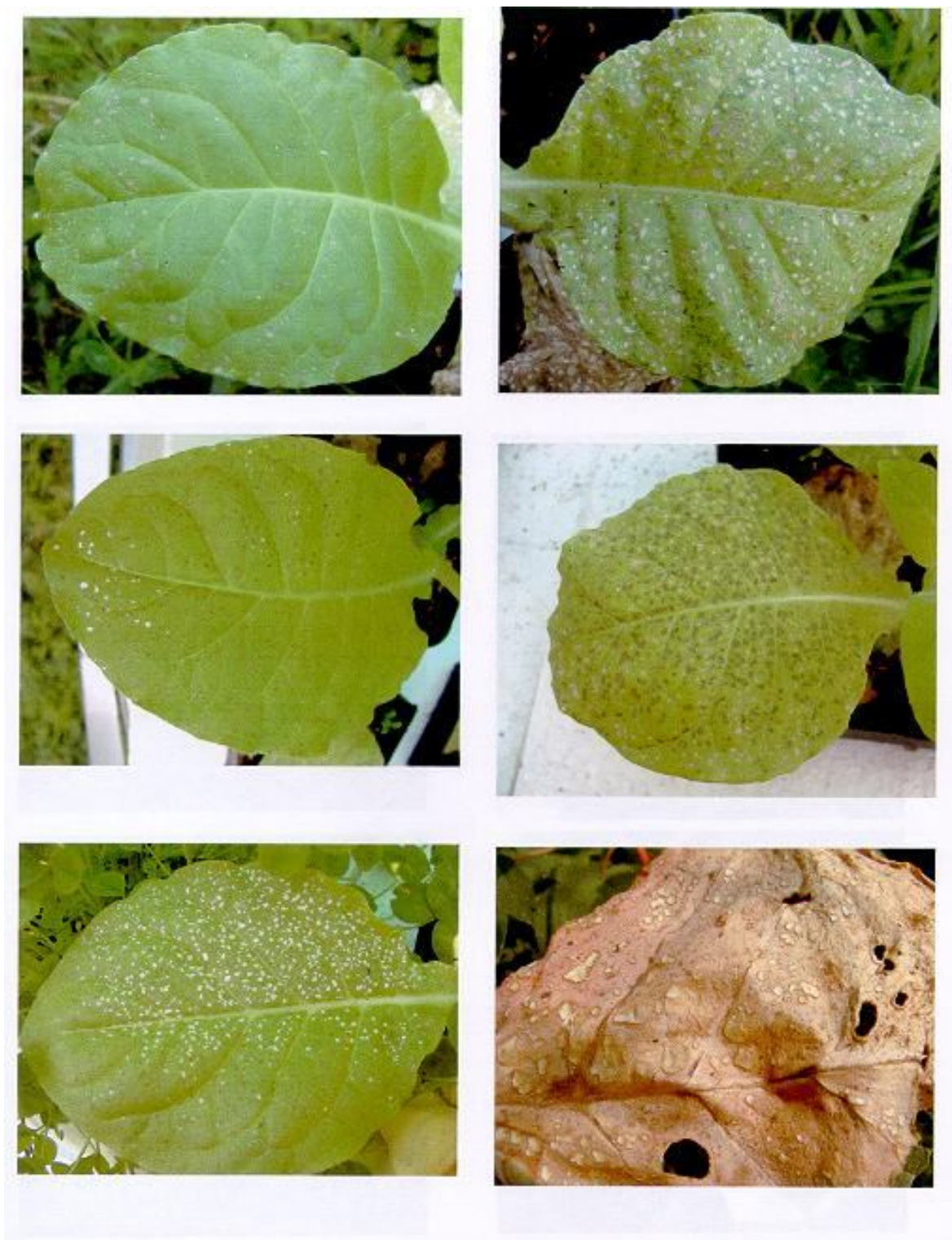


Slika 11: Izgled plazeče detelje 'Milka' ob začetku in koncu poskusov (niz 3 detelj desno na obeh slikah je njihov izgled po 1. in zadnjem vzorčenju).

Figure 11: External appearance of the 'Milka' white clover at the beginning and at the end of conducting experiments (the 3 clover plants to the right of the photographs as after the first and after the last sampling).

Ozonske poškodbe in poškodbe drugih zračnih onesnažil se na fižolu kažejo kot rjavkasto obarvanje medžilnih prostorov (slika 14). Prvi znaki poškodb listne površine so rahla razbarvanja (kloroza) skupine celic. V nadaljevanju izpostavitve celice povrhnjice lista propadejo in nastane temnejše obarvana površina, ki za razliko od ozonskih poškodb na listih tobaka ali plazeče detelje ni okrogle oblike z jasno obrobo, ampak je kot madež razlite tekočine. Zaradi barve imenujemo ta tip poškodb bronzing. Listi fižola so bili proti koncu poskusa celi rjavi, le okoli listnih žil je bilo še opaziti zelenilo. Bili so izpostavljeni zračnim onesnažilom ves čas, to je od začetka rasti do zrelosti strokov, zato so bile poškodbe na listih fižola ob koncu poskusa obsežnejše kot pri detelji ali tobaku, kjer so bili listi izpostavljeni 4 oziroma 2 tedna.

Največ izkušenj pri določevanju poškodovanosti listov zaradi zračnih onesnažil, oziroma ozona, smo pridobili za oba klona plazeče detelje 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal'), saj smo poskuse s to vrsto bioindikatorske rastline izvajali od leta 1997. Ozonske poškodbe na plazeči detelji 'Regal' so natančno opisane v Kopušar (2003b). Bele pege videne s prostim očesom na zgornji strani listov plazeče detelje 'Regal' so pod lupo vidijo kot izbočeno (napihnjeno) tkivo razbarvanih celic (bele ali svetlo rjave barve) ali kot bele ali svetlo rjave vdrtine v kutikuli lista. Ugotavljamo, da ozon sprva povzroči napihnjeno stanje celic, v katerih so kloroplasti že propadli, nato celične stene počijo, pojavijo se vdrtine na zgornji ploskvi listne površine. Okoli vdrtine se pojavi temno zelen obroč celic, kot bi prišlo do kopičenja kloroplastov v okolici nastanka ozonske poškodbe.

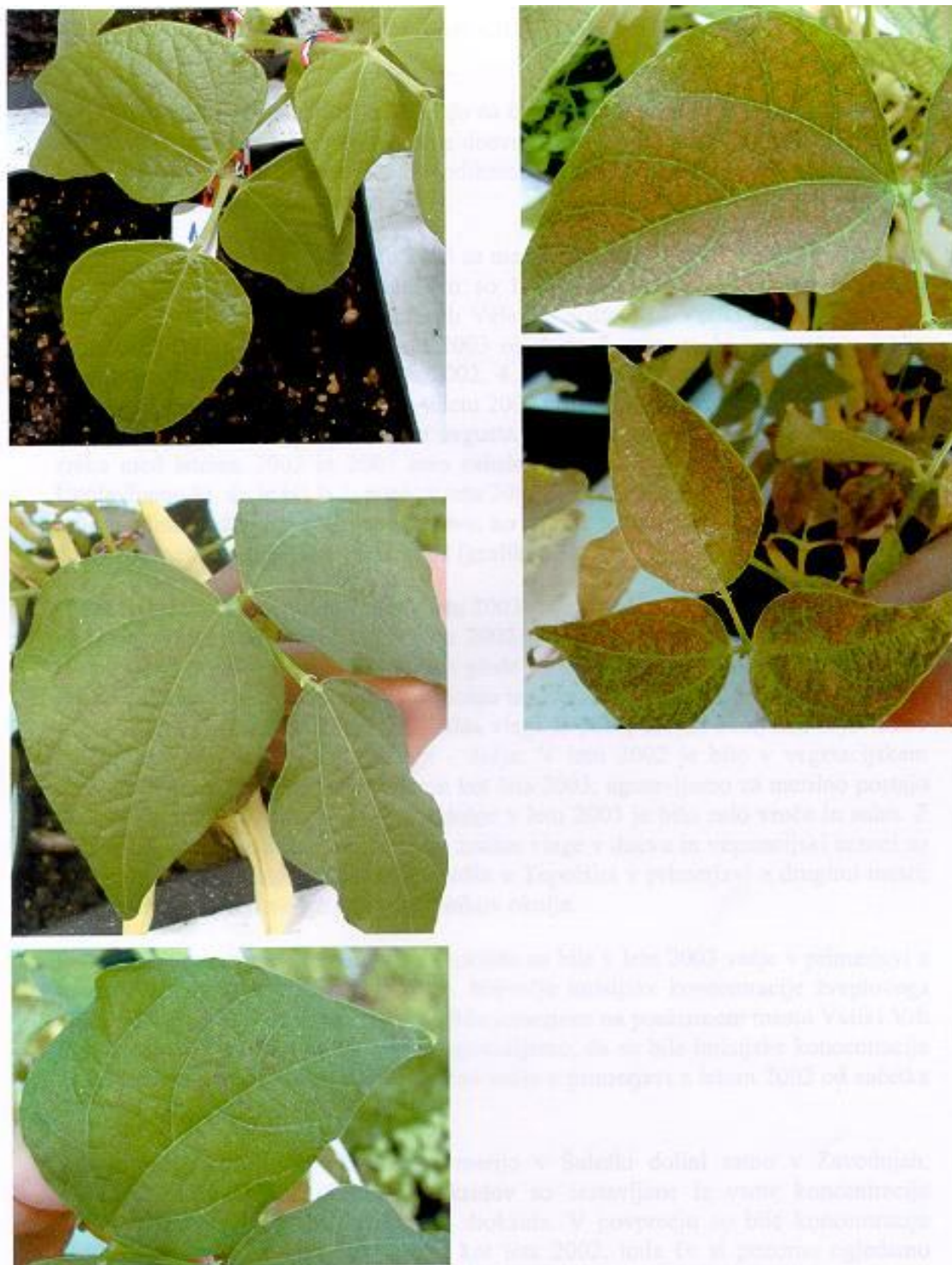


Slika 12: Ozonske poškodbe na listih tobaka 'Bel W₃', od lista z malo poškodb do propada le tega.

Figure 12: Ozone injury on the leaves of the 'Bel W₃' tobacco, from a leaf with little injury to a dead leaf.



Slika 13: Ozonske poškodbe na listih plazече detelje 'Milka', od malo do močno poškodovanih listov.
Figure 13: Ozone injury on the leaves of the 'Milka' white clover, from leaves with little injury to badly damaged ones.



Slika 14: Ozonske poškodbe na listih nizkega fižola 'Berggold', od lista brez poškodb do močno poškodovanega lista.

Figure 14: Ozone injury on the leaves of the 'Berggold' dwarf beans, from an undamaged leaf to a severely injured leaf.

Poškodbe na listih plazeče detelje sorte 'Regal', ki so nastale zaradi bolezni ali škodljivcev se lahko pojavljajo istočasno z ozonskimi poškodbami. Takrat je ločevanje poškodb glede na povzročitelja še zahtevnejše (Kopušar, 2003b). Kot ugotavlja Tarman (1992) je sovplivanje različnih abioitičnih in biotičnih dejavnikov na organizme v naravi vsakdanji pojav. Organizmu, ki je izpostavljen neugodnemu vplivu enega dejavnika, se običajno spremeni tudi strpnost do drugih dejavnikov okolja. Ocenjevalec mora biti več razlikovanja poškodb, ki jih lahko povzročajo različni fitofagni organizmi (škodljivci, glive, virusi) od fizioloških motenj (oziroma kasneje poškodb) nastalih zaradi abioitičnih dejavnikov okolja (O_3 , SO_2 , NO_x , pomanjkanje hranil, temperatura, vlaga...). Mikuševa in sod. (2004) ugotavljajo, da so med herbivornimi organizmi plazeče detelje 'Regal' sesajoče žuželke, ki na listih povzročajo podobne poškodbe kot ozon.

Na poskusnih mestih s plazečo deteljo 'Regal' smo ugotavljali poškodbe listnih zavrtalk *Agromyza nana* Meigen, *Liriomyza congesta* Becker, škržatov *Cicadella viridis* (L.), *Macrostelus cristatus* (Ribaut, 1927), *Psammotettix alienus* (Dhlbm., 1851), *Forcipata citrinella* (Zettstedt, 1828), listnih uši (*Myzus persicae* Sulz.), hržic iz družine Cecidomyiidae, stenic iz družine Miridae (mehkokožne stenice) *Adelphocoris lineolatus* (Goeze.), *Adelphocoris seticornis* (F.), *Rhopalus parumpunctatus* (Schill.), *Lygus rugulipennis* (Poppius), *Notostira erratica* (L.), tobakovega resarja (*Thrips tabaci* Lindeman) in navadno pršico (*Tetranychus urticae* Koch). *Liriomyza congesta* se je dolgo časa v Sloveniji in tudi drugje v Evropi zamenjevala s karantensko vrsto *Liriomyza trifolii* Burgess (1880). Pojavljanje vrste *L. trifolii* v Sloveniji je bilo potrjeno v poznih sedemdesetih letih v rastlinjakih v okolici Brežic. Seljak (2003) ugotavlja, da bolj sistematično spremljanje te vrste na ozemlju Slovenije v zadnjih letih kaže, da je večina ostalih pisnih navedb o pojavljanju te vrste na prostem (npr. tudi v Kopušar, 2003b) najverjetneje napačnih in se po vsej verjetnosti nanašajo na vrsto *L. congesta* (Backer, 1903). Med boleznimi smo beležili okužbe z listno kodravostjo detelje (*Polythrincium trifolii* Kunze) in okužbe z deteljno rjo (*Uromyces flectens* Lagerh.). Ob popisih smo evidentirali tudi virusne okužbe, ki so se najpogosteje pokazale v nenormalni obliki cvetov in zakrneli rasti (slikovno gradivo v Kopušar, 2003b).

Določevanje simptomov ozonskih poškodb na listih rastlin smo izvajali na vedno enak način in je bil že shematsko prikazan v Kopušar 2003b (modificirano po Innes s sod., 2001). Pri določitvi vizualnih ozonskih poškodb, najprej izločimo možnosti pomanjkljive preskrbljenosti rastle s kalijem. Ozonske poškodbe so vedno vidne v medžilnih delih lista. Pogosteje se ozonske poškodbe pojavljajo samo na zgornji povrhnjici lista in redkeje na spodnji in zgornji povrhnjici hkrati. Če je list poškodovan hkrati na obeh straneh, ocenimo ali gre za starejši list. Pri starejših listih se je vpliv ozona kopičil in zato je poškodba napredovala od zgornje listne površine k spodnji. Pri mlajših listih, če sta poškodovani obe strani lista, ne gre za poškodbe, ki bi jih lahko povzročil ozon. Kadar ugotovimo poškodbe samo na zgornji površini lista in izločimo tudi možnosti poškodbe lista zaradi vbodov insektov (pege v gruči ali okoli listnega roba), ocenimo še na katerih listih so te poškodbe intenzivnejše, na starejših ali mlajših. Če se poškodbe (lahko so bele pege ali splošno razbarvanje oziroma obarvanje površine) pojavljajo intenzivneje na strejših listih v primerjavi z mlajšimi, smo lahko z veliko gotovostjo prepričani, da gre za ozonski tip poškodbe listov.

4.2 REZULTATI IZPOSTAVITVE PO ICP VEGETATION PROGRAMU

V okviru ICP Vegetation programa smo spremljali odzive plazeče detelje 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal') na koncentracije ozona in drugih onesnažil v Zavodnjah (Šaleška dolina), Vnajnarjah (obrobje Ljubljanske kotline), Kovku (Zasavje) in Žerjavu (Mežiška dolina). V Žerjavu smo poskuse izvajali na dveh mestih, to je od leta 2000 do 2005 (brez 2004) pri Narodnem domu in od leta 2002 do 2005 (brez 2004) na Matvozovem vrhu. Dodatno poskusno mesto v Žerjavu (Matvozov vrh) smo izbrali zaradi pomanjkanja kontinuiranih okoljskih meritev, tudi koncentracij ozona (O_3), dušikovih oksidov (NO_x) in žvepovega dioksida (SO_2), s katerimi bi lahko primerjali rezultate odziva bioindikatorskih rastlin. Najdaljši časovni niz pokusov imamo v Zavodnjah (od leta 1996 do 2005, razen 1998 in 2004), v Vnajnarjah in Kovku smo poskuse s plazečo deteljo 'Regal' izvajali od 1999 do 2005 (le leta 2004 ne). Na vseh poskusnih mestih smo imeli izpostavljene rastline občutljivega (NC-S klon) in odpornega klona (NC-R klon) plazeče detelje 'Regal'. Rastline so bile požete (žetev) po 28 dnevni (± 2 dni) izpostavljenosti vplivom onesnaženega zraka odvisno od leta, 3 do 5 krat.

Rezultati prikazujejo terenske (poglavje 4.2.1) in laboratorijske meritve (4.2.2).

4.2.1 Rezultati terenskih meritev

Na terenu smo ocenjevali velikost od ozona poškodovane listne površine v odstotkih (%). Te številke smo potem pretvorili v razrede poškodovanosti za vsako rastlino plazeče detelje 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal'). Podatke za vsako žetev smo preračunali v povprečen razred poškodovanosti na poskusno mesto, ker pa je bilo na leto več žetev, smo izračunali povprečne razrede poškodovanosti za vsako leto posebej in jih prikazali v preglednici 18. Beležili smo tudi poškodbe nastale zaradi insektov in bolezni.

Preglednica 18: Razred ozonskih poškodb rastlin na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal'), izpostavljenih vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu (Narodni dom, Matvozov Vrh).

Table 18: Class of ozone injury observed on the plants of the ozone-sensitive (NC-S) and ozone-resistant (NC-R) clones of the 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal') white clover exposed to the influences of polluted air in Zavodnje, Vnajnarje, at Kovk and in Žerjav (Narodni dom, Matvozov Vrh).

Razred poškodb (0-6)		Klon NC-R						Klon NC-S					
		Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me.	Q ₇₅	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me.	Q ₇₅
Zavodnje	1996	0,0	3	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	3	0,0	3,0	3,0	3,0
	1997	1,0	5	1,4	0,0	0,0	2,0	2,6	5	1,5	3,0	3,0	3,0
	1999	0,0	5	0,0	0,0	0,0	0,0	2,8	5	0,8	2,3	2,9	3,0
	2000	0,8	5	1,8	0,0	0,0	0,0	2,0	5	1,2	2,0	2,0	3,0
	2001	0,4	4	0,9	0,0	0,0	0,9	3,4	4	1,4	2,4	3,8	4,4
	2002	0,0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	4	1,3	0,9	2,2	3,1
	2003	0,0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	4	1,2	0,0	1,0	2,1
	2005	1,2	4	1,1	0,4	1,3	2,1	2,3	4	0,7	1,9	2,5	2,8
	Skupaj	0,4	34	0,6	0,1	0,2	0,6	2,4	34	1,0	1,9	2,5	3,0
Vnajnarje	1999	0,5	4	1,0	0,0	0,0	1,0	1,8	4	1,4	0,9	1,9	2,7
	2000	0,3	3	0,6	0,0	0,0	1,0	1,7	3	1,5	0,0	2,0	3,0
	2001	0,3	1	0,0	/	/	/	1,7	1	0,0	/	/	/
	2002	0,0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	4	1,3	0,7	1,6	2,5
	2003	0,0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	4	1,3	0,7	1,9	2,6
	2005	0,8	4	0,8	0,3	0,7	1,3	2,0	4	0,5	1,6	2,1	2,3
	Skupaj	0,3	20	0,4	0,06	0,1	0,7	1,7	20	1,0	0,8	1,9	2,6
	Kovk	1999	0,1	5	0,1	0,1	0,1	0,1	1,0	5	0,4	0,7	0,9
2000		1,3	4	1,5	0,0	1,0	2,5	2,3	4	2,9	0,0	1,5	4,5
2001		0,0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2	4	1,0	2,5	3,1	4,0
2002		0,0	3	0,0	0,0	0,0	0,0	3,1	3	1,2	1,8	3,4	4,1
2003		0,0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	4	1,3	0,7	1,8	2,6
2005		1,5	4	0,7	1,0	1,6	2,0	2,1	4	1,4	1,3	2,7	2,8
Skupaj		0,5	24	0,4	0,2	0,4	0,8	2,2	24	1,4	1,2	2,2	3,2
Žerjav-ND		2000	0,5	4	1,0	0,0	0,0	1,0	2,3	4	1,5	1,5	3,
	2001	0,1	4	0,1	0,0	0,0	0,1	2,0	4	1,2	1,2	2,4	2,9
	2002	0,0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	4	1,1	0,4	1,4	2,2
	2003	0,8	4	1,5	0,0	0,0	1,5	0,6	4	0,7	0,0	0,4	1,2
	2005	1,0	4	0,5	0,6	1,1	1,3	1,8	4	0,3	1,5	1,7	2,0
	Skupaj	0,5	20	0,6	0,1	0,2	0,8	1,6	20	1,0	0,9	1,8	2,2
	Žerjav-MV	2002	0,0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	4	1,4	0,0	0,8
2003		0,6	4	1,3	0,0	0,0	1,3	1,1	4	1,4	0,0	0,8	2,2
2005		0,9	4	0,8	0,2	1,0	1,6	1,4	4	0,9	0,8	1,7	1,9
Skupaj		0,5	12	0,7	0,1	0,3	0,9	1,2	12	1,2	0,3	1,1	2,1
SKUPAJ		0,4	110	0,9	0,0	0,0	0,4	1,9	110	1,3	0,9	2,0	3,0

4.2.2 Rezultati laboratorijskih meritev

V laboratoriju smo nadzemni del rastlin (listi s peclji, cvetovi, stoloni) posušili in stehali, saj smo na ta način spremljali odzive obeh klonov na ozon na ravni pridelka. V preglednici 19 je prikazana povprečna masa posamezne rastline za vsako vzorčenje, v preglednici 20 pa povprečna razmerja med obema klonoma v pridelku. V listih plazeče detelje 'Regal' smo v laboratoriju analizirali vsebnosti alfa tokoferola (preglednica 21), askorbinske kisline (preglednica 22), ksantofilov luteina in zeaksantina (preglednica 23), klorofilov a in b (preglednica 24) in alfa ter beta karotenov (preglednica 25).

Preglednica 19: Masa (g) nadzemnega dela na ozon občutljivega (nov NC-S in star NC-SS klon) in odpornega (NC-R klon) klona plazče detelje 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal'). Rastline plazče detelje 'Regal' so bile požete (Žetev), odvisno od leta, 3- do 5-krat, po 28-dnevni (± 2 dni) izpostavljenosti vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu,

Table 19: The mass (g) of the above-ground parts of the ozone-sensitive (the new NC-S and the old NC-SS) and ozone-resistant (NC-R) clones of the 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal') white clover. The 'Regal' white clover plants were harvested (Žetev), varying from year to year, from three to five times following a 28-day (± 2 days) exposure to the influences of polluted air in Zavodnje, Vnajnarje, at Kovk and in Žerjav.

POSKUSNO MESTO	LETO	Žet.	KLON	Povp. (g)	N	SD	Q ₂₅ (g)	Me (g)	Q ₇₅ (g)
Zavodnje	1996	1	NC-R	19,34	10	5,31	16,53	19,70	22,59
			NC-S	12,91	10	4,28	10,88	13,45	15,95
		2	NC-R	28,89	10	5,74	26,40	27,85	34,75
			NC-S	27,44	10	3,22	27,20	28,40	29,20
		3	NC-R	26,60	10	8,62	24,95	27,15	29,80
			NC-S	28,04	10	7,87	25,25	30,63	33,65
	1997	1	NC-R	1,54	20	0,90	0,60	1,41	2,40
			NC-S	1,42	20	0,46	1,02	1,40	1,64
		2	NC-R	22,45	20	12,34	12,20	21,48	31,15
			NC-S	22,76	20	7,75	18,56	21,90	26,20
		3	NC-R	38,64	20	12,27	29,92	37,71	50,54
			NC-S	39,17	20	7,10	34,44	39,15	45,59
		4	NC-R	30,76	20	9,97	23,25	34,14	37,20
			NC-S	28,50	20	8,22	23,16	27,28	31,55
		5	NC-R	12,84	15	3,95	11,18	12,20	14,88
			NC-S	9,59	14	2,83	8,05	9,82	12,36
	1999	1	NC-R	1,94	20	1,36	1,05	1,75	2,36
			NC-S	1,86	20	2,45	0,68	1,24	1,70
		2	NC-R	13,25	20	8,36	7,56	11,37	16,41
			NC-S	2,42	20	1,10	1,55	2,13	3,01
		3	NC-R	50,78	20	7,82	43,64	50,13	57,64
			NC-S	32,08	20	6,97	27,52	33,85	36,56
		4	NC-R	38,23	20	6,99	35,50	37,85	43,40
			NC-S	35,12	20	5,82	31,00	33,80	40,25
		5	NC-R	25,19	17	5,19	21,13	25,75	28,48
			NC-S	19,71	20	3,63	17,61	19,59	22,49
	2000	1	NC-R	3,88	19	1,81	2,90	3,82	4,55
			NC-S	2,84	20	1,13	1,83	2,99	3,76
		2	NC-R	26,08	20	8,58	21,31	25,80	31,94
			NC-S	25,30	20	6,15	21,54	24,67	28,01
		3	NC-R	53,09	20	14,02	45,81	55,70	62,02
			NC-S	53,65	20	6,02	48,92	53,65	58,87
		4	NC-R	20,88	20	6,82	17,84	21,72	24,72
			NC-S	21,69	20	4,85	18,88	22,01	23,87
		5	NC-R	8,45	20	3,02	6,75	8,42	10,99
			NC-S	8,87	20	1,98	7,74	9,01	10,03
	2001	1	NC-R	8,82	20	2,50	6,74	9,11	10,23
			NC-S	8,00	20	2,58	6,38	7,21	9,08
		2	NC-R	10,74	20	2,26	8,92	10,87	12,74
			NC-S	10,32	20	2,57	8,00	10,15	12,55
		3	NC-R	24,51	20	6,68	20,78	24,91	29,23
			NC-S	19,73	20	6,21	13,47	20,43	24,01
	4	NC-R	8,56	20	2,52	6,90	8,60	10,30	
		NC-S	5,71	20	1,89	4,35	5,75	6,40	

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

POSKUSNO MESTO	LETO	Vz.	KLON	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	2002	1	NC-R	1,83	15	1,23	0,72	1,72	2,74
			NC-S	1,69	17	1,10	0,55	1,79	2,47
		2	NC-R	12,89	16	6,11	9,20	11,45	16,10
			NC-S	12,70	18	7,21	6,90	12,57	19,00
		3	NC-R	21,29	7	4,90	16,40	21,10	26,50
			NC-S	25,48	9	3,90	24,30	25,80	28,50
		4	NC-R	3,03	8	1,74	1,70	2,80	3,80
			NC-S	4,19	18	1,79	3,00	4,35	5,20
	2003	1	NC-R	5,89	6	1,27	4,72	5,56	7,10
			NC-S	6,87	6	2,56	5,82	6,01	6,65
			NC-SS	4,37	4	2,52	2,41	4,59	6,34
			NC-R	19,59	6	2,68	17,00	19,78	21,54
			NC-S	13,41	6	3,44	11,44	14,87	15,79
			NC-SS	12,80	4	5,78	8,07	11,68	17,53
		3	NC-R	17,03	6	7,59	18,34	19,89	20,75
			NC-S	12,64	6	2,79	10,31	13,01	14,78
	2003		NC-SS	17,52	4	9,44	12,44	22,01	22,60
			NC-R	8,96	6	5,16	4,18	9,80	13,77
			NC-S	7,16	6	1,98	6,74	7,59	8,27
			NC-SS	7,67	4	1,55	6,51	7,20	8,84
		5	NC-R	7,46	6	1,25	6,56	7,28	8,47
			NC-S	9,42	4	3,81	7,10	10,75	11,74
			NC-SS	5,69	3	2,88	3,85	4,21	9,00
			2005	1	NC-R	11,47	5	8,50	4,27
	NC-S	14,50	5		5,44	9,63	17,12	17,62	
		2	NC-R	28,09	5	8,74	21,11	26,81	34,11
			NC-S	28,16	5	6,83	27,72	29,98	32,46
		3	NC-R	17,76	5	9,77	13,13	20,04	23,33
			NC-S	15,69	5	4,79	14,81	16,03	19,54
		4	NC-R	9,91	3	3,38	6,08	11,17	12,48
NC-S			11,70	3	4,71	7,78	10,39	16,93	
Vnajnarje	1999	1	NC-R	1,52	20	0,82	1,06	1,32	2,02
			NC-S	1,11	20	0,66	0,67	1,04	1,62
		2	NC-R	23,42	20	8,06	19,12	23,82	29,50
			NC-S	18,04	20	5,72	14,41	17,51	23,17
		3	NC-R	25,45	20	10,05	18,75	24,65	31,65
			NC-S	26,36	20	5,81	24,20	26,60	30,05
	2000	1	NC-R	1,21	9	0,65	0,80	1,31	1,58
			NC-S	2,82	9	1,01	2,21	2,55	3,18
		2	NC-R	14,51	10	8,34	5,08	15,20	23,13
			NC-S	20,13	10	8,99	14,16	21,88	26,17
		3	NC-R	23,11	10	11,11	17,59	20,12	35,60
			NC-S	31,26	10	6,15	28,24	32,24	33,33
		4	NC-R	1,07	10	0,79	0,67	0,78	1,44
			NC-S	2,12	10	1,18	1,45	1,81	3,39
		5	NC-R	1,50	10	1,30	0,48	1,57	1,81
			NC-S	2,79	10	1,02	2,05	3,03	3,56

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

POSKUSNO MESTO	LETO	Vz.	KLON	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Vnajnarje	2001	1	NC-R	12,79	10	3,50	11,19	11,96	15,65
			NC-S	10,95	10	3,64	8,78	11,18	12,76
		2	NC-R	37,10	10	8,44	34,60	36,95	41,80
			NC-S	36,76	10	3,55	35,70	36,80	38,40
		3	NC-R	3,04	9	0,89	2,50	2,70	3,80
			NC-S	3,25	10	0,85	2,80	3,15	3,50
	2002	1	NC-R	3,70	9	2,88	2,10	2,90	5,30
			NC-S	3,29	9	2,09	1,90	3,50	5,20
		2	NC-R	20,27	9	8,28	16,00	16,40	23,70
			NC-S	19,53	9	8,61	13,60	19,30	26,00
		3	NC-R	17,89	9	6,60	15,49	17,90	23,00
			NC-S	19,22	5	6,11	14,12	16,88	23,01
		4	NC-R	5,63	8	1,22	4,55	5,20	6,90
			NC-S	4,98	5	3,22	2,90	3,80	6,40
	2003	1	NC-R	2,26	5	1,97	0,87	1,52	2,52
			NC-S	2,31	6	1,32	0,86	2,75	3,07
			NC-SS	1,90	6	1,25	0,96	1,53	2,48
			2	NC-R	12,70	5	6,77	8,65	8,97
				NC-S	11,89	5	7,38	7,14	13,64
					NC-SS	10,58	5	7,72	5,76
		3			NC-R	12,75	5	3,35	11,21
					NC-S	8,37	6	4,11	8,44
					NC-SS	9,61	4	5,09	6,45
				4	NC-R	15,64	4	4,47	12,41
					NC-S	10,57	6	6,22	6,11
					NC-SS	10,26	3	4,14	6,37
		5			NC-R	6,93	2	3,11	4,73
					NC-S	6,67	3	1,99	4,90
	2005	1			NC-R	15,48	5	6,37	12,22
					NC-S	14,17	5	6,81	11,81
		2			NC-R	15,72	5	3,31	14,06
					NC-S	13,71	5	4,93	12,89
	3	NC-R			18,60	5	9,37	16,89	19,26
		2005		NC-S	19,03	5	9,27	13,08	21,26
	4			NC-R	4,53	4	1,70	3,24	4,75
				NC-S	7,80	4	6,05	3,23	6,77
Kovk	1999			1	NC-R	1,85	20	1,00	1,15
		NC-S	0,91		20	0,77	0,49	0,58	1,11
		2	NC-R	19,75	20	5,59	14,65	19,75	24,73
			NC-S	10,33	20	5,92	4,32	10,48	15,49
		3	NC-R	13,27	20	4,12	11,24	13,40	16,10
			NC-S	13,24	20	4,61	9,52	14,28	16,80
		4	NC-R	13,77	20	4,23	11,20	14,35	16,55
			NC-S	16,07	20	7,43	11,15	15,20	21,75
		5	NC-R	19,54	20	2,83	17,55	20,05	20,91
			NC-S	19,53	20	3,82	16,65	18,74	21,44
	2000	1	NC-R	2,26	10	0,98	1,57	2,35	3,25
			NC-S	2,00	10	1,05	1,17	1,79	2,08
		2	NC-R	18,13	10	7,25	11,92	15,73	23,37
			NC-S	13,22	10	6,39	7,24	13,41	19,63

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

POSKUSNO MESTO	LETO	Vz.	KLON	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Kovk	2000	3	NC-R	12,01	10	5,91	6,49	12,98	17,76
			NC-S	8,84	10	2,62	6,70	8,83	11,07
		4	NC-R	8,50	10	3,01	6,43	8,20	11,10
			NC-S	9,77	10	2,36	8,58	9,26	12,26
		5	NC-R	10,29	10	5,54	7,28	8,70	14,90
			NC-S	12,42	10	6,03	10,33	10,67	11,20
	2001	1	NC-R	8,21	10	2,43	5,83	7,96	9,51
			NC-S	9,23	10	2,52	8,38	9,17	10,70
		2	NC-R	22,26	10	5,42	19,78	23,40	24,64
			NC-S	23,91	10	7,72	21,80	24,20	30,10
		3	NC-R	15,21	10	6,75	12,91	15,60	19,98
			NC-S	17,24	10	4,49	14,18	17,72	19,44
		4	NC-R	7,94	9	2,97	6,60	8,80	9,90
			NC-S	7,61	10	2,65	4,90	7,80	10,00
	2002	1	NC-R	3,18	8	2,10	1,25	3,10	5,10
			NC-S	2,17	9	1,97	0,80	1,20	3,40
		2	NC-R	25,65	8	9,11	17,85	26,50	33,20
			NC-S	22,86	9	6,41	18,80	22,60	27,00
		4	NC-R	15,43	8	8,57	9,30	15,80	21,50
			NC-S	13,27	10	4,73	10,70	12,65	17,10
	2003	1	NC-R	6,88	6	1,62	5,64	6,63	8,25
			NC-S	7,69	6	2,40	5,56	7,57	8,53
			NC-SS	3,62	6	2,11	1,65	4,08	5,00
			2	NC-R	15,47	5	3,56	12,31	16,10
				NC-S	13,35	6	5,29	11,61	14,27
					NC-SS	17,47	4	2,72	15,18
		3			NC-R	8,64	6	3,45	8,28
					NC-S	7,62	6	1,81	5,99
					NC-SS	8,85	5	1,73	8,97
				4	NC-R	8,55	6	4,68	5,87
					NC-S	5,51	6	1,89	4,13
					NC-SS	7,11	5	2,26	5,95
		5			NC-R	9,61	6	3,74	8,02
					NC-S	10,26	6	1,95	9,55
					NC-SS	6,94	4	3,18	4,89
			2005	1	NC-R	18,65	5	9,06	12,38
					NC-S	15,47	5	10,01	9,91
				2	NC-R	13,08	5	3,01	12,03
					NC-S	10,49	5	5,74	6,92
				3	NC-R	21,42	5	4,97	17,66
		NC-S			21,25	5	9,22	21,38	21,50
			4	NC-R	7,97	4	3,17	5,28	8,31
				NC-S	4,61	3	2,83	1,44	5,50
		Žerjav-Narodni dom	2000	1	NC-R	6,69	10	2,29	5,22
NC-S	5,45				9	1,51	4,46	5,55	6,46
	2		NC-R	29,35	10	9,69	22,84	32,10	34,12
			NC-S	27,70	10	11,20	21,43	29,20	36,91
	3		NC-R	24,72	10	3,31	22,79	25,17	26,95
			NC-S	18,94	10	7,52	17,77	19,84	24,43

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

POSKUSNO MESTO	LETO	Vz.	KLON	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Žerjav-Narodni dom	2000	4	NC-R	12,96	10	6,37	7,58	10,37	16,80
			NC-S	15,67	10	4,26	13,35	16,13	19,26
		5	NC-R	3,53	10	1,26	2,72	3,29	3,91
			NC-S	3,20	10	1,44	2,15	2,69	4,10
	2001	1	NC-R	4,30	10	1,27	3,55	3,95	5,09
			NC-S	5,30	10	1,60	4,19	5,29	6,86
		2	NC-R	17,97	10	4,73	14,66	17,05	19,79
			NC-S	22,46	10	7,67	15,06	21,40	27,94
		3	NC-R	28,44	10	6,77	23,36	29,09	31,10
			NC-S	24,68	10	4,57	23,23	24,52	27,38
		4	NC-R	3,98	10	1,05	3,60	4,25	4,60
			NC-S	4,28	9	1,23	3,90	4,20	4,80
	2002	1	NC-S	4,85	10	2,61	2,60	5,00	6,70
			NC-S	45,54	10	11,52	32,90	47,45	54,60
		3	NC-R	20,42	4	7,82	15,75	17,95	25,10
			NC-S	20,37	5	1,31	19,50	19,91	20,79
		4	NC-R	6,30	4	1,06	5,60	6,30	7,00
			NC-S	8,14	5	1,79	7,50	8,20	9,40
	2003	1	NC-R	0,54	6	0,29	0,29	0,55	0,84
			NC-S	0,74	6	0,31	0,44	0,72	1,02
			NC-SS	0,91	6	0,67	0,48	0,68	1,46
			NC-R	7,59	3	4,75	2,12	9,88	10,76
			NC-S	9,17	5	5,59	3,13	12,61	13,02
			NC-SS	9,80	5	3,17	8,01	8,77	11,29
		3	NC-R	19,54	4	12,64	10,98	24,04	28,11
			NC-S	15,42	6	6,59	14,61	15,73	20,81
			NC-SS	15,96	5	2,06	15,32	16,43	17,12
			NC-R	17,84	4	2,50	16,25	17,04	19,43
			NC-S	14,40	6	3,98	10,49	15,65	17,34
			NC-SS	14,22	5	3,20	12,39	14,87	15,93
		5	NC-R	14,05	4	7,35	9,68	12,12	18,43
			NC-S	12,80	6	2,38	10,43	12,86	14,91
			NC-SS	14,87	5	2,96	13,34	15,47	15,90
			2005	1	NC-R	12,53	5	9,79	5,07
		NC-S	20,66		5	9,56	20,58	21,70	24,11
		2	NC-R	17,12	5	6,92	11,86	17,29	23,76
			NC-S	17,12	5	8,45	10,63	11,90	26,11
		3	NC-R	11,91	5	4,00	9,26	9,61	13,85
			NC-S	11,03	6	3,19	8,71	10,33	14,36
		4	NC-R	9,34	5	3,12	6,48	8,89	12,37
NC-S			10,25	4	2,18	8,61	10,73	11,89	
Žerjav - Matvozov vrh	2002	1	NC-S	6,04	9	1,47	6,00	6,20	6,60
			NC-S	42,16	10	11,60	32,10	44,20	50,50
		3	NC-R	19,82	4	3,72	16,98	20,65	22,66
			NC-S	19,23	5	3,40	16,43	19,20	22,61
		4	NC-R	5,58	5	0,54	5,00	5,90	5,90
			NC-S	6,52	5	1,42	5,10	7,30	7,30
	2003	1	NC-R	1,91	6	0,46	1,57	1,93	2,28
			NC-S	1,92	6	0,91	1,05	2,22	2,32
			NC-SS	0,94	6	0,46	0,74	0,89	1,44

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

POSKUSNO MESTO	LETO	Vz.	KLON	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅	
Žerjav - Matvozov vrh	2003	2	NC-R	15,30	6	4,37	10,35	17,26	18,01	
			NC-S	18,74	6	8,19	10,43	18,22	27,29	
			NC-SS	11,90	6	6,00	9,77	13,81	15,95	
	3	3	NC-R	26,80	6	6,64	21,81	24,33	31,88	
			NC-S	24,56	6	3,98	21,36	24,42	25,85	
			NC-SS	23,90	6	9,91	25,10	27,18	28,45	
	4	4	NC-R	19,39	5	3,54	17,68	19,27	19,50	
			NC-S	16,96	5	5,25	13,37	14,87	22,09	
			NC-SS	12,65	6	4,14	10,10	11,95	16,40	
	5	5	NC-R	9,20	2	3,08	7,02	9,20	11,38	
			NC-S	8,98	1	/	/	/	/	
			NC-SS	11,02	1	/	/	/	/	
	2005	1	1	NC-R	8,91	4	5,70	4,85	8,77	12,96
				NC-S	9,93	5	6,05	8,51	8,69	10,45
				NC-SS	10,58	5	8,97	3,08	9,93	16,15
		2	2	NC-R	13,74	5	5,94	10,44	14,12	18,72
				NC-S	7,72	5	5,42	5,26	7,75	9,21
				NC-SS	9,80	5	6,31	4,82	9,09	12,04
3		3	NC-R	3,99	4	3,04	1,81	3,53	6,17	
			NC-S	7,83	3	4,44	3,38	7,86	12,26	
			NC-SS							

Preglednica 20: Razmerje med klonoma (NC-S/NC-R; na ozon občutljiv klon = NC-S; na ozon odporen klon = NC-R) plazeče detelje 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal') v masi nadzemnega dela. Rastline plazeče detelje 'Regal' so bile izpostavljene vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajarjah, Kovku in Žerjavu.

Table 20: The ratio of the NC-S clone to the NC-R clone (ozone-sensitive clone = NC-S; ozone-resistant clone = NC-R) of the 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal') white clover in the mass of the above-ground parts. The 'Regal' white clover plants were exposed to the influences of polluted air in Zavodnje, Vnajarje, at Kovk and in Žerjav.

POSKUSNO MESTO	LETO	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	1996	0,89	3	0,20	0,67	0,95	1,05
	1997	0,93	5	0,11	0,92	0,93	1,01
	1999	0,69	5	0,31	0,63	0,78	0,92
	2000	0,96	5	0,13	0,97	1,01	1,04
	2001	0,83	4	0,13	0,74	0,86	0,93
	2002	1,12	4	0,21	0,96	1,09	1,29
	2003	0,93	5	0,26	0,74	0,80	1,17
	2005	1,08	4	0,17	0,94	1,09	1,22
	<i>Skupaj</i>	<i>0,93</i>	<i>35</i>	<i>0,19</i>	<i>0,82</i>	<i>0,94</i>	<i>1,08</i>
Vnajarje	1999	0,85	3	0,16	0,73	0,77	1,04
	2000	0,59	5	0,14	0,51	0,54	0,72
	2001	0,97	3	0,11	0,86	0,99	1,07
	2002	0,83	4	0,16	0,74	0,89	0,93
	2003	0,85	5	0,17	0,68	0,94	0,96
	2005	1,13	4	0,40	0,89	0,97	1,37
	<i>Skupaj</i>	<i>0,87</i>	<i>24</i>	<i>0,19</i>	<i>0,73</i>	<i>0,85</i>	<i>1,01</i>

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

POSKUSNO MESTO	LETO	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Kovk	1999	0,84	5	0,31	0,52	1,00	1,00
	2000	0,94	5	0,23	0,74	0,89	1,15
	2001	1,07	4	0,08	1,02	1,10	1,13
	2002	0,79	3	0,15	0,61	0,86	0,89
	2003	0,91	5	0,19	0,86	0,88	1,07
	2005	0,80	4	0,17	0,69	0,82	0,91
	<i>Skupaj</i>	<i>0,89</i>	<i>26</i>	<i>0,19</i>	<i>0,74</i>	<i>0,92</i>	<i>1,02</i>
Žerjav-Narodni dom	2000	0,91	5	0,19	0,77	0,91	0,94
	2001	1,11	4	0,18	0,97	1,15	1,24
	2002	1,14	2	0,21	1,00	1,14	1,29
	2003	1,02	5	0,26	0,81	0,91	1,21
	2005	1,17	4	0,33	0,96	1,05	1,37
	<i>Skupaj</i>	<i>1,07</i>	<i>20</i>	<i>0,23</i>	<i>0,90</i>	<i>1,03</i>	<i>1,21</i>
Žerjav-Matvozov vrh	2002	1,07	2	0,14	0,97	1,07	1,17
	2003	1,00	5	0,14	0,92	0,98	1,00
	2005	1,41	4	0,38	1,19	1,28	1,63
	<i>Skupaj</i>	<i>1,16</i>	<i>11</i>	<i>0,22</i>	<i>1,03</i>	<i>1,11</i>	<i>1,27</i>
SKUPAJ		0,95	116	0,25	0,79	0,95	1,07

Preglednica 21: Vsebnosti alfa tokoferola (mg/g SS) v listih na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal'), izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu.

Table 21: Alpha-tocopherol levels (mg/g SS) in the leaves of the ozone-sensitive (NC-S) and ozone-resistant (NC-R) clones of the 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal') white clover, exposed to the influences of polluted air in Zavodnje, Vnajnarje, at Kovk and in Žerjav.

Alfa tokoferol (mg/g SS)		Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Klon NC-R	Zavodnje	0,03	23	0,03	0,01	0,02	0,03
	Vnajnarje	0,04	15	0,04	0,01	0,02	0,05
	Kovk	0,06	13	0,03	0,03	0,05	0,07
	Žerjav-Narodni dom	0,02	13	0,01	0,01	0,02	0,03
	Žerjav-Matvozov vrh	0,04	16	0,03	0,02	0,03	0,05
	<i>Skupaj</i>	<i>0,04</i>	<i>80</i>	<i>0,03</i>	<i>0,02</i>	<i>0,03</i>	<i>0,05</i>
Klon NC-S	Zavodnje	0,06	35	0,06	0,02	0,04	0,07
	Vnajnarje	0,06	25	0,04	0,03	0,04	0,09
	Kovk	0,08	25	0,04	0,04	0,08	0,11
	Žerjav-Narodni dom	0,06	27	0,06	0,03	0,04	0,05
	Žerjav-Matvozov vrh	0,06	24	0,03	0,04	0,06	0,08
	<i>Skupaj</i>	<i>0,06</i>	<i>136</i>	<i>0,05</i>	<i>0,03</i>	<i>0,05</i>	<i>0,08</i>
SKUPAJ		0,05	216	0,05	0,02	0,04	0,07

Preglednica 22: Vsebnosti askorbinske kisline (mg/g SS) v listih na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal'), izpostavljene vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu (Narodni dom, Matvozov Vrh).

Table 22: Ascorbic acid levels (mg/g SS) in the leaves of the ozone-sensitive (NC-S) and ozone-resistant (NC-R) clones of the 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal') white clover, exposed to the influences of polluted air in Zavodnje, Vnajnarje, at Kovk and in Žerjav (Narodni dom, Matvozov Vrh).

Askorbinska kislina (mg/g SS)	Klon NC-R						Klon NC-S						
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me.	Q ₇₅	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me.	Q ₇₅	
	1997	0,082	50	0,041	0,058	0,076	0,099	0,094	47	0,046	0,069	0,080	0,115
	1999	0,123	20	0,063	0,081	0,114	0,155	0,127	20	0,078	0,062	0,103	0,201
	2000	0,062	2	0,003	0,060	0,062	0,064	0,094	2	0,018	0,081	0,094	0,106
	2001	0,135	10	0,054	0,075	0,140	0,148	0,158	9	0,052	0,132	0,154	0,181
	2002	0,086	15	0,088	0,020	0,030	0,170	0,117	25	0,101	0,050	0,070	0,150
	2003	0,132	9	0,080	0,080	0,130	0,170	0,156	18	0,066	0,090	0,170	0,210
	2005	0,010	1	0,000	-	-	-	0,020	1	0,000	-	-	-
	Skupaj	0,090	107	0,047	0,062	0,092	0,134	0,109	122	0,051	0,081	0,112	0,161
Vnajnarje	1999	0,064	10	0,034	0,033	0,052	0,096	0,116	10	0,089	0,037	0,082	0,206
	2000	0,051	1	0,000	-	-	-	0,074	1	0,000	-	-	-
	2001	0,055	2	0,018	0,042	0,055	0,068	0,087	2	0,009	0,080	0,087	0,093
	2002	0,026	5	0,030	0,010	0,010	0,020	0,053	7	0,056	0,010	0,050	0,060
	2003	0,126	8	0,068	0,070	0,120	0,170	0,136	16	0,050	0,105	0,145	0,160
	2005	0,040	1	0,000	-	-	-	0,020	1	0,000	-	-	-
	Skupaj	0,060	27	0,025	0,039	0,059	0,089	0,081	37	0,034	0,058	0,091	0,130
Kovk	1999	0,034	10	0,009	0,029	0,031	0,038	0,039	10	0,015	0,029	0,035	0,041
	2000	0,086	1	0,000	-	-	-	0,199	1	0,000	-	-	-
	2001	0,094	6	0,036	0,076	0,087	0,134	0,131	6	0,024	0,125	0,131	0,152
	2002	0,050	2	0,042	0,020	0,050	0,080	0,118	4	0,064	0,080	0,100	0,155
	2003	0,079	8	0,054	0,040	0,070	0,090	0,142	18	0,068	0,100	0,120	0,190
	2005	0,020	1	0,000	-	-	-	0,030	1	0,000	-	-	-
	Skupaj	0,060	28	0,024	0,041	0,060	0,086	0,110	40	0,029	0,084	0,097	0,135
Žerjav-MV	2002	0,040	3	0,020	0,020	0,040	0,060	0,059	8	0,028	0,035	0,060	0,080
	2003	0,097	9	0,047	0,050	0,100	0,140	0,124	18	0,055	0,080	0,125	0,170
	2005	0,070	1	0,000	-	-	-	0,030	1	0,000	-	-	-
	Skupaj	0,069	13	0,022	0,035	0,070	0,100	0,071	27	0,028	0,058	0,093	0,125
Žerjav-ND	1999	0,044	5	0,014	0,040	0,044	0,047	0,061	5	0,013	0,048	0,060	0,070
	2000	0,082	2	0,008	0,076	0,082	0,087	0,066	2	0,011	0,058	0,066	0,073
	2001	0,058	4	0,010	0,051	0,059	0,066	0,115	4	0,043	0,087	0,118	0,143
	2002	0,148	6	0,088	0,100	0,140	0,180	0,080	4	0,042	0,050	0,095	0,110
	2003	0,109	9	0,052	0,080	0,090	0,110	0,176	18	0,072	0,110	0,160	0,230
	2005	0,070	1	0,000	-	-	-	0,010	1	0,000	-	-	-
	Skupaj	0,085	27	0,028	0,069	0,083	0,098	0,084	34	0,030	0,071	0,100	0,125
SKUPAJ	0,088	202	0,059	0,045	0,076	0,111	0,115	260	0,070	0,067	0,100	0,160	

Preglednica 23: Vsebnosti ksantofilov, luteina in zeaksantina (mg/g SS) v listih na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal'), izpostavljene vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu (Narodni dom, Matvozov Vrh).

Table 23: Levels of xanthophylls, lutein and zeaxanthin (mg/g SS) in the leaves of the ozone-sensitive (NC-S) and ozone-resistant (NC-R) clones of the 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal') white clover exposed to the influences of polluted air in Zavodnje, Vnajnarje, at Kovk and in Žerjav (Narodni dom, Matvozov Vrh).

Vsebnost ksantofilov (mg/g SS)		Lutein						Zeaksantin					
		Klon NC-R			Klon NC-S			Klon NC-R			Klon NC-S		
		Povp.	N	SD	Povp.	N	SD	Povp.	N	SD	Povp.	N	SD
Zavodnje	1996	0,298	22	0,155	0,332	21	0,092	0,004	14	0,003	0,007	11	0,009
	1997	0,240	40	0,105	0,293	44	0,138	0,007	31	0,006	0,013	41	0,010
	1999	0,754	20	0,136	0,731	20	0,197	0,083	20	0,025	0,102	20	0,040
	2000	0,817	7	0,179	0,817	8	0,151	0,019	7	0,008	0,035	8	0,021
	2001	2,382	10	0,582	2,537	9	0,592	0,098	10	0,013	0,102	9	0,016
	2002	0,309	12	0,059	0,312	14	0,085	0,039	12	0,006	0,045	14	0,008
	2003	0,462	9	0,161	0,483	18	0,144	0,051	9	0,006	0,060	18	0,008
	2005	0,291	1	-	0,322	1	-	0,011	1	-	0,011	1	-
	Skupaj	0,570	121	0,617	0,572	135	0,590	0,038	104	0,037	0,046	122	0,041
Vnajnarje	1999	0,960	10	0,341	0,973	10	0,175	0,062	10	0,023	0,066	10	0,016
	2000	0,480	2	0,083	0,627	2	0,227	0,013	2	0,000	0,029	2	0,001
	2001	2,655	2	0,120	2,800	2	0,127	0,127	2	0,003	0,137	2	0,001
	2002	0,340	5	0,038	0,387	6	0,065	0,036	5	0,002	0,045	6	0,009
	2003	0,353	8	0,044	0,327	16	0,056	0,042	8	0,006	0,042	16	0,005
	2005	0,626	1	-	0,823	1	-	0,021	1	-	0,021	1	-
	Skupaj	0,751	28	0,640	0,674	37	0,596	0,051	28	0,029	0,053	37	0,026
Kovk	1999	0,765	10	0,228	0,702	10	0,163	0,075	10	0,002	0,096	10	0,059
	2000	0,675	2	0,064	0,744	2	0,025	0,013	2	0,000	0,030	2	0,004
	2001	1,193	7	0,278	1,381	5	0,287	0,089	7	0,007	0,093	5	0,010
	2002	0,428	2	0,153	0,393	4	0,147	0,043	2	0,008	0,050	4	0,006
	2003	0,377	8	0,056	0,385	18	0,066	0,045	8	0,006	0,048	18	0,009
	2005	0,657	1	-	0,800	1	-	0,019	1	-	0,021	1	-
	Skupaj	0,729	30	0,357	0,618	40	0,356	0,062	30	0,025	0,064	40	0,038
Žerjav-MV	2002	0,347	3	0,003	0,501	8	0,121	0,042	3	0,001	0,059	8	0,006
	2003	0,471	9	0,070	0,471	18	0,075	0,054	9	0,006	0,059	18	0,010
	2005	0,584	1	-	0,661	1	-	0,023	1	-	0,025	1	-
	Skupaj	0,451	13	0,088	0,486	27	0,095	0,049	13	0,011	0,058	27	0,011
Žerjav-ND	1999	0,855	5	0,086	0,882	5	0,154	0,036	5	0,000	0,042	5	0,012
	2000	0,653	2	0,000	0,786	2	0,153	0,013	2	0,000	0,013	2	0,000
	2001	1,435	4	0,202	1,695	4	0,200	0,084	4	0,008	0,090	4	0,012
	2002	0,369	6	0,034	0,434	4	0,159	0,056	6	0,013	0,049	4	0,009
	2003	0,355	9	0,105	0,440	18	0,102	0,039	9	0,004	0,049	18	0,006
	2005	0,617	1	-	0,593	1	0,000	0,027	1	-	0,024	1	-
	Skupaj	0,643	27	0,401	0,676	34	0,431	0,047	27	0,021	0,050	34	0,019
SKUPAJ		0,617	219	0,551	0,597	273	0,513	0,045	202	0,032	0,051	260	0,034

Preglednica 24: Vsebnosti klorofila a in b (mg/g SS) v listih na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal'), izpostavljene vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu (Narodni dom, Matvozov Vrh).

Table 24: Levels of chlorophylls a and b (mg/g SS) in the leaves of the ozone-sensitive (NC-S) and ozone-resistant (NC-R) clones of the 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal') white clover exposed to the influences of polluted air in Zavodnje, Vnajnarje, at Kovk and in Žerjav (Narodni dom, Matvozov Vrh).

Vsebnost klorofilov (mg/g SS)	Klorofil a						Klorofil b						
	Klon NC-R			Klon NC-S			Klon NC-R			Klon NC-S			
	Povp.	N	SD	Povp.	N	SD	Povp.	N	SD	Povp.	N	SD	
Zavodnje	1996	1,317	22	0,287	1,450	21	0,392	0,773	22	0,290	0,927	21	0,207
	1997	1,482	40	0,430	1,409	44	0,437	0,765	39	0,330	0,859	44	0,354
	1999	2,179	20	0,620	1,801	20	0,547	1,870	20	0,451	1,481	20	0,357
	2000	4,694	7	0,606	4,502	8	0,365	1,006	7	0,186	0,869	8	0,109
	2001	10,260	10	1,786	10,181	9	1,565	2,028	10	0,386	1,959	9	0,362
	2002	4,163	12	0,731	3,782	14	1,218	0,951	12	0,142	0,862	14	0,270
	2003	5,928	9	1,619	5,781	18	1,478	1,702	9	0,552	1,570	18	0,455
	2005	3,510	1	-	3,560	1	-	1,370	1	-	1,360	1	-
	Skupaj	3,092	121	2,711	3,087	135	2,611	1,164	120	0,610	1,135	135	0,489
Vnajnarje	1999	3,156	10	0,994	2,981	10	0,307	2,589	10	0,721	2,318	10	0,271
	2000	3,488	2	0,797	4,092	2	1,691	0,642	2	0,226	0,748	2	0,415
	2001	9,320	2	0,028	9,730	2	0,806	2,195	2	0,078	2,165	2	0,035
	2002	4,332	5	0,586	4,680	6	0,795	1,032	5	0,167	1,037	6	0,112
	2003	4,624	8	0,600	3,984	16	0,687	1,306	8	0,174	1,073	16	0,201
	2005	5,240	1	-	6,260	1	-	1,900	1	-	2,360	1	-
	Skupaj	4,324	28	1,721	4,204	37	1,642	1,753	28	0,842	1,480	37	0,649
	Kovk	1999	2,167	10	0,343	2,269	10	0,668	1,615	10	0,201	1,743	10
2000		4,263	2	0,556	4,234	2	0,806	0,781	2	0,156	0,773	2	0,222
2001		6,476	7	0,889	6,872	5	0,830	1,237	7	0,191	1,258	5	0,126
2002		5,660	2	1,881	4,310	4	2,077	1,219	2	0,441	0,892	4	0,431
2003		4,838	8	0,771	4,695	18	0,938	1,358	8	0,208	1,251	18	0,259
2005		5,650	1	-	6,120	1	-	2,160	1	-	2,180	1	-
Skupaj		4,373	30	1,858	4,335	40	1,723	1,394	30	0,331	1,338	40	0,413
Žerjav-MV		2002	4,467	3	0,136	5,159	8	1,064	1,033	3	0,021	1,065	8
	2003	6,529	9	0,989	6,162	18	1,055	1,868	9	0,280	1,678	18	0,280
	2005	5,630	1	-	5,590	1	-	2,210	1	-	2,040	1	-
	Skupaj	5,984	13	1,210	5,844	27	1,118	1,702	13	0,454	1,510	27	0,396
Žerjav-ND	1999	2,671	5	0,428	2,299	5	0,268	2,467	5	0,347	2,012	5	0,265
	2000	3,973	2	0,509	4,482	2	0,052	0,711	2	0,151	0,777	2	0,028
	2001	7,095	4	0,531	7,680	4	0,480	1,408	4	0,090	1,463	4	0,102
	2002	4,483	6	0,596	5,015	4	1,201	0,995	6	0,217	1,103	4	0,155
	2003	4,947	9	1,375	5,574	18	1,415	1,327	9	0,373	1,474	18	0,404
	2005	5,880	1	-	5,480	1	-	2,330	1	-	1,990	1	-
	Skupaj	4,703	27	1,588	5,208	34	1,824	1,468	27	0,629	1,482	34	0,440
	SKUPAJ	3,795	219	2,449	3,958	273	2,370	1,341	218	0,644	1,292	273	0,513

Preglednica 25: Vsebnosti alfa in beta karotena (mg/g SS) v listih na ozon občutljivega (NC-S) in odpornega (NC-R) klona plazeče detelje 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal'), izpostavljene vplivom onesnaženega zraka v Zavodnjah, Vnajnarjah, Kovku in Žerjavu (Narodni dom, Matvozov Vrh).

Table 25: Levels of alpha- and beta-carotene mg/g SS) in the leaves of the ozone-sensitive (NC-S) and ozone-resistant (NC-R) clones of the 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal') white clover exposed to the influences of polluted air in Zavodnje, Vnajnarje, at Kovk and in Žerjav (Narodni dom, Matvozov Vrh).

Vsebnost karotenov		Alfa karoten (mg/g SS)						Beta karoten (mg/g SS)					
		Klon NC-R			Klon NC-S			Klon NC-R			Klon NC-S		
		Povp.	N	SD	Povp.	N	SD	Povp.	N	SD	Povp.	N	SD
Zavodnje	1996	0,267	20	0,132	0,282	21	0,093	0,037	21	0,039	0,033	21	0,010
	1997	0,234	40	0,071	0,269	44	0,092	0,032	39	0,011	0,036	44	0,014
	1999	0,509	20	0,115	0,558	20	0,133	0,021	20	0,010	0,020	20	0,013
	2000	0,015	7	0,002	0,015	8	0,001	0,187	7	0,026	0,206	8	0,012
	2001	-	-	-	-	-	-	0,532	10	0,135	0,565	9	0,105
	2002	0,011	10	0,007	0,022	12	0,013	0,151	12	0,027	0,159	14	0,052
	Skupaj	0,259	97	0,179	0,279	105	0,191	0,100	109	0,154	0,100	116	0,151
Vnajnarje	1999	0,593	10	0,197	0,711	10	0,077	0,029	10	0,010	0,035	10	0,005
	2000	0,015	2	0,001	0,018	2	0,001	0,180	2	0,028	0,206	2	0,008
	2002	0,022	5	0,016	0,068	6	0,057	0,150	5	0,055	0,216	6	0,077
	Skupaj	0,357	17	0,326	0,419	18	0,342	0,132	19	0,164	0,162	20	0,177
Kovk	1999	0,384	10	0,140	0,389	10	0,091	0,008	10	0,008	0,016	10	0,010
	2000	0,015	2	0,002	0,017	2	0,001	0,182	2	0,026	0,210	2	0,108
	2001	-	-	-	-	-	-	0,298	7	0,044	0,380	5	0,084
	2002	0,050	2	0,001	0,120	4	0,042	0,241	2	0,049	0,245	4	0,077
	Skupaj	0,284	14	0,202	0,275	16	0,171	0,143	21	0,139	0,164	21	0,162
Žerjav	2002	0,010	3	0,001	0,121	8	0,071	0,162	3	0,010	0,292	8	0,066
	Skup.MV	0,010	3	0,001	0,121	8	0,071	0,162	3	0,010	0,292	8	0,066
	1999	0,644	5	0,026	0,746	5	0,099	0,036	5	0,002	0,039	5	0,006
	2000	0,015	2	0,001	0,019	2	0,001	0,200	2	0,006	0,221	2	0,021
	2001	-	-	-	-	-	-	0,316	4	0,035	0,396	4	0,035
	2002	0,045	6	0,037	0,040	4	0,054	0,211	6	0,059	0,228	4	0,108
	Skup.ND	0,271	13	0,309	0,357	11	0,380	0,183	17	0,113	0,206	15	0,152
SKUPAJ		0,269	144	0,218	0,292	158	0,230	0,118	169	0,150	0,132	180	0,159

4.3 REZULTATI PO EUROBIONET METODI

Po EuroBionet metodi so bile rastline izpostavljene na stojalu na devetih poskusnih mestih. Poskusi so potekali v Šaleški dolini, od 2002 do 2005. Ker smo poskuse izvedli na terenu in kasneje smo še pridobili rezultate v laboratoriju s tehtanjem in kemijskimi analizami smo le te prikazali v dveh poglavjih, 4.3.1 Rezultati terenskih meritev in 4.3.2 Rezultati laboratorijskih meritev.

4.3.1 Rezultati terenskih meritev

Rezultati terenskih meritev predstavljajo ocene ozonskih poškodb na listih pri plazeči detelji 'Milka' (preglednica 26 in 27), pri nizkem fižolu 'Berggold' (preglednica 28), pri tobaku 'BelW₃' na stojalu (preglednica 30) in v loncu (preglednica 29).

Pri ugotavljanju odstotkov poškodovanosti rastlin zaradi ozona smo pri plazeči detelji 'Milka' prešteli, kot zanimivost, 71701 listov (preglednica 26). Razred poškodovanosti smo določili pri 1248 rastlinah plazeče detelje (preglednica 27), odstotke ozonskih poškodb pri nizkemu fižolu 'Berggold' na 1959 listih (preglednica 28), pri tobaku 'BelW₃' (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') v loncu na 1436 listih (preglednica 29) in tobaku 'BelW₃' na stojalu na 5609 listih (preglednica 30). Zbranih je bilo veliko število podatkov zaradi izvedbe poskusov v zunanjih razmerah, kjer je vpliv okoljskih dejavnikov zelo spremenljiv znotraj enega poskusnega leta kot tudi med leti in poskusnimi mesti.

Preglednica 26: Povprečno število vseh listov na rastlino, povprečno število od ozona poškodovanih listov na rastlino in odstotek listov z ozonskimi poškodbami na rastlino plazeče detelje 'Milka' (*Trifolium repens* 'Milka'), ki je bila v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih na stojalu 2 ali 4 tedne izpostavljena vplivom onesnaženega zraka.

Table 26: Average number of all leaves per plant, average number of ozone-injured leaves per plant and the percentage of ozone-injured leaves per plant of the 'Milka' (*Trifolium repens* 'Milka') white clover exposed to the influences of polluted air on stands for 2 or 4 weeks at nine experiment sites in the years from 2002 to 2005.

	Mesto, leto, obdobje izpost. (2, 4 tedne)	N	Število listov <i>Trifolium repens</i> 'Milka'				Število poškodovanih listov				% listov z ozonskimi poškodbami			
			Povp.	SD	Me	Vsota	Povp.	SD	Me	Vsota	Povp.	SD	Me	
Zavodnje	2002	2	21	24,2	14,9	19	509	3,6	4,3	3	76	16,0	19,3	10,0
		4	15	43,7	26,7	38	656	7,3	6,9	6	110	16,5	14,5	13,8
	2003	2	21	34,6	18,4	35	727	3,2	4,1	1	68	10,5	13,0	4,6
		4	15	58,1	26,9	58	871	10,5	12,6	7	158	18,0	22,7	11,3
	2004	2	21	100,2	72,1	80	2105	6,5	4,3	6	137	13,2	18,9	7,0
		4	15	179,7	72,3	185	2695	13,1	6,6	14	197	7,8	3,5	7,5
	2005	2	27	41,6	31,0	29	1124	1,7	2,1	1	47	5,1	4,6	4,0
		4	15	53,0	41,0	35	795	4,8	3,5	5	72	10,7	7,5	8,6
Topolišča	2002	2	18	25,3	23,1	15	456	2,4	2,3	2	44	11,1	9,3	11,6
		4	12	55,5	39,1	36	666	5,8	6,3	4	70	13,3	13,9	11,4
	2003	2	21	32,9	25,1	28	691	2,3	3,5	0	49	9,8	14,7	0,0
		4	15	39,3	27,0	40	590	5,9	10,2	0	89	11,1	14,8	2,0
	2004	2	21	92,6	63,6	68	1945	5,3	5,4	4	111	6,8	7,9	3,1
		4	15	155,2	72,1	147	2328	7,3	4,9	6	109	5,8	4,4	5,0
	2005	2	27	47,9	21,1	50	1294	0,6	1,0	0	15	1,1	2,2	0,0
		4	15	84,5	33,4	90	1268	3,7	2,6	4	56	4,7	4,7	3,6

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

	Mesto, leto, obdobje izpost. (2, 4 tedne)			Število listov <i>Trifolium repens</i> 'Milka'				Število poškodovanih listov				% listov z ozonskimi poškodbami		
			N	Povp.	SD	Me	Vsota	Povp.	SD	Me	Vsota	Povp.	SD	Me
Šoštanj	2002	2	21	24,1	20,2	20	506	2,7	2,7	2	56	24,8	23,7	20,0
		4	15	53,9	34,0	48	808	7,8	5,5	8	117	21,5	15,9	23,1
	2003	2	21	13,3	12,7	11	279	1,3	2,0	0	27	17,1	19,9	5,3
		4	15	19,7	26,2	9	295	4,1	7,2	1	61	33,8	44,2	5,6
	2004	2	21	83,2	60,1	69	1748	4,1	3,5	3	85	6,0	5,1	5,0
		4	15	101,5	53,2	90	1522	5,1	5,9	4	77	4,7	4,3	2,9
	2005	2	26	34,7	22,6	27	903	1,5	2,4	0	38	3,8	5,9	0,0
	4	14	64,1	35,9	62	898	7,0	4,4	8	98	11,5	7,5	12,9	
Velenje-center	2002	2	21	21,1	13,4	18	442	3,2	4,3	0	68	16,0	21,0	0,0
		4	15	40,3	22,4	37	604	2,3	3,3	0	35	8,5	11,1	0,0
	2003	2	21	19,1	15,4	18	400	3,0	5,7	0	62	31,7	45,7	2,0
		4	15	29,4	25,1	29	441	9,9	15,2	6	148	45,3	41,9	31,7
	2004	2	21	68,4	27,6	62	1437	5,8	5,2	6	121	9,6	8,0	7,5
		4	15	139,2	38,7	150	2088	11,0	7,4	8	165	8,4	5,7	9,0
	2005	2	27	21,6	15,2	17	582	1,9	2,8	0	50	7,9	11,9	0,0
	4	14	36,7	16,2	34	514	5,9	4,1	7	82	16,3	11,1	15,4	
Velenje-jezero	2002	2	18	32,3	22,6	24	582	4,5	3,9	5	81	22,0	18,2	22,2
		4	12	54,4	30,5	49	653	8,7	6,8	8	104	20,2	15,6	14,7
	2003	2	21	28,8	31,1	22	605	-	-	-	-	-	-	-
		4	15	38,9	31,8	50	584	-	-	-	-	-	-	-
	2004	2	12	125,8	106,9	70	1509	3,0	2,2	4	36	3,1	3,2	1,8
		4	12	171,3	89,7	155	2055	4,0	3,4	5	48	2,1	2,0	2,2
	2005	2	27	39,4	21,1	35	1064	1,7	2,0	1	46	5,5	7,8	2,2
	4	15	72,7	39,0	70	1091	6,7	4,6	6	100	11,4	9,9	7,1	
Lipje	2002	2	21	30,5	19,5	25	641	3,8	3,8	3	79	18,0	18,8	8,0
		4	15	61,1	44,4	43	917	6,1	7,4	3	92	18,2	25,3	6,3
	2003	2	21	27,5	30,3	18	578	1,1	2,0	0	24	5,7	8,2	2,7
		4	15	20,8	31,5	0	312	2,4	3,6	0	36	12,3	4,5	9,8
	2004	2	21	109,1	45,2	110	2290	9,4	4,9	8	197	10,0	5,4	9,0
		4	15	76,9	30,7	70	1154	5,1	3,2	5	77	6,2	2,9	6,0
	2005	2	27	35,3	19,1	35	954	1,2	1,2	1	31	3,7	3,7	2,9
	4	15	65,9	34,6	70	988	5,3	4,4	3	79	10,0	7,7	8,3	
Šmartno ob Paki	2002	2	19	30,7	26,7	17	584	3,4	3,2	3	64	19,5	17,5	16,7
		4	14	62,9	48,3	40	880	5,8	5,5	5	81	16,4	16,6	9,2
	2003	2	21	33,3	24,8	36	700	4,1	8,4	2	86	14,2	20,6	6,1
		4	15	78,9	52,4	92	1184	8,2	9,6	7	123	17,8	17,9	9,2
	2004	2	21	59,5	25,9	57	1250	2,1	2,0	2	44	4,1	4,5	2,4
		4	15	116,1	51,9	110	1741	5,7	4,5	5	86	5,4	3,7	5,4
	2005	2	21	12,4	6,8	11	260	0,8	1,8	0	17	6,0	8,8	0,0
	4	13	19,8	11,6	20	257	1,5	2,5	0	20	8,2	12,9	0,0	
Veliki Vrh	2002	2	21	22,0	19,6	13	461	2,2	2,0	2	46	15,5	20,0	9,1
		4	15	58,2	72,6	28	873	9,2	10,9	6	138	22,9	18,4	23,1
	2003	2	21	30,5	20,5	35	641	2,4	2,9	2	51	21,8	36,4	8,0
		4	15	63,1	33,6	70	946	10,5	9,7	7	158	29,6	37,8	16,4
	2004	2	21	98,5	59,5	85	2068	3,5	3,4	2	74	4,2	3,7	2,5
		4	15	178,2	55,8	170	2673	9,4	7,8	7	141	5,9	4,8	4,1
	2005	2	26	40,5	21,8	38	1054	1,2	1,4	1	31	5,7	9,7	1,9
	4	13	64,6	24,2	65	840	5,8	4,4	5	75	9,9	8,0	7,5	

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Mesto, leto, obdobje izpost. (2, 4 tedne)	N	Število listov <i>Trifolium repens</i> 'Milka'				Število poškodovanih listov				% listov z ozonskimi poškodbami				
		Povp.	SD	Me	Vsota	Povp.	SD	Me	Vsota	Povp.	SD	Me		
Graška gora	2002	2	18	24,8	22,1	21	447	4,4	6,0	2	79	44,0	42,7	24,2
		4	12	68,3	48,1	56	820	6,7	7,9	6	80	13,6	12,5	14,3
	2003	2	21	25,7	18,2	24	540	3,0	3,1	3	62	12,5	12,9	12,5
		4	15	29,9	21,5	30	448	6,1	6,5	4	92	20,9	18,4	15,8
	2004	2	21	72,8	37,3	65	1528	6,3	4,4	7	133	9,1	6,4	8,0
		4	15	147,1	61,5	170	2207	10,5	5,9	11	157	7,8	4,1	7,6
	2005	2	27	21,2	11,5	18	571	0,8	1,3	0	22	3,7	4,8	0,0
	4	15	37,6	17,1	35	564	4,0	2,9	4	60	12,1	10,0	11,6	
SKUPAJ	1303			55,0	52,9	40	71701	4,3	5,8	3	5648	12,0	18,1	6,0

Preglednica 27: Povprečen razred ozonskih poškodb na listih plazeče detelje 'Milka' (*Trifolium repens* 'Milka'), ki je bila v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih na stojalu 2 ali 4 tedne izpostavljena vplivom onesnaženega zraka.

Table 27: Average class of ozone injury on the leaves of the 'Milka' (*Trifolium repens* 'Milka') white clover exposed to the influences of polluted air on stands for 2 or 4 weeks at nine experiment sites in the years from 2002 to 2005.

<i>Trifolium repens</i> 'Milka' - stojalo (obdobje izpostavitve: 2, 4 tedne)		Razred poškodovanosti listov (0-6)						
		Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅	
Zavodnje	2002	2	21	1,7	0,9	1,0	1,3	1,9
		4	15	1,8	0,8	1,0	1,8	2,3
	2003	2	21	1,4	0,5	1,0	1,1	1,5
		4	15	1,6	0,7	1,0	1,5	1,7
	2004	2	21	1,6	0,7	1,1	1,3	1,7
		4	15	1,4	0,2	1,2	1,4	1,5
	2005	2	27	1,1	0,1	1,0	1,1	1,1
	4	15	1,2	0,2	1,1	1,1	1,4	
Topolšica	2002	2	18	1,3	0,4	1,0	1,2	1,4
		4	12	1,6	0,8	1,0	1,4	1,8
	2003	2	20	1,3	0,5	1,0	1,0	1,5
		4	13	1,4	0,5	1,0	1,1	1,5
	2004	2	21	1,3	0,3	1,0	1,1	1,4
		4	15	1,3	0,2	1,1	1,2	1,4
	2005	2	27	1,0	0,0	1,0	1,0	1,0
	4	15	1,1	0,1	1,0	1,1	1,1	
Šoštanj	2002	2	21	1,7	0,8	1,0	1,5	2,2
		4	15	2,1	0,8	1,3	2,2	2,3
	2003	2	15	1,7	0,8	1,0	1,1	2,3
		4	11	2,7	2,7	1,0	1,1	7,0
	2004	2	21	1,3	0,3	1,1	1,2	1,3
		4	15	1,2	0,2	1,0	1,2	1,3
	2005	2	26	1,1	0,2	1,0	1,0	1,1
	4	14	1,3	0,3	1,1	1,3	1,4	

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

<i>Trifolium repens</i> 'Milka' - stojalo (obdobje izpostavitve: 2, 4 tedne)			Razred poškodovanosti listov (0-6)					
			Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Velenje-center	2002	2	1,6	21	0,9	1,0	1,0	2,0
		4	1,4	15	0,6	1,0	1,0	2,0
	2003	2	2,3	17	2,0	1,0	1,0	4,1
		4	3,1	12	2,2	1,2	2,2	5,5
	2004	2	1,4	21	0,4	1,1	1,4	1,7
		4	1,4	15	0,3	1,2	1,3	1,6
	2005	2	1,2	27	0,3	1,0	1,0	1,2
		4	1,4	14	0,5	1,1	1,3	1,4
Velenje-jezero	2002	2	1,8	18	0,7	1,1	1,7	2,2
		4	2,0	12	0,9	1,4	1,7	2,4
	2003	2	1,0	18	0,0	1,0	1,0	1,0
		4	1,0	12	0,0	1,0	1,0	1,0
	2004	2	1,1	12	0,1	1,0	1,1	1,2
		4	1,1	12	0,1	1,0	1,1	1,1
	2005	2	1,1	27	0,1	1,0	1,0	1,1
		4	1,2	15	0,2	1,1	1,2	1,4
Lipje	2002	2	1,7	21	0,7	1,0	1,4	2,4
		4	2,0	15	1,5	1,1	1,3	2,5
	2003	2	1,2	12	0,2	1,0	1,0	1,3
		4	1,5	5	0,3	1,3	1,3	1,7
	2004	2	1,5	21	0,3	1,2	1,5	1,7
		4	1,2	15	0,2	1,1	1,2	1,3
	2005	2	1,0	27	0,0	1,0	1,0	1,1
		4	1,2	15	0,3	1,0	1,2	1,4
Šmartno ob Paki	2002	2	1,7	19	0,7	1,0	1,7	2,1
		4	1,8	14	0,9	1,1	1,3	2,7
	2003	2	1,5	19	0,8	1,1	1,2	1,4
		4	1,6	15	0,9	1,0	1,2	2,3
	2004	2	1,1	21	0,2	1,0	1,1	1,2
		4	1,2	15	0,2	1,1	1,2	1,4
	2005	2	1,1	21	0,2	1,0	1,0	1,1
		4	1,3	13	0,6	1,0	1,0	1,4
Veliki Vrh	2002	2	1,5	21	0,6	1,0	1,3	1,8
		4	2,2	15	1,1	1,6	2,2	2,6
	2003	2	1,5	18	0,9	1,0	1,2	1,5
		4	1,9	15	1,0	1,0	1,6	2,3
	2004	2	1,2	21	0,2	1,0	1,1	1,3
		4	1,3	15	0,3	1,1	1,1	1,5
	2005	2	1,1	26	0,2	1,0	1,0	1,1
		4	1,3	13	0,3	1,1	1,2	1,4
Graška gora	2002	2	2,3	18	1,2	1,1	2,1	3,2
		4	1,7	12	0,6	1,1	1,7	2,0
	2003	2	1,4	19	0,4	1,0	1,4	1,6
		4	1,8	12	0,8	1,3	1,6	2,1
	2004	2	1,4	21	0,4	1,1	1,3	1,7
		4	1,3	15	0,2	1,1	1,3	1,5
	2005	2	1,1	27	0,1	1,0	1,0	1,1
		4	1,2	15	0,2	1,1	1,3	1,3
SKUPAJ			1,4	1248	0,8	1,0	1,1	1,5

Preglednica 28: Povprečen odstotek od ozona poškodovane listne površine sorte fižola *Phaseolus vulgare* 'Berggold', ki je bil izpostavljen na stojalu v letih od 2002 do 2005 na 9 poskusnih mestih.

Table 28: Average percentage of ozone-injured leaf surface per plant of the (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') dwarf beans exposed to the influences of polluted air on stands at nine experiment sites in the years from 2002 to 2005.

<i>Phaseolus vulgare</i> 'Berggold' - stojalo		Ozonske poškodbe na listih (%)		
		Povp.	N	SD
Zavodnje	2002	20,5	79	24,7
	2003	4,4	90	12,7
	2004	10,6	60	17,4
	2005	6,5	20	12,2
	<i>Skupaj</i>	<i>11,2</i>	<i>249</i>	<i>19,5</i>
Šoštanj	2002	31,5	72	39,8
	2003	0,3	33	1,2
	2004	10,1	60	17,8
	2005	0,2	71	1,0
	<i>Skupaj</i>	<i>12,3</i>	<i>236</i>	<i>27,1</i>
Topolšica	2002	44,9	72	35,8
	2003	0,0	48	0,0
	2004	6,9	58	14,7
	2005	0,2	27	1,0
	<i>Skupaj</i>	<i>17,8</i>	<i>205</i>	<i>30,2</i>
Velenje-center	2002	31,4	64	36,4
	2003	4,7	68	11,1
	2004	6,7	52	10,4
	2005	14,5	40	12,6
	<i>Skupaj</i>	<i>14,5</i>	<i>224</i>	<i>24,3</i>
Lipje	2002	29,7	72	30,0
	2003	0,6	79	3,0
	2004	3,4	59	7,2
	2005	16,7	60	20,5
	<i>Skupaj</i>	<i>12,5</i>	<i>270</i>	<i>22,1</i>
Šmartno ob Paki	2002	25,4	71	32,3
	2003	0,8	93	2,6
	2004	2,9	61	4,7
	2005	22,9	60	21,6
	<i>Skupaj</i>	<i>12,0</i>	<i>285</i>	<i>22,1</i>
Veliki vrh	2002	32,2	60	31,7
	2003	2,8	64	9,3
	2004	14,7	54	21,5
	2005	22,6	21	24,4
	<i>Skupaj</i>	<i>17,0</i>	<i>199</i>	<i>25,5</i>
Graška gora	2002	41,0	59	36,4
	2003	0,0	45	0,0
	2004	24,9	56	30,6
	2005	2,5	16	5,5
	<i>Skupaj</i>	<i>21,9</i>	<i>176</i>	<i>31,9</i>
Velenje-jezero	2002	27,0	58	31,8
	2003	-	-	-
	2004	0,3	18	1,2
	2005	22,8	39	23,5
	<i>Skupaj</i>	<i>21,4</i>	<i>115</i>	<i>27,9</i>
SKUPAJ		14,9	1959	25,5

Preglednica 29: Povprečen odstotek od ozona poškodovane listne površine sorte tobaka *Nicotiana tabacum* 'Bel W₃', ki je bil v letih od 2002 do 2005 na 9 poskusnih mestih izpostavljen zračnim onesnažilom v 10-litrskem loncu.

Table 29: Average percentage of ozone-injured leaf surface per plant of the Bel W₃' (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') tobacco exposed to the influences of polluted air in 10-litre pots at nine experiment sites in the years from 2002 to 2005.

<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ ' - lonec		Ozonske poškodbe na listih (%)					
		Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	2002	24,3	28	33,7	0	3,5	60
	2003	12,6	33	25,3	0	0,0	15
	2004	3,2	17	6,4	0	0,0	5
	2005	21,2	21	28,9	0	10,0	30
	<i>Skupaj</i>	<i>16,1</i>	<i>99</i>	<i>27,5</i>	<i>0</i>	<i>3,4</i>	<i>28</i>
Šoštanj	2002	41,8	32	43,0	2	17,5	93
	2003	14,4	36	27,3	0	0,0	15
	2004	-	-	-	-	-	-
	2005	4,4	36	13,2	0	0,0	0
	<i>Skupaj</i>	<i>19,4</i>	<i>104</i>	<i>33,3</i>	<i>1</i>	<i>5,8</i>	<i>36</i>
Topolšica	2002	4,7	58	17,9	0	0,0	0
	2003	10,7	48	24,2	0	0,0	5
	2004	0,6	82	3,0	0	0,0	0
	2005	16,7	50	27,5	0	5,0	20
	<i>Skupaj</i>	<i>7,0</i>	<i>238</i>	<i>19,8</i>	<i>0</i>	<i>1,3</i>	<i>6</i>
Velenje-center	2002	18,1	26	37,0	0	0,0	0
	2003	7,2	46	18,3	0	0,0	1
	2004	5,0	78	15,3	0	0,0	2
	2005	18,0	77	28,7	0	2,0	20
	<i>Skupaj</i>	<i>11,4</i>	<i>227</i>	<i>24,7</i>	<i>0</i>	<i>0,5</i>	<i>6</i>
Lipje	2002	23,6	38	34,4	0	2,5	50
	2003	7,9	55	18,5	0	0,0	5
	2004	3,1	53	7,4	0	0,0	0
	2005	9,9	62	23,9	0	0,0	5
	<i>Skupaj</i>	<i>10,1</i>	<i>208</i>	<i>23,0</i>	<i>0</i>	<i>0,6</i>	<i>15</i>
Šmartno ob Paki	2002	11,4	46	30,0	0	0,0	2
	2003	1,4	52	3,8	0	0,0	0
	2004	7,2	30	14,8	0	0,0	10
	2005	7,9	67	17,5	0	0,0	10
	<i>Skupaj</i>	<i>6,9</i>	<i>195</i>	<i>19,1</i>	<i>0</i>	<i>0,0</i>	<i>6</i>
Veliki vrh	2002	10,9	34	26,0	0	0,0	5
	2003	10,2	44	20,0	0	0,0	13
	2004	7,2	46	19,5	0	0,0	5
	2005	16,4	41	22,0	0	5,0	30
	<i>Skupaj</i>	<i>11,0</i>	<i>165</i>	<i>21,8</i>	<i>0</i>	<i>1,3</i>	<i>13</i>
Graška gora	2002	10,0	38	27,3	0	0,0	0
	2003	10,7	36	21,2	0	0,0	5
	2004	3,3	39	7,6	0	0,0	5
	2005	15,8	42	25,3	0	0,0	20
	<i>Skupaj</i>	<i>10,1</i>	<i>155</i>	<i>22,1</i>	<i>0</i>	<i>0,0</i>	<i>8</i>
Velenje-jezero	2002	0,0	2	0,0	0	0,0	0
	2003	30,0	2	42,4	0	30,0	60
	2004	0,1	41	0,3	0	0,0	0
	2005	-	-	-	-	-	-
	<i>Skupaj</i>	<i>1,3</i>	<i>45</i>	<i>8,9</i>	<i>0</i>	<i>10,0</i>	<i>20</i>
SKUPAJ		10,3	1436	23,3	0	0,0	5

Preglednica 30: Povprečen odstotek od ozona poškodovane listne površine na rastlino tobaka 'Bel W₃' (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃'), ki je bil v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih izpostavljen vplivom onesnaženega zraka na stojalu.

Table 30: Average percentage of ozone-injured leaf surface per plant of the 'Bel W₃' (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') tobacco exposed to the influences of polluted air on stands at nine experiment sites in the years from 2002 to 2005.

<i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ ' - stojalo		Ozonske poškodbe na listih (%)					
		Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	2002	24,5	152	32,9	0	5,0	50
	2003	18,8	202	29,2	0	5,0	25
	2004	13,5	152	24,6	0	0,0	15
	2005	13,5	125	15,3	0	10,0	20
	<i>Skupaj</i>	<i>17,9</i>	<i>631</i>	<i>27,2</i>	<i>0</i>	<i>5,0</i>	<i>27</i>
Šoštanj	2002	25,0	161	33,1	0	5,0	50
	2003	5,8	202	14,4	0	0,0	5
	2004	9,6	157	19,1	0	0,0	10
	2005	9,1	136	15,2	0	0,0	10
	<i>Skupaj</i>	<i>12,1</i>	<i>656</i>	<i>22,9</i>	<i>0</i>	<i>1,3</i>	<i>18</i>
Topolšica	2002	17,3	147	29,8	0	0,0	20
	2003	9,4	220	21,4	0	0,0	5
	2004	8,2	148	20,1	0	0,0	5
	2005	4,8	144	8,9	0	0,0	5
	<i>Skupaj</i>	<i>9,9</i>	<i>659</i>	<i>21,8</i>	<i>0</i>	<i>0,0</i>	<i>8</i>
Velenje-jezero	2002	22,5	164	31,5	0	5,0	50
	2003	10,5	209	23,4	0	0,0	5
	2004	9,3	163	20,6	0	0,0	5
	2005	9,5	147	18,5	0	0,0	10
	<i>Skupaj</i>	<i>10,6</i>	<i>380</i>	<i>22,6</i>	<i>0</i>	<i>1,3</i>	<i>17</i>
Lipje	2002	11,2	150	20,4	0	0,0	10
	2003	7,1	226	17,7	0	0,0	5
	2004	23,3	159	33,7	0	2,0	40
	2005	15,9	154	25,9	0	0,0	20
	<i>Skupaj</i>	<i>13,7</i>	<i>689</i>	<i>25,3</i>	<i>0</i>	<i>0,5</i>	<i>18</i>
Šmartno ob Paki	2002	16,7	158	24,7	0	2,0	25
	2003	12,6	214	25,0	0	0,0	10
	2004	15,6	160	27,4	0	0,0	20
	2005	5,7	151	12,1	0	0,0	5
	<i>Skupaj</i>	<i>12,7</i>	<i>683</i>	<i>23,7</i>	<i>0</i>	<i>0,5</i>	<i>15</i>
Veliki vrh	2002	25,2	132	33,0	0	5,0	50
	2003	15,9	202	27,3	0	1,0	15
	2004	22,8	154	33,0	0	5,0	30
	2005	16,6	143	21,3	0	10,0	25
	<i>Skupaj</i>	<i>19,7</i>	<i>631</i>	<i>29,1</i>	<i>0</i>	<i>5,3</i>	<i>30</i>
Graška gora	2002	18,0	132	28,6	0	0,0	25
	2003	12,7	192	23,9	0	0,0	10
	2004	14,4	138	23,5	0	5,0	20
	2005	15,2	135	21,1	0	5,0	20
	<i>Skupaj</i>	<i>14,8</i>	<i>597</i>	<i>24,4</i>	<i>0</i>	<i>2,5</i>	<i>18</i>
Velenje-center	2002	14,9	150	26,7	0	0,0	15
	2003	-	-	-	-	-	-
	2004	11,0	112	25,3	0	0,0	2
	2005	4,7	118	9,4	0	0,0	5
	<i>Skupaj</i>	<i>12,9</i>	<i>683</i>	<i>24,6</i>	<i>0</i>	<i>0,0</i>	<i>7</i>
SKUPAJ		13,9	5609	25,0	0	0,0	15

4.3.2 Rezultati laboratorijskih meritev

Od leta 2002 do 2005 je bilo pri 629 rastlinah plazeče detelje 'Milka' (*Trifolium repens* 'Milka') stehant nadzemni del, in to 5 do 6 krat na leto smo naredili žetev (porezali smo cvetove, liste s peclji in stolone) (preglednica 31). Pri 197-tih rastlinah fižola 'Berggold' (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') smo kot pridelek prešteli število strokov in maso strokov (preglednica 32, 33).

V laboratoriju smo v listih plazeče detelje 'Milka', določili vsebnosti alfa tokoferola, askorbinske kisline in razmerja med njima (preglednica 34), enako v listih nizkega fižola 'Berggold' (preglednica 35) in v listih tobaka 'Bel W₃' (preglednica 36, 37).

V listih izpostavljenih bioindikatorskih rastlin smo analizirali vsebnosti klorofila a in b (preglednica 38) in vsebnosti luteina in zeaksantina (preglednica 39). Aktivnost encima superoksid dizmutaze smo v listih plazeče detelje 'Milka' določevali pri 2 tedna in 4 tedne starih listih (preglednica 40). Enako smo določili aktivnost encima superoksid dizmutaze v listih tobaka 'Bel W₃', ki je bil izpostavljen na stojalu samo 14 dni in v listih tobaka, ki je bil izpostavljen v loncu celo vegetacijsko obdobje, enako kot tudi nizek fižol 'Berggold'.

Preglednica 31: Povprečna masa posušenih listov na rastlino (g) in skupna masa (g) posušenih listov plazeče detelje 'Milka' (*Trifolium repens* 'Milka') na žetev na določeno poskusno mesto. Detelja je bila vplivom onesnaženega zraka na stojalu izpostavljena 4 tedne, in sicer na devetih poskusnih mestih v letih od 2002 do 2005.

Table 31: Average mass of dry leaves per plant (g) and total mass of dry leaves (g) of the 'Milka' (*Trifolium repens* 'Milka') white clover per harvest at a particular experiment site. The clover was exposed to the influences of polluted air on stands for a period of 4 weeks; the experiments took place at nine experiment sites in the years from 2002 to 2005.

Poskusno mesto	Leto	žetev	Povp. (g)	N	Vsota (g)	SD	Q ₂₅	Me (g)	Q ₇₅
Zavodnje	2002	1	0,15	3	0,44	0,09	0,08	0,11	0,25
		2	0,43	3	1,30	0,31	0,10	0,50	0,70
		3	1,17	3	3,50	0,83	0,50	0,90	2,10
		4	12,37	3	37,10	15,03	2,90	4,50	29,70
		5	1,67	3	5,00	0,65	1,00	1,70	2,30
		6	1,27	3	3,80	0,83	0,60	1,00	2,20
	2003	1	1,83	3	5,48	1,12	0,60	2,09	2,79
		2	3,44	3	10,32	1,35	2,58	2,74	5,00
		3	1,21	3	3,63	0,84	0,24	1,65	1,74
		4	4,13	3	12,39	3,93	1,61	2,12	8,66
		5	1,20	3	3,59	0,67	0,68	0,95	1,96
		6	1,13	3	3,40	0,50	0,61	1,19	1,60
	2004	2	7,10	3	21,30	0,53	6,70	6,90	7,70
		3	10,15	3	30,45	1,35	9,32	9,42	11,71
		4	8,23	3	24,70	3,76	3,90	10,10	10,70
		5	11,00	3	33,00	4,71	7,70	8,90	16,40
		6	7,90	6	47,41	4,37	4,26	7,51	9,69
		6	7,90	6	47,41	4,37	4,26	7,51	9,69
	2005	2	8,11	6	48,63	3,31	7,14	7,71	8,80
		3	1,54	3	4,62	1,28	0,08	2,10	2,44
		4	0,12	3	0,35	0,01	0,11	0,11	0,13
		5	2,33	3	7,00	1,82	0,30	2,89	3,81
		6	1,30	6	7,79	1,37	0,43	0,55	2,73
		6	1,30	6	7,79	1,37	0,43	0,55	2,73

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Poskusno mesto	Leto	žetev	Povp. (g)	N	Vsota (g)	SD	Q ₂₅	Me (g)	Q ₇₅	
Šoštanj	2002	1	0,06	3	0,19	0,02	0,04	0,07	0,08	
		2	0,37	3	1,10	0,06	0,30	0,40	0,40	
		3	0,60	3	1,80	0,46	0,20	0,50	1,10	
		4	8,30	3	24,90	8,42	2,90	4,00	18,00	
		5	3,97	3	11,90	1,75	2,20	4,00	5,70	
		6	2,97	3	8,90	1,66	1,40	2,80	4,70	
	2003	1	1,26	3	3,78	0,46	0,75	1,37	1,66	
		2	2,96	3	8,87	0,58	2,44	2,85	3,58	
		3	0,33	3	0,98	0,21	0,13	0,31	0,54	
		4	0,31	3	0,93	0,26	0,02	0,40	0,51	
	2004	2	10,00	3	30,00	7,11	1,90	12,90	15,20	
		3	5,72	3	17,16	2,85	2,53	6,63	8,00	
		4	4,97	3	14,90	2,76	2,10	5,20	7,60	
		5	4,23	3	12,70	2,01	2,10	4,50	6,10	
	2005	2	2,19	6	13,11	1,65	0,66	2,15	3,96	
		3	5,36	6	32,16	1,42	4,26	5,36	6,73	
		4	1,88	3	5,64	0,82	1,03	1,95	2,66	
		5	2,00	3	5,99	0,53	1,38	2,29	2,32	
	Topolšica	2002	1	0,11	3	0,34	0,02	0,09	0,12	0,13
			2	0,40	3	1,20	0,17	0,30	0,30	0,60
3			1,60	3	4,80	0,95	0,70	1,50	2,60	
4			36,97	3	110,90	18,42	16,50	42,20	52,20	
5			8,23	3	24,70	2,36	6,00	8,00	10,70	
6			2,80	3	8,40	2,07	1,10	2,20	5,10	
2003		1	2,27	3	6,81	0,40	1,96	2,13	2,72	
		2	1,81	3	5,44	0,23	1,55	1,94	1,95	
		3	0,66	3	1,99	0,16	0,55	0,59	0,85	
		4	1,43	2	2,86	0,16	1,32	1,43	1,54	
		5	1,72	3	5,15	0,34	1,51	1,53	2,11	
2004		2	12,60	3	37,80	11,78	1,30	11,70	24,80	
		3	7,73	3	23,20	1,34	6,21	8,28	8,71	
		4	10,33	3	31,00	9,30	1,20	10,00	19,80	
		5	8,53	3	25,60	2,27	6,10	8,90	10,60	
2005		6	8,89	6	53,36	7,03	3,57	6,92	12,59	
		2	7,82	6	46,94	0,69	7,45	7,87	8,15	
		3	4,21	3	12,63	0,54	3,75	4,08	4,80	
		4	1,64	3	4,92	0,37	1,21	1,85	1,86	
		5	1,87	3	5,60	1,05	0,70	2,17	2,73	
Velenje-center	2002	6	1,06	6	6,35	0,99	0,22	0,93	1,78	
		1	0,15	3	0,45	0,04	0,10	0,17	0,18	
		2	0,67	3	2,00	0,40	0,30	0,60	1,10	
		3	0,90	3	2,70	0,75	0,10	1,00	1,60	
		4	20,97	3	62,90	19,36	1,90	20,40	40,60	
		5	4,97	3	14,90	2,80	1,90	5,60	7,40	
	2003	6	0,97	3	2,90	0,96	0,10	0,80	2,00	
		1	1,75	3	5,25	0,38	1,31	1,95	1,99	
		2	1,91	3	5,73	0,11	1,83	1,87	2,03	
		3	1,23	3	3,69	1,08	0,52	0,70	2,47	
		4	1,23	3	3,69	0,37	0,82	1,34	1,53	
		5	0,27	3	0,80	0,21	0,13	0,16	0,51	

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Poskusno mesto	Leto	žetev	Povp. (g)	N	Vsota (g)	SD	Q ₂₅	Me (g)	Q ₇₅
	2004	2	9,03	3	27,10	6,91	1,30	11,20	14,60
		3	8,48	3	25,43	3,17	6,06	7,31	12,06
		4	4,97	3	14,90	4,10	2,50	2,70	9,70
		5	3,93	3	11,80	0,76	3,10	4,10	4,60
		6	2,62	6	15,72	1,80	1,30	1,83	4,44
	2005	2	4,19	6	25,11	0,44	3,90	4,12	4,59
		3	0,13	3	0,40	0,08	0,04	0,18	0,18
		4	0,21	3	0,63	0,14	0,07	0,21	0,35
		5	0,56	3	1,69	0,49	0,23	0,33	1,13
		6	0,42	6	2,51	0,38	0,15	0,25	0,74
Velenje-jezero	2002	1	0,26	3	0,78	0,13	0,11	0,30	0,37
		2	0,73	3	2,20	0,78	0,10	0,50	1,60
		3	1,87	3	5,60	0,91	0,90	2,00	2,70
		4	10,63	3	31,90	9,95	2,20	8,10	21,60
		5	4,53	3	13,60	3,23	0,90	5,60	7,10
		6	1,60	3	4,80	2,01	0,20	0,70	3,90
	2004	2	12,30	3	36,90	1,18	11,30	12,00	13,60
		3	2,86	3	8,58	0,30	2,52	3,00	3,06
		4	6,03	3	18,10	3,76	3,20	4,60	10,30
		5	7,43	3	22,30	2,30	5,20	7,30	9,80
	2005	2	7,45	6	44,69	3,01	5,40	7,33	9,29
		3	8,09	6	48,54	2,16	6,54	7,61	9,93
		4	0,78	3	2,35	1,19	0,09	0,10	2,16
		5	0,88	3	2,63	0,82	0,19	0,65	1,79
Lipje	2002	1	0,23	3	0,70	0,08	0,15	0,24	0,31
		2	0,37	3	1,10	0,12	0,30	0,30	0,50
		3	1,23	3	3,70	1,14	0,30	0,90	2,50
		4	17,33	3	52,00	18,81	1,20	12,80	38,00
		5	6,33	3	19,00	6,88	0,70	4,30	14,00
		6	2,30	3	6,90	2,10	0,50	1,80	4,60
	2003	1	2,08	3	6,25	0,06	2,02	2,09	2,14
		2	3,42	3	10,25	0,65	2,77	3,41	4,07
		3	0,91	3	2,74	0,61	0,35	0,83	1,56
		4	0,95	2	1,89	0,35	0,70	0,95	1,19
	2004	2	8,03	3	24,10	3,30	5,10	7,40	11,60
		3	10,79	3	32,38	2,12	8,42	11,48	12,48
		4	3,57	3	10,70	3,93	1,30	1,30	8,10
		5	8,90	3	26,70	2,91	6,10	8,70	11,90
6		4,69	6	28,13	1,77	3,59	3,83	6,69	
2005		2	8,33	6	49,95	2,20	6,91	7,49	8,78
2005	3	1,78	3	5,34	0,68	1,38	1,39	2,57	
	4	0,67	3	2,00	0,53	0,07	0,85	1,08	
	5	1,18	3	3,53	0,93	0,28	1,12	2,13	
	6	1,24	6	7,46	1,05	0,48	0,91	1,82	
	Šmartno ob Paki	2002	1	0,22	3	0,67	0,04	0,18	0,24
2			0,67	3	2,00	0,49	0,10	0,90	1,00
3			0,93	3	2,80	1,19	0,10	0,40	2,30
4			14,40	3	43,20	11,04	1,90	18,50	22,80
5			34,60	3	103,80	57,52	0,20	2,60	101,00
6			3,37	3	10,10	2,00	1,10	4,10	4,90

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Poskusno mesto	Leto	žetev	Povp. (g)	N	Vsota (g)	SD	Q ₂₅	Me (g)	Q ₇₅	
	2003	1	1,61	3	4,82	0,92	0,56	1,99	2,27	
		2	5,81	3	17,44	1,36	4,54	5,66	7,24	
		3	0,48	3	1,43	0,21	0,23	0,59	0,61	
		4	3,70	3	11,11	2,22	1,95	2,96	6,20	
		5	0,68	3	2,04	0,32	0,46	0,53	1,05	
		6	3,79	3	11,36	1,35	2,26	4,27	4,83	
	2004	2	12,07	3	36,20	8,81	2,10	15,30	18,80	
		3	4,17	3	12,51	0,90	3,37	4,00	5,14	
		4	2,70	3	8,10	2,17	1,40	1,50	5,20	
		5	2,27	3	6,80	0,47	1,90	2,10	2,80	
		6	2,85	6	17,08	2,16	1,40	2,64	2,95	
	2005	2	5,12	6	30,69	1,16	4,96	5,52	5,73	
		3	0,17	3	0,52	0,15	0,02	0,18	0,32	
		4	0,16	3	0,48	0,08	0,07	0,18	0,23	
		5	0,08	2	0,16	0,08	0,02	0,08	0,14	
			6	0,10	3	0,31	0,11	0,01	0,07	0,23
	Veliki Vrh	2002	1	0,12	3	0,36	0,09	0,02	0,16	0,18
			2	0,37	3	1,10	0,31	0,10	0,30	0,70
3			0,67	3	2,02	0,57	0,02	0,90	1,10	
4			24,90	3	74,70	23,70	2,10	23,20	49,40	
5			0,57	3	1,70	0,55	0,20	0,30	1,20	
6			1,47	3	4,40	1,18	0,10	2,10	2,20	
2003		1	3,09	3	9,26	0,57	2,54	3,05	3,67	
		2	4,00	3	12,00	0,34	3,63	4,08	4,29	
		3	3,96	3	11,88	0,69	3,37	3,79	4,72	
		4	7,14	3	21,42	0,31	6,90	7,03	7,49	
		5	3,21	3	9,63	0,30	2,97	3,11	3,55	
		6	1,40	3	4,21	0,79	0,76	1,17	2,28	
2004		2	9,07	3	27,20	4,95	4,00	9,30	13,90	
		3	7,05	3	21,14	1,22	5,85	7,00	8,29	
		4	3,77	3	11,30	4,19	1,10	1,60	8,60	
		5	10,50	3	31,50	2,31	8,70	9,70	13,10	
			6	6,75	6	40,48	4,34	3,26	4,97	11,72
2005		2	2,02	6	12,09	1,14	1,55	1,69	1,95	
		3	2,18	3	6,53	0,89	1,41	1,96	3,16	
		4	0,81	3	2,42	0,32	0,53	0,73	1,16	
		5	1,38	3	4,15	0,94	0,56	1,18	2,41	
		6	0,43	5	2,13	0,18	0,36	0,48	0,56	
Graška gora		2002	1	0,10	3	0,29	0,03	0,07	0,10	0,12
			2	0,30	3	0,90	0,17	0,20	0,20	0,50
	3		2,10	3	6,30	0,82	1,40	1,90	3,00	
	4		27,87	3	83,60	9,80	19,20	25,90	38,50	
	5		3,93	3	11,80	0,61	3,40	3,80	4,60	
	6		1,90	3	5,70	1,01	1,00	1,70	3,00	
	2003	1	1,95	3	5,86	1,76	0,83	1,05	3,98	
		2	3,80	3	11,39	1,71	1,90	4,27	5,22	
		3	1,11	3	3,33	0,88	0,43	0,79	2,11	
		4	1,77	3	5,32	0,15	1,64	1,75	1,93	
		5	0,75	3	2,26	0,21	0,51	0,84	0,91	
		6	0,24	2	0,48	0,03	0,22	0,24	0,26	

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Poskusno mesto	Leto	žetev	Povp. (g)	N	Vsota (g)	SD	Q ₂₅	Me (g)	Q ₇₅
Graška gora	2004	2	6,80	3	20,40	5,14	1,10	8,20	11,10
		3	8,43	3	25,30	4,13	3,73	10,12	11,45
		4	5,90	3	17,70	3,47	1,90	7,80	8,00
		5	6,97	3	20,90	1,43	5,40	7,30	8,20
		6	3,52	4	14,08	2,59	1,99	2,90	5,05
	2005	2	1,88	6	11,29	0,95	0,84	2,15	2,61
		3	0,28	3	0,84	0,33	0,05	0,13	0,66
		4	0,39	3	1,17	0,27	0,11	0,41	0,65
		5	0,76	3	2,28	0,80	0,28	0,32	1,68
		6	0,26	6	1,57	0,20	0,09	0,22	0,49
SKUPAJ			4,14	629	2604,75	7,01	0,60	2,03	5,20

Preglednica 32: Povprečno število strokov in povprečna masa (g) posušenih strokov na rastlino nizkega fižola 'Berggold' (*Phaseolus vulgare* 'Berggold'), ki je bil v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih na stojalu izpostavljen vplivom onesnaženega zraka do suhe zrelosti strokov.

Table 32: Average number of pods and average mass of dry pods (g) per plant of the 'Berggold' (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') dwarf beans exposed to the influences of polluted air on stands until reaching dry ripeness. The plants were observed at nine experiment sites from 2002 to 2005.

		N	Število strokov na rastlino					Masa strokov na rastlino (g)				
			Povp.	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅	Povp.	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	2002	6	11,8	4,2	7	14,0	15	36,23	18,98	13,70	42,20	52,50
	2003	6	12,7	4,5	8	13,5	15	4,98	1,86	3,42	5,46	6,32
	2004	6	14,8	7,9	6	16,0	22	6,65	3,90	2,20	7,85	10,00
	2005	6	5,0	4,5	1	4,5	6	2,76	2,66	0,32	2,42	4,71
Šoštanj	2002	6	7,8	2,9	5	7,5	10	11,60	5,36	8,30	8,50	15,70
	2003	6	4,3	2,7	2	3,5	7	1,46	0,90	0,93	1,31	2,05
	2004	6	9,0	3,3	9	9,0	12	10,02	4,54	9,00	9,90	11,60
	2005	6	4,8	2,3	4	5,0	7	2,27	1,30	1,71	2,59	3,15
Topolišica	2002	6	5,3	2,3	3	6,0	7	11,02	7,76	3,60	11,40	18,10
	2003	6	7,8	7,7	3	5,0	8	2,11	1,64	0,71	1,53	3,55
	2004	6	11,0	4,0	6	12,5	14	8,77	2,67	6,10	10,15	10,50
	2005	6	6,2	1,9	5	5,5	8	4,07	1,95	3,66	4,42	5,13
Velenje-center	2002	6	10,8	2,6	9	11,0	13	24,63	13,47	16,30	23,50	32,80
	2003	6	7,0	2,8	4	7,0	9	3,95	2,17	2,87	3,69	4,12
	2004	6	7,0	4,0	5	6,5	11	4,22	2,99	1,30	5,10	5,50
	2005	4	5,8	0,5	6	6,0	6	3,35	0,87	2,73	3,19	3,97
Lipje	2002	5	11,0	3,5	9	12,0	13	15,74	4,90	15,10	17,10	17,80
	2003	6	8,3	2,7	7	8,5	11	4,12	1,48	3,53	4,01	5,12
	2004	6	10,0	5,2	7	8,5	10	8,17	2,36	6,20	8,20	10,40
	2005	6	8,0	2,7	7	8,0	9	10,76	4,03	7,18	10,69	12,73
Šmartno ob Paki	2002	6	14,8	5,8	11	13,0	18	21,12	6,22	15,40	20,45	27,50
	2003	6	12,3	3,1	10	11,5	15	6,65	1,60	5,41	6,84	7,91
	2004	6	7,8	2,4	7	8,0	9	9,10	3,43	7,10	9,55	10,60
	2005	2	2,5	0,7	2	2,5	3	3,46	2,18	1,91	3,46	5,00
Veliki Vrh	2002	6	5,8	2,6	5	5,5	7	14,85	10,16	6,40	13,25	25,50
	2003	4	11,0	2,0	10	10,0	12	3,91	1,59	2,83	3,43	4,99
	2004	6	5,7	2,0	5	6,5	7	3,28	1,01	2,80	3,25	3,60
	2005	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

		N	Število strokov na rastlino					Masa strokov na rastlino (g)				
			Povp.	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅	Povp.	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Grška gora	2002	6	4,5	1,0	4	4,5	5	9,57	4,77	4,50	10,85	13,80
	2003	6	13,5	4,9	11	13,5	14	5,26	2,69	3,58	4,69	5,22
	2004	6	8,5	3,6	6	9,0	11	3,20	1,26	1,60	3,80	4,00
	2005	3	3,3	1,5	2	3,0	5	1,22	1,37	0,22	0,66	2,78
Velenje-jezero	2002	5	8,8	4,8	6	7,0	11	6,52	2,92	5,00	5,30	8,90
	2003	6	8,3	2,3	7	7,5	10	4,47	1,82	2,63	4,78	6,17
	2004	6	4,5	1,4	4	5,0	5	3,07	0,87	2,60	3,10	3,40
	2005	6	5,0	2,4	3	5,0	7	7,69	4,28	3,63	7,97	10,81
SKUPAJ	197	8,3	4,6	5	7,0	11	8,26	8,83	3,15	5,30	10,20	

Preglednica 33: Povprečna masa posušenega stroka (g), povprečna dolžina strokov (cm), največja (cm), najmanjša (cm) in srednja dolžina stroka (cm) na rastlino nizkega fižola 'Berggold' (*Phaseolus vulgaris* 'Berggold'), ki je bil v letih od 2002 do 2005 na devetih poskusnih mestih na stojalu izpostavljen vplivom onesnaženega zraka do suhe zrelosti strokov.

Table 33: Average mass of a dry pod (g), average length of pods (cm), maximum (cm), minimum (cm) and medium (cm) length of a pod per plant of the 'Berggold' (*Phaseolus vulgaris* 'Berggold') dwarf beans exposed to the influences of polluted air on stands until reaching dry ripeness. The plants were observed at nine experiment sites from 2002 to 2005.

		Povp. masa enega stroka (g)	Povp. dolžina strokov na rastlino (cm)	Maks. dolžina stroka (cm)	Min. dolžina stroka (cm)	Srednja dolžina stroka (cm)
Zavodnje	2002	2,87	12,7	14,8	9,5	13,0
	2003	0,39	10,3	14,0	4,8	11,1
	2004	0,43	7,8	10,6	4,1	8,2
	2005	0,44	7,3	8,8	5,1	7,5
Šoštanj	2002	1,48	10,7	12,2	8,5	11,0
	2003	0,36	9,8	11,8	7,5	9,7
	2004	1,10	9,0	12,2	5,3	8,9
	2005	0,41	7,3	9,5	5,0	7,4
Topolišica	2002	1,83	11,1	12,8	8,6	11,3
	2003	0,30	7,8	10,8	4,9	7,8
	2004	0,82	8,7	11,3	5,0	9,1
	2005	0,64	9,6	12,0	5,7	10,3
Velenje-center	2002	2,22	12,6	14,3	10,1	13,0
	2003	0,55	11,0	13,3	7,8	11,4
	2004	0,54	6,4	8,3	3,8	6,6
	2005	0,39	8,1	12,3	5,8	7,7
Lipje	2002	1,44	11,3	14,4	8,1	11,3
	2003	0,51	10,4	14,3	6,1	10,7
	2004	0,89	8,1	10,8	4,5	8,7
	2005	1,35	10,2	12,9	6,8	10,4
Šmartno ob Paki	2002	1,50	13,7	15,8	10,5	14,0
	2003	0,55	11,1	13,8	7,8	11,4
	2004	1,14	9,5	11,5	6,2	9,9
	2005	1,31	10,4	12,9	8,3	10,1
Veliki Vrh	2002	2,37	11,4	13,2	9,3	11,8
	2003	0,35	9,7	13,0	5,5	10,1
	2004	0,63	7,4	9,4	5,3	7,4
	2005	-	-	-	-	-

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

		Povp. masa enega stroka (g)	Povp. dolžina strokov na rastlino (cm)	Maks. dolžina stroka (cm)	Min. dolžina stroka (cm)	Srednja dolžina stroka (cm)
Graška gora	2002	2,03	9,7	11,5	8,0	9,7
	2003	0,38	9,8	13,9	4,0	10,1
	2004	0,40	7,7	9,6	4,3	6,6
	2005	0,32	5,5	7,1	3,5	5,6
Velenje-jezero	2002	0,77	9,2	10,3	7,4	9,4
	2003	0,61	7,8	11,3	5,2	7,6
	2004	0,71	7,4	9,7	5,4	7,2
	2005	1,47	9,5	11,4	6,9	9,6
SKUPAJ		0,96	9,5	11,9	6,4	9,6

Preglednica 34: Vsebnosti alfa tokoferola (mg/g SS), askorbinske kisline (mg/g SS) in razmerja med njima v listih plazeče detelje (*Trifolium repens* 'Milka'), izpostavljene vplivom onesnaženega zraka na stojalu na devetih poskusnih mestih v letih 2004 in 2005.

Table 34: Levels of alpha-tocopherol (mg/g SS) and ascorbic acid (mg/g SS), and the ratios of alpha-tocopherol to ascorbic acid in the leaves of white clover (*Trifolium repens* 'Milka') exposed to the influences of polluted air on stands at nine experiment sites in 2004 and 2005.

Poskusno mesto	Vsebnost alfa tokoferola v listih <i>Trifolium repens</i> 'Milka' (mg/g SS)					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	0,037	3	0,021	0,020	0,030	0,060
Graška gora	0,023	2	0,025	0,005	0,023	0,040
Velenje-center	0,028	2	0,029	0,008	0,028	0,048
Lipje	0,033	2	0,019	0,020	0,033	0,047
Topolšica	0,037	3	0,028	0,005	0,050	0,055
Šmartno ob Paki	0,057	2	0,005	0,053	0,057	0,060
Šoštanj	0,028	2	0,032	0,005	0,028	0,050
kontrola-rastlinjak	0,093	1	0,000	-	-	-
Veliki Vrh	0,043	3	0,038	0,005	0,043	0,080
Skupaj	0,039	20	0,026	0,014	0,045	0,054
Poskusno mesto	Vsebnost askorbinske kisline v listih <i>Trifolium repens</i> 'Milka' (mg/g SS)					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	0,084	3	0,074	0,040	0,043	0,170
Graška gora	0,051	3	0,043	0,005	0,057	0,090
Velenje-center	0,042	2	0,009	0,035	0,042	0,048
Lipje	0,038	2	0,012	0,030	0,038	0,047
Topolšica	0,099	3	0,057	0,047	0,090	0,160
Šmartno ob Paki	0,057	3	0,047	0,020	0,040	0,110
Šoštanj	0,042	2	0,002	0,040	0,042	0,043
kontrola-rastlinjak	0,148	1	0,000	-	-	-
Veliki Vrh	0,042	3	0,020	0,020	0,047	0,060
Skupaj	0,063	22	0,046	0,040	0,047	0,090

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Poskusno mesto	Razmerje alfa tokoferol / askorbinska kislina v listih <i>Trifolium repens</i> 'Milka'					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	2,564	3	2,209	0,692	2,000	5,000
Graška gora	1,264	2	0,373	1,000	1,264	1,528
Velenje-center	3,237	2	3,200	0,974	3,237	5,500
Lipje	1,222	2	0,393	0,944	1,222	1,500
Topolšica	7,276	3	9,348	0,845	2,983	18,000
Šmartno ob Paki	1,300	2	0,754	0,767	1,300	1,833
Šoštanj	4,392	2	5,103	0,783	4,392	8,000
kontrola-rastlinjak	1,889	1	0,000	-	-	-
Veliki Vrh	1,961	3	1,776	0,750	1,133	4,000
Skupaj	3,006	20	4,039	0,895	1,514	3,492

Preglednica 35 : Vsebnosti alfa tokoferola (mg/g SS), askorbinske kisline (mg/g SS) in razmerja med njima v listih nizkega fižola (*Phaseolus vulgaris* 'Berggold'), izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka na stojalu na devetih poskusnih mestih v letih 2004 in 2005.

Table 35: Levels of alpha-tocopherol (mg/g SS) and ascorbic acid (mg/g SS), and the ratios of alpha-tocopherol to ascorbic acid in the leaves of dwarf beans (*Phaseolus vulgaris* 'Berggold') exposed to the influences of polluted air on stands at nine experiment sites in 2004 and 2005.

Poskusno mesto	Vsebnost alfa tokoferola v listih <i>Phaseolus vulgaris</i> 'Berggold' (mg/g SS)					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	0,368	3	0,165	0,210	0,355	0,540
Graška gora	0,263	3	0,060	0,200	0,270	0,320
Velenje-center	0,574	3	0,158	0,425	0,558	0,740
Lipje	0,502	3	0,297	0,160	0,650	0,695
Topolšica	0,598	3	0,403	0,140	0,755	0,900
Šmartno ob Paki	0,703	3	0,285	0,410	0,720	0,980
Šoštanj	0,288	2	0,110	0,210	0,288	0,365
kontrola-rastlinjak	/	0	-	-	-	-
Veliki Vrh	0,352	3	0,228	0,210	0,230	0,615
<i>Skupaj</i>	<i>0,463</i>	<i>23</i>	<i>0,253</i>	<i>0,210</i>	<i>0,410</i>	<i>0,695</i>
Poskusno mesto	Vsebnost askorbinske kisline v listih <i>Phaseolus vulgaris</i> 'Berggold' (mg/g SS)					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	0,035	3	0,040	0,005	0,020	0,080
Graška gora	0,007	3	0,003	0,005	0,005	0,010
Velenje-center	0,031	3	0,023	0,005	0,038	0,050
Lipje	0,037	3	0,031	0,010	0,030	0,070
Topolšica	0,102	3	0,123	0,005	0,060	0,240
Šmartno ob Paki	0,025	3	0,013	0,015	0,020	0,040
Šoštanj	0,053	2	0,060	0,010	0,053	0,095
kontrola-rastlinjak	-	0	-	-	-	-
Veliki Vrh	0,022	3	0,029	0,005	0,005	0,055
<i>Skupaj</i>	<i>0,038</i>	<i>23</i>	<i>0,052</i>	<i>0,005</i>	<i>0,020</i>	<i>0,055</i>
Poskusno mesto	Razmerje alfa tokoferol / askorbinska kislina <i>Phaseolus vulgaris</i> 'Berggold'					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	0,101	3	0,095	0,009	0,095	0,199
Graška gora	0,029	3	0,020	0,016	0,019	0,052
Velenje-center	0,065	3	0,054	0,007	0,074	0,113
Lipje	0,076	3	0,027	0,059	0,063	0,108
Topolšica	0,134	3	0,145	0,036	0,067	0,301
Šmartno ob Paki	0,048	3	0,043	0,020	0,027	0,098
Šoštanj	0,148	2	0,142	0,048	0,148	0,249
kontrola-rastlinjak	-	0	-	-	-	-
Veliki Vrh	0,071	3	0,083	0,022	0,024	0,166
<i>Skupaj</i>	<i>0,081</i>	<i>23</i>	<i>0,079</i>	<i>0,022</i>	<i>0,059</i>	<i>0,108</i>

Preglednica 36: Vsebnosti alfa tokoferola (mg/g SS), askorbinske kisline (mg/g SS) in razmerja med njima v listih tobaka (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃'), izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka v 10-litrskih loncih na devetih poskusnih mestih celo vegetacijsko obdobje v letih 2004 in 2005.

Table 36: Levels of alpha-tocopherol (mg/g SS) and ascorbic acid (mg/g SS), and the ratios of alpha-tocopherol to ascorbic acid in the leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') exposed to the influences of polluted air in 10-litre pots at nine experiment sites during the entire vegetation period in 2004 and 2005.

Poskusno mesto	Vsebnost alfa tokoferola v listih <i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ ' - lonec (mg/g SS)					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	0,225	4	0,142	0,140	0,185	0,310
Graška gora	0,298	4	0,296	0,130	0,165	0,465
Velenje-center	0,284	4	0,220	0,125	0,218	0,443
Lipje	0,360	3	0,295	0,180	0,200	0,700
Topolšica	0,167	3	0,081	0,110	0,130	0,260
Šmartno ob Paki	0,265	4	0,259	0,080	0,180	0,450
Šoštanj	0,210	3	0,177	0,050	0,180	0,400
kontrola-rastlinjak	-	0	-	-	-	-
Veliki Vrh	0,193	3	0,162	0,090	0,110	0,380
<i>Skupaj</i>	<i>0,253</i>	<i>28</i>	<i>0,198</i>	<i>0,110</i>	<i>0,180</i>	<i>0,338</i>
Poskusno mesto	Vsebnost askorbinske kisline v listih <i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ ' - lonec (mg/g SS)					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	0,356	4	0,669	0,008	0,030	0,705
Graška gora	0,365	4	0,703	0,010	0,015	0,720
Velenje-center	0,196	4	0,366	0,009	0,016	0,383
Lipje	0,013	3	0,014	0,005	0,005	0,030
Topolšica	0,012	3	0,008	0,005	0,010	0,020
Šmartno ob Paki	0,361	4	0,713	0,005	0,005	0,718
Šoštanj	0,022	3	0,025	0,005	0,010	0,050
kontrola-rastlinjak	-	0	-	-	-	-
Veliki Vrh	0,022	3	0,025	0,005	0,010	0,050
<i>Skupaj</i>	<i>0,190</i>	<i>28</i>	<i>0,450</i>	<i>0,005</i>	<i>0,010</i>	<i>0,040</i>
Poskusno mesto	Razmerje alfa tokoferol / askorbinska kislina v listih <i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ '					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	2,030	4	3,690	0,032	0,276	4,028
Graška gora	3,006	4	5,885	0,042	0,088	5,969
Velenje-center	0,759	4	1,411	0,040	0,064	1,479
Lipje	0,032	3	0,010	0,025	0,028	0,043
Topolšica	0,093	3	0,082	0,019	0,077	0,182
Šmartno ob Paki	5,128	4	10,201	0,013	0,037	10,242
Šoštanj	0,118	3	0,086	0,028	0,125	0,200
kontrola-rastlinjak	-	0	-	-	-	-
Veliki Vrh	0,093	3	0,038	0,056	0,091	0,132
<i>Skupaj</i>	<i>1,596</i>	<i>28</i>	<i>4,521</i>	<i>0,028</i>	<i>0,063</i>	<i>0,157</i>

Preglednica 37: Vsebnosti alfa tokoferola (mg/g SS), askorbinske kisline (mg/g SS) in razmerja med njima v listih tobaka (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka na stojalih na devetih poskusnih mestih v letih 2004 in 2005.

Table 37: Levels of alpha-tocopherol (mg/g SS) and ascorbic acid (mg/g SS), and the ratios of alpha-tocopherol to ascorbic acid in the leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') exposed to the influences of polluted air on stands at nine experiment sites in 2004 and 2005.

Poskusna mesta, v letih 2004 in 2005	Vsebnost alfa tokoferola v listih <i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ ' - stojalo (mg/g SS)					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	0,100	4	0,041	0,075	0,085	0,125
Graška gora	0,105	4	0,085	0,053	0,070	0,158
Velenje-center	0,113	4	0,041	0,079	0,110	0,148
Lipje	0,128	4	0,031	0,105	0,120	0,150
Topolšica	0,125	4	0,060	0,083	0,105	0,168
Šmartno ob Paki	0,141	4	0,087	0,088	0,108	0,195
Šoštanj	0,153	4	0,119	0,088	0,098	0,218
kontrola-rastlinjak	0,440	1	-	-	-	-
Veliki Vrh	0,105	4	0,069	0,055	0,085	0,155
<i>Skupaj</i>	<i>0,131</i>	<i>33</i>	<i>0,085</i>	<i>0,080</i>	<i>0,100</i>	<i>0,160</i>
Poskusno mesto	Vsebnost askorbinske kisline v listih <i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ ' - stojalo (mg/g SS)					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	0,214	4	0,342	0,025	0,063	0,403
Graška gora	0,278	4	0,502	0,020	0,030	0,535
Velenje-center	0,220	4	0,392	0,018	0,034	0,423
Lipje	0,216	4	0,379	0,020	0,030	0,413
Topolšica	0,226	4	0,391	0,008	0,045	0,445
Šmartno ob Paki	0,251	4	0,421	0,018	0,060	0,485
Šoštanj	0,241	4	0,453	0,008	0,019	0,474
kontrola-rastlinjak	0,020	1	-	-	-	-
Veliki Vrh	0,230	4	0,394	0,018	0,048	0,443
<i>Skupaj</i>	<i>0,228</i>	<i>33</i>	<i>0,359</i>	<i>0,020</i>	<i>0,030</i>	<i>0,090</i>
Poskusno mesto	Razmerje alfa tokoferol / askorbinska kislina v listih <i>Nicotiana tabacum</i> 'Bel W ₃ '					
	Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	0,956	4	1,141	0,278	0,571	1,634
Graška gora	3,365	4	5,785	0,243	0,673	6,486
Velenje-center	1,384	4	2,198	0,129	0,401	2,638
Lipje	1,586	4	2,532	0,159	0,429	3,013
Topolšica	1,548	4	2,414	0,055	0,517	3,041
Šmartno ob Paki	2,082	4	3,266	0,197	0,682	3,966
Šoštanj	2,078	4	3,895	0,043	0,182	4,114
kontrola-rastlinjak	0,045	1	-	-	-	-
Veliki Vrh	0,809	4	0,823	0,098	0,825	1,521
<i>Skupaj</i>	<i>1,675</i>	<i>33</i>	<i>2,828</i>	<i>0,071</i>	<i>0,400</i>	<i>1,500</i>

Preglednica 38: Vsebnost pigmentov klorofila a in klorofila b (mg/g SS) v listih rastlin, izpostavljenih na stojalu (tobak (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃'), nizek rumenostročni fižol (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') in plazeča detelja (*Trifolium repens* 'Milka')), in tobaka (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') v 10-litrskem loncu, izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka v celem vegetacijskem obdobju. Listi so bili vzorčeni v letih 2004 in 2005, na osmih poskusnih mestih.

Table 38: Levels of pigments of chlorophyll a and chlorophyll b (mg/g SS) in the leaves of plants exposed on stands (tobacco (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃'), yellow-pod dwarf beans (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') and white clover (*Trifolium repens* 'Milka')) and in the leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') exposed to the influences of polluted air in 10-litre pots during the entire vegetation period. The samples of leaves were taken at eight experiment sites in 2004 and 2005.

Vsebnost pigmentov v listih rastlin		N	Klorofil a (mg/g SS)					Klorofil b (mg/g SS)				
			Povp.	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅	Povp.	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	tobak - stojalo	2	2,570	0,226	2,410	2,570	2,730	0,738	0,120	0,653	0,738	0,822
	fižol - stojalo	3	2,883	0,520	2,360	2,890	3,400	0,808	0,038	0,784	0,787	0,852
	detelja - stojalo	4	4,468	0,660	4,070	4,220	4,865	1,485	0,284	1,260	1,485	1,710
	tobak - lonec	2	0,972	0,182	0,843	0,972	1,100	0,313	0,000	0,313	0,313	0,313
Graška gora	tobak - stojalo	3	4,643	2,064	2,760	4,320	6,850	1,255	0,474	0,734	1,370	1,660
	fižol - stojalo	3	3,473	0,739	2,650	3,690	4,080	0,970	0,106	0,849	1,010	1,050
	detelja - stojalo	4	3,210	1,214	2,380	3,470	4,040	1,219	0,169	1,114	1,265	1,325
	tobak - lonec	2	2,300	1,485	1,250	2,300	3,350	0,630	0,222	0,473	0,630	0,787
Velenje-center	tobak - stojalo	5	3,530	2,092	1,970	2,160	5,410	1,022	0,594	0,617	0,636	1,470
	fižol - stojalo	6	2,265	1,222	0,886	2,505	2,750	0,620	0,275	0,310	0,678	0,745
	detelja - stojalo	8	4,413	0,839	3,675	4,265	5,220	1,414	0,225	1,260	1,440	1,610
	tobak - lonec	4	3,573	1,141	2,630	3,620	4,515	1,094	0,333	0,827	1,040	1,360
Veliki Vrh	tobak - stojalo	2	3,490	1,966	2,100	3,490	4,880	1,109	0,709	0,607	1,109	1,610
	fižol - stojalo	2	2,535	0,658	2,070	2,535	3,000	0,676	0,214	0,525	0,676	0,827
	detelja - stojalo	4	3,640	2,174	1,780	3,495	5,500	1,277	0,477	0,895	1,340	1,660
	tobak - lonec	1	3,210	-	-	-	-	1,060	-	-	-	-
Lipje	tobak - stojalo	2	3,525	2,256	1,930	3,525	5,120	1,121	0,791	0,562	1,121	1,680
	fižol - stojalo	3	3,563	0,609	3,060	3,390	4,240	1,051	0,200	0,824	1,130	1,200
	detelja - stojalo	4	4,433	1,583	3,600	5,195	5,265	1,680	0,370	1,435	1,660	1,925
	tobak - lonec	1	2,560	-	-	-	-	0,977	-	-	-	-
Topolšica	tobak - stojalo	3	4,053	2,342	1,820	3,850	6,490	1,140	0,571	0,509	1,290	1,620
	fižol - stojalo	3	3,310	1,123	2,550	2,780	4,600	0,982	0,502	0,655	0,730	1,560
	detelja - stojalo	4	3,403	1,540	2,320	3,740	4,485	1,344	0,305	1,154	1,395	1,535
	tobak - lonec	1	2,380	-	-	-	-	0,857	-	-	-	-
Šmartno ob Paki	tobak - stojalo	3	4,400	2,374	1,840	4,830	6,530	1,289	0,651	0,538	1,660	1,670
	fižol - stojalo	3	3,070	1,437	1,450	3,570	4,190	0,866	0,327	0,489	1,050	1,060
	detelja - stojalo	3	3,490	1,273	2,070	3,870	4,530	1,210	0,010	1,200	1,210	1,220
	tobak - lonec	2	4,210	1,216	3,350	4,210	5,070	1,215	0,106	1,140	1,215	1,290
Šoštanj	tobak - stojalo	2	3,815	0,955	3,140	3,815	4,490	1,165	0,418	0,869	1,165	1,460
	fižol - stojalo	3	4,770	1,347	3,810	4,190	6,310	1,478	0,673	0,964	1,230	2,240
	detelja - stojalo	4	3,530	1,576	2,315	3,885	4,745	1,259	0,243	1,128	1,365	1,390
	tobak - lonec	1	2,360	-	-	-	-	0,772	-	-	-	-
SKUPAJ		97	3,524	1,436	2,380	3,450	4,560	1,117	0,430	0,784	1,130	1,410

Preglednica 39: Vsebnost ksantofilnih pigmentov luteina in zeaksantina (mg/g SS) v listih rastlin, izpostavljenih na stojalu (tobak (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃'), nizek rumenostročni fižol (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') in plazeča detelja (*Trifolium repens* 'Milka')), in tobaka (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') v 10-litrskem loncu, izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka v celem vegetacijskem obdobju. Listi so bili vzorčeni v letih 2004 in 2005, na osmih poskusnih mestih.

Table 39: Levels of xanthophyll pigments lutein and zeaxanthin (mg/g SS) in the leaves of plants exposed on stands (tobacco (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃'), yellow-pod dwarf beans (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') and white clover (*Trifolium repens* 'Milka')) and in the leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') exposed to the influences of polluted air in 10-litre pots during the entire vegetation period. The samples of leaves were taken at eight experiment sites in 2004 and 2005.

Vsebnost pigmentov v listih rastlin		N	Lutein (mg/g SS)					Zeaksantin (mg/g SS)				
			Povp.	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅	Povp.	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	tobak - stojalo	2	0,378	0,138	0,280	0,378	0,475	0,043	0,013	0,034	0,043	0,052
	fižol - stojalo	3	0,384	0,082	0,306	0,376	0,469	0,058	0,020	0,036	0,061	0,076
	detelja - stojalo	4	0,382	0,045	0,346	0,386	0,419	0,031	0,009	0,025	0,034	0,038
	tobak - lonec	2	0,165	0,017	0,153	0,165	0,177	0,033	0,002	0,031	0,033	0,034
Graška gora	tobak - stojalo	3	0,485	0,171	0,288	0,581	0,586	0,032	0,013	0,019	0,032	0,045
	fižol - stojalo	3	0,373	0,123	0,267	0,344	0,508	0,041	0,024	0,013	0,050	0,059
	detelja - stojalo	4	0,340	0,026	0,324	0,343	0,356	0,031	0,016	0,021	0,032	0,042
	tobak - lonec	2	0,257	0,083	0,198	0,257	0,315	0,030	0,021	0,015	0,030	0,044
Velenje-center	tobak - stojalo	5	0,409	0,210	0,248	0,288	0,584	0,038	0,013	0,032	0,037	0,049
	fižol - stojalo	6	0,303	0,120	0,199	0,290	0,411	0,039	0,016	0,024	0,039	0,050
	detelja - stojalo	8	0,377	0,054	0,347	0,386	0,420	0,028	0,009	0,023	0,032	0,035
	tobak - lonec	4	0,429	0,140	0,319	0,396	0,540	0,059	0,070	0,019	0,028	0,100
Veliki Vrh	tobak - stojalo	2	0,454	0,257	0,272	0,454	0,635	0,040	0,007	0,035	0,040	0,045
	fižol - stojalo	2	0,323	0,137	0,226	0,323	0,420	0,053	0,002	0,051	0,053	0,054
	detelja - stojalo	4	0,350	0,143	0,247	0,388	0,454	0,030	0,017	0,020	0,037	0,041
	tobak - lonec	1	0,402	-	-	-	-	0,020	-	-	-	-
Lipje	tobak - stojalo	2	0,464	0,290	0,259	0,464	0,669	0,033	0,008	0,027	0,033	0,038
	fižol - stojalo	3	0,434	0,064	0,371	0,432	0,498	0,068	0,039	0,024	0,087	0,094
	detelja - stojalo	4	0,440	0,069	0,389	0,419	0,491	0,038	0,019	0,026	0,036	0,051
	tobak - lonec	1	0,349	-	-	-	-	0,024	-	-	-	-
Topolšica	tobak - stojalo	3	0,460	0,190	0,244	0,536	0,601	0,036	0,016	0,022	0,033	0,053
	fižol - stojalo	3	0,412	0,117	0,283	0,440	0,512	0,047	0,022	0,027	0,043	0,070
	detelja - stojalo	4	0,346	0,038	0,318	0,344	0,374	0,035	0,019	0,022	0,035	0,048
	tobak - lonec	1	0,307	-	-	-	-	0,016	-	-	-	-
Šmartno ob Paki	tobak - stojalo	3	0,527	0,207	0,288	0,629	0,663	0,038	0,014	0,024	0,038	0,052
	fižol - stojalo	3	0,368	0,176	0,190	0,373	0,542	0,038	0,014	0,025	0,037	0,052
	detelja - stojalo	3	0,353	0,032	0,321	0,352	0,385	0,041	0,009	0,032	0,043	0,049
	tobak - lonec	2	0,443	0,034	0,419	0,443	0,467	0,036	0,001	0,035	0,036	0,036
Šoštanj	tobak - stojalo	2	0,483	0,198	0,343	0,483	0,623	0,037	0,003	0,035	0,037	0,039
	fižol - stojalo	3	0,551	0,173	0,358	0,601	0,694	0,054	0,021	0,031	0,059	0,072
	detelja - stojalo	4	0,347	0,040	0,316	0,339	0,377	0,034	0,016	0,024	0,037	0,043
	tobak - lonec	1	0,269	-	-	-	-	0,015	-	-	-	-
SKUPAJ		97	0,389	0,128	0,306	0,369	0,465	0,038	0,021	0,027	0,035	0,049

Preglednica 40: Aktivnost encima superoksid dizmutaza (SOD) v listih rastlin, izpostavljenih na stojalu (tobak (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃'), nizek rumenostročni fižol (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') in plazeča detelja (*Trifolium repens* 'Milka'): izpostavljena 2 ali 4 tedne, in tobaka (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') v 10-litrskem loncu, izpostavljenega vplivom onesnaženega zraka v celem vegetacijskem obdobju. Listi so bili vzorčeni v letih 2002, 2003 in 2004, na desetih poskusnih mestih.

Table 40: Activity of the superoxide dismutase enzyme (SOD) in the leaves of plants exposed on stands (tobacco (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃'), yellow-pod dwarf beans (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') and white clover (*Trifolium repens* 'Milka') – the latter was exposed for 2 or 4 weeks) and in the leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') exposed to the influences of polluted air in 10-litre pots during the entire vegetation period. The samples of leaves were taken at ten experiment sites in 2002, 2003 and 2004.

Aktivnost encima SOD (dE*V(ekst.) / (min*g)*V(mer.))		Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Zavodnje	tobak stojalo	20,88	3	31,22	0,53	5,27	56,83
	fižol stojalo	15,30	3	21,45	0,89	5,05	39,96
	detelja stojalo 2t	22,06	2	20,71	7,41	22,06	36,71
	detelja stojalo 4t	10,36	3	9,05	0,26	13,10	17,72
	tobak lonec	16,04	2	17,88	3,39	16,04	28,68
Graška gora	tobak stojalo	16,99	3	22,97	1,25	6,37	43,35
	fižol stojalo	10,51	3	8,70	0,49	14,94	16,11
	detelja stojalo 2t	6,84	2	8,15	1,07	6,84	12,61
	detelja stojalo 4t	9,43	3	9,57	0,76	7,81	19,71
	tobak lonec	9,96	2	0,96	9,28	9,96	10,63
Velenje-center	tobak stojalo	12,28	4	14,57	2,77	7,37	21,79
	fižol stojalo	13,42	3	9,40	3,84	13,79	22,64
	detelja stojalo 2t	12,14	2	6,06	7,85	12,14	16,42
	detelja stojalo 4t	15,91	3	17,00	1,95	10,93	34,85
	tobak lonec	26,23	2	12,35	17,49	26,23	34,97
Veliki Vrh	tobak stojalo	6,49	3	6,56	0,48	5,49	13,49
	fižol stojalo	27,73	3	25,06	0,38	33,21	49,60
	detelja stojalo 2t	31,05	2	14,90	20,51	31,05	41,59
	detelja stojalo 4t	17,09	3	26,07	0,41	3,71	47,14
	tobak lonec	37,72	1	-	-	-	-
Velenje-jezero	tobak stojalo	13,24	3	18,21	1,01	4,54	34,17
	fižol stojalo	28,08	2	37,93	1,26	28,08	54,91
	detelja stojalo 2t	1,31	1	-	-	-	-
	detelja stojalo 4t	10,89	2	14,30	0,77	10,89	21,00
	tobak lonec	20,01	1	-	-	-	-
Lipje	tobak stojalo	9,51	4	9,35	2,40	7,85	16,62
	fižol stojalo	17,62	3	15,94	0,79	19,55	32,50
	detelja stojalo 2t	4,27	2	5,55	0,34	4,27	8,20
	detelja stojalo 4t	8,69	3	8,00	1,14	7,85	17,08
	tobak lonec	13,47	1	-	-	-	-
Topolšica	tobak stojalo	12,44	4	12,58	2,58	10,00	22,29
	fižol stojalo	7,79	3	6,90	0,46	8,75	14,18
	detelja stojalo 2t	5,52	2	5,34	1,73	5,52	9,30
	detelja stojalo 4t	13,06	3	17,79	1,08	4,59	33,50
	tobak lonec	7,86	1	-	-	-	-
Šmartno ob Paki	tobak stojalo	3,10	4	2,70	0,79	3,19	5,41
	fižol stojalo	13,88	3	5,89	7,11	16,66	17,88
	detelja stojalo 2t	7,39	2	0,91	6,74	7,39	8,03
	detelja stojalo 4t	5,71	3	8,94	0,42	0,67	16,04
	tobak lonec	16,07	2	2,09	14,59	16,07	17,55

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Aktivnost encima SOD (dE*V(ekst.) / (min*g)*V(mer.))		Povp.	N	SD	Q ₂₅	Me	Q ₇₅
Šoštanj	tobak stojalo	12,58	3	16,31	0,89	5,65	31,21
	fižol stojalo	14,41	3	12,50	0,91	16,74	25,58
	detelja stojalo 2t	18,87	2	25,91	0,55	18,87	37,19
	detelja stojalo 4t	12,53	3	14,30	0,95	8,12	28,52
	tobak lonec	48,05	1	-	-	-	-
Kontrola-rastlinjak	tobak stojalo	2,01	1	-	-	-	-
	fižol stojalo	7,36	1	-	-	-	-
	detelja stojalo 2t	5,86	1	-	-	-	-
	detelja stojalo 4t	5,12	1	-	-	-	-
	tobak lonec	5,50	1	-	-	-	-
SKUPAJ		13,43	118	13,99	1,31	7,95	19,55

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

5.1.1 Spremljanje odziva sorte plazeče detelje *Trifolium repens* 'Regal' na zračna onesnažila po metodi ICP Vegetation programa

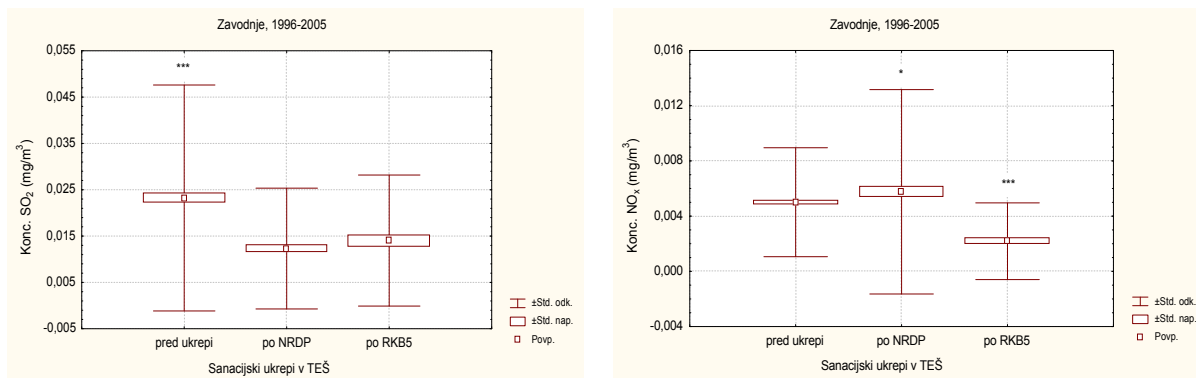
5.1.1.1 Odziv sorte plazeče detelje *Trifolium repens* 'Regal' na zmanjševanje emisij zračnih onesnažil iz TEŠ v Zavodnjah

V Zavodnjah se poskusi s plazečo deteljo 'Regal' izvajajo že od leta 1996 do 2005, izjemi sta leti 1998 in 2004. V tem času so v Termoelektrarni Šoštanj izvedli dva pomembnejša sanacijska ukrepa. V letu 2000 je začela redno obratovati naprava za razžveplanje dimnih plinov (NRDP) bloka 5 in leta 2003 so rekonstruirali kotel B5 (RKB5) in s tem zmanjšali emisije dušikovih oksidov na polovico. Meritve koncentracij ozona, dušikovih oksidov in žveplovega dioksida v času izvajanja poskusov smo v statistični obdelavi razdelili v tri obdobja (obdobje pred sanacijami, obdobje po NRDP in obdobje po RKB5). S tako razdelitvijo smo želeli preveriti učinkovitost sanacijskih ukrepov samo za tisti del leta, ki je z vidika rastlin najpomembnejši.

Koncentracije žveplovega dioksida (SO_2) v Zavodnjah so bile pred obratovanjem NRDP značilno večje kot po letu 2000 (t-test: $\bar{a}_{\text{predNRDP}}=0,023 \text{ mg/m}^3$, $\bar{a}_{\text{poNRDP}}=0,013 \text{ mg/m}^3$, $t=64,27$; $p<0,001$; slika 15). Ugotavljamo še, iz slike 15, da so bile koncentracije dušikovih oksidov (NO_x) značilno manjše v tretjem obdobju glede na prva dva obdobja, to je po RKB5 (enosmerna ANOVA: $\bar{a}_{\text{predNRDP}}=0,005 \text{ mg/m}^3$, $\bar{a}_{\text{poNRDP}}=0,0057 \text{ mg/m}^3$, $\bar{a}_{\text{poRKB5}}=0,002 \text{ mg/m}^3$, $F_{2,934}=21,31$; $p<0,001$). Ta dva sanacijska ukrepa, še posebej RKB5, nista vplivala na zmanjšanje povprečnih dnevni koncentracij ozona v Zavodnjah, se pa obdobja med sanacijskimi ukrepi razlikujejo v koncentracijah ozona (Enosmerna ANOVA: $\bar{a}_{\text{predNRDP}}=0,073 \text{ mg/m}^3$, $\bar{a}_{\text{poNRDP}}=0,092 \text{ mg/m}^3$, $\bar{a}_{\text{poRKB5}}=0,079 \text{ mg/m}^3$, $F_{2,942}=60,34$; $p<0,001$). Iz slike 16 vidimo, da so povprečne dnevne koncentracije ozona pred 2000 bile manjše od obeh obdobj po delovanju NRDP. Za koncentracije ozona in dušikovih oksidov v zraku je značilna velika variabilnost v meritvah.

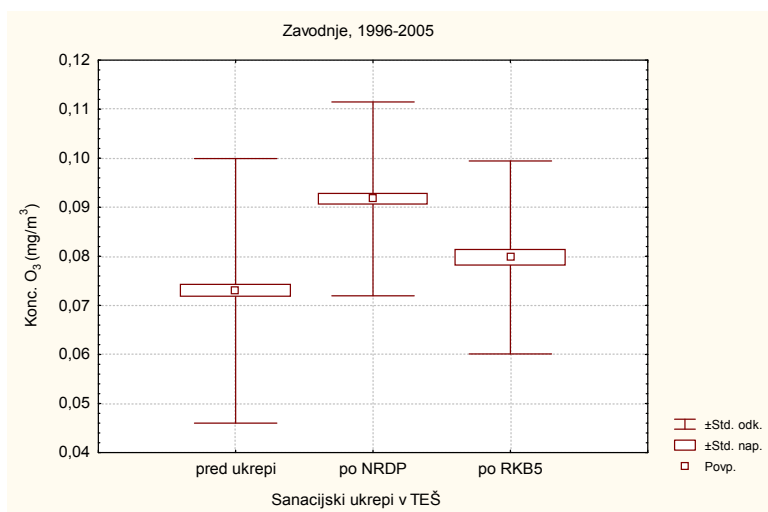
Koncentracije ozona v Zavodnjah so močno odvisne od ugodnih vremenskih razmer (temperatura, relativna zračna vlaga, stabilnost atmosferskih mas) za njegov nastanek. Pozitiven učinek sanacijskih ukrepov na rastline lahko pričakujemo zaradi zmanjšanja sinergizma med ozonom in drugimi zračnimi onesnažili, to je žveplovim dioksidom in dušikovimi oksidi. V Zavodnjah ugotavljamo, da se povprečni razredi poškodovanosti listov občutljivega klona na ozon (NC-S), plazeče detelje 'Regal' linearno povečujejo s povečevanjem koncentracij ozona (slika 19; $\bar{a}_{\text{NC-S}}=2,65$, $\bar{a}_{\text{konc.O}_3}=0,078 \text{ mg/m}^3$, $r_{\text{NC-S; konc.O}_3}=0,48$, $t=2,80$, $p<0,01$; Razred_{NC-S} = $0,74 + 24,17 * \text{Povp. konc. O}_3$). Pri primerjavi treh obdobj smo primerjali odziv plazeče detelje 'Regal' na ravni vizualnih ozonskih poškodb in ugotovili, da so se razredi poškodovanosti zmanjševali (slika 18; Kruskal-Wallis ANOVA: $\lambda^2=7,2$, $df=2$, $p=0,027$).

Razred poškodovanosti listov zaradi ozona ima od leta 1996 do 2005 v Zavodnjah trend upadanja, ki ni statistično značilen (slika 18; $r_{(\text{leto, razredNC-S})}=-0,17$, $n=32$, $t=-0,94$, $p=0,35$). Za NC-R klon ni značilne povezanosti med poškodbami in koncentracijami ozona.



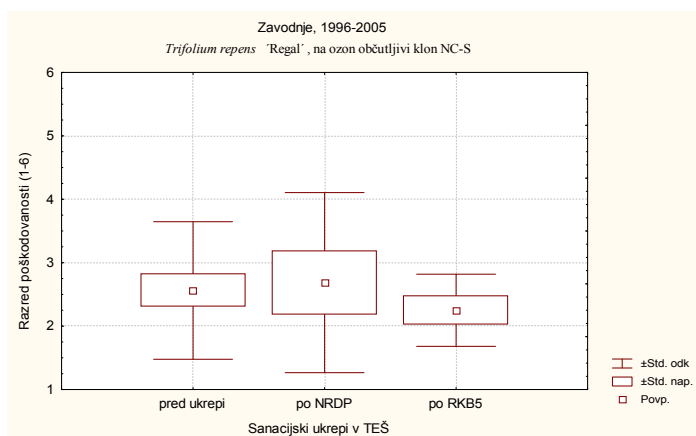
Slika 15: Koncentracija žveplovega dioksida (SO₂; μg/m³) in dušikovih oksidov (NO_x; μg/m³) v Zavodnjah v treh različnih obdobjih glede na sanacijske ukrepe v TEŠ (po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov - po NRDP; po rekonstrukciji kotla B5 – RKB5).

Figure 15: Concentration of sulphur dioxide (SO₂; μg/m³) and nitric oxides (NO_x; μg/m³) in Zavodnje in three different periods with regard to remedial actions taken by TEŠ (after the flue gas desulphurization plant (NRDP) started operating, after the reconstruction of the B5 steam generator – RKB5).



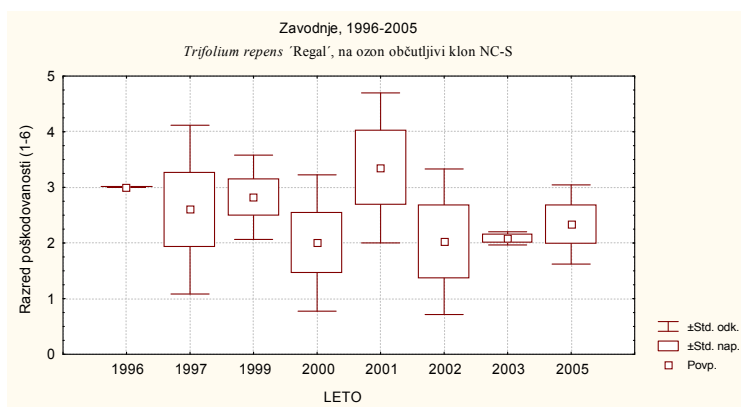
Slika 16: Koncentracija ozona (O₃; μg/m³) v Zavodnjah v treh različnih obdobjih glede na sanacijske ukrepe v TEŠ (po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov - po NRDP; po rekonstrukciji kotla B5 – RKB5).

Figure 16: Concentration of ozone (O₃; μg/m³) in Zavodnje in three different periods with regard to remedial actions taken by TEŠ (after the flue gas desulphurization plant (NRDP) started operating, after the reconstruction of the B5 steam generator – RKB5).



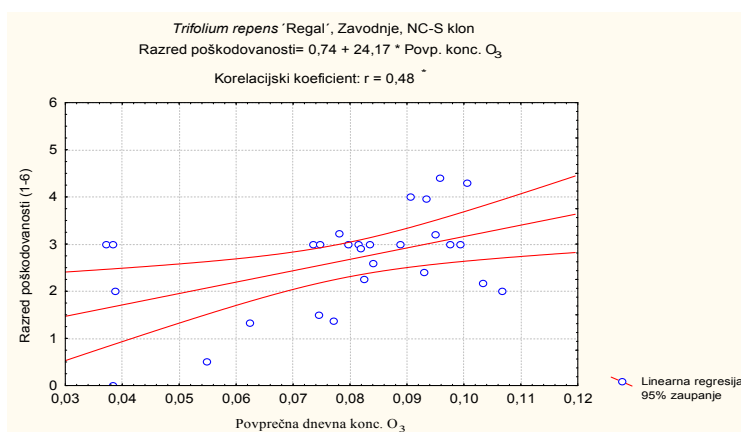
Slika 17: Razred poškodovanosti listov zaradi ozona v Zavodnjah v treh različnih obdobjih glede na sanacijske ukrepe v TEŠ (po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov - po NRDP; po rekonstrukciji kotla B5 – RKB5).

Figure 17: Class of ozone-caused injury in Zavodnje in three different periods with regard to remedial actions taken by TEŠ (after the flue gas desulphurization plant (NRDP) started operating, after the reconstruction of the B5 steam generator – RKB5).



Slika 18: Razred poškodovanosti listov zaradi ozona od leta 1996 do 2005 v Zavodnjah.

Figure 18: Class of ozone-caused injury observed on leaves in the period from 1996 to 2006 in Zavodnje.



Slika 19: Linearna odvisnost med povprečnimi koncentracijami ozona ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) in razredi poškodovanosti listov na ozon občutljivega klona NC-S plazeče detelje 'Regal'.

Figure 19: Linear correlation between average ozone concentrations ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) and classes of leaf injury observed in the ozone sensitive NC-S clone of the 'Regal' white clover.

Odziv plazeče detelje 'Regal' na ozon in druga onesnažila smo spremljali tudi s primerjavo pridelkov med občutljivim (NC-S klon) in odpornim (NC-R klon) klonom. V Zavodnjah smo zaradi najdaljšega niza rezultatov primerjali vrednosti nadzemne mase plazeče detelje (pridelek) 'Regal' obeh klonov z okoljskimi meritvami (temperaturo zraka, relativno zračno vlago, povprečnimi koncentracijami ozona, povprečnimi koncentracijami žveplovega dioksida in akumuliranimi vrednostmi ozona nad pragom 40 ppb).

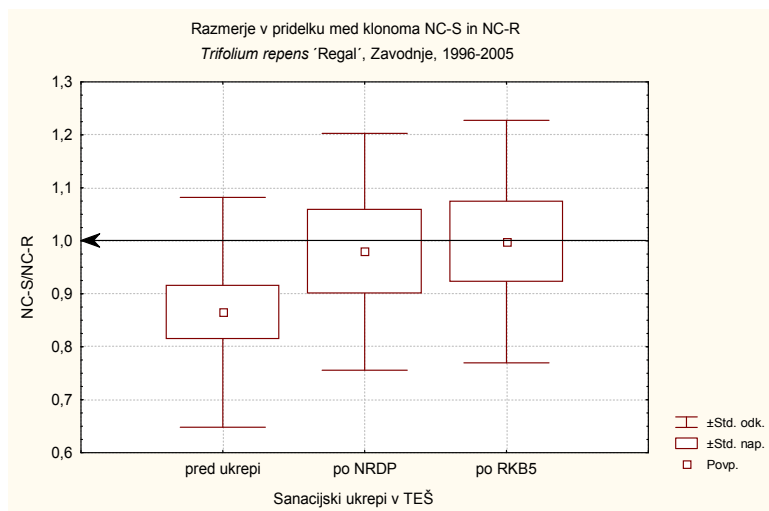
Ugotavljamo, da je povprečna masa nadzemnega dela plazeče detelje 'Regal' statistično značilno linearno povezana s koncentracijami žveplovega dioksida (biomasa NC-R = $4,5445 + 804,36 * \text{konc. SO}_2$ ($r=+0,87$) in biomasa NC-S = $4,24 + 708,66 * \text{konc. SO}_2$ ($r=+0,88$)). Ko so se koncentracije SO_2 v Zavodnjah z leti značilno zmanjševale ($r=-0,81$), se je pridelek plazeče detelje tudi zmanjševal in to pri obeh klonih ($r_{\text{NC-R}}=-0,81$; $r_{\text{NC-S}}=-0,85$). Razlike v biomasah med klonoma so se po zmanjševanju koncentracij SO_2 manjšale (premiči se srečata pri koncentraciji $0,004 \mu\text{g SO}_2/\text{m}^3$).

Ugotavljamo, da se je temperatura zraka v poskusnih obdobjih iz leta v leto v povprečju povečevala ($r=+0,76$), vendar statistično značilne linearne povezanosti nismo potrdili. V zmanjševanju nadzemnega dela biomas obeh klonov ($r_{\text{NC-R}}=-0,57$; $r_{\text{NC-S}}=-0,65$) ne ugotavljamo statistično značilne povezanosti z naraščanjem povprečne temperature zraka in ne ugotavljamo statistično značilne povezanosti s povečevanjem koncentracij ozona v Zavodnjah ($r_{\text{NC-R}}=-0,27$; $r_{\text{NC-S}}=-0,42$). Ugotavljamo, da imata koeficienta korelacije biomase nadzemnega dela plazeče detelje 'Regal' s temperaturami zraka in ozonskimi koncentracijami negativni predznak, kar nakazuje na negativen vpliv velikih temperatur in ozona na pridelek. Fagnano s sod. (2004) je primerjal odziv NC-S in NC-R klona v kontroliranih pogojih in v pogojih izpostavitve zunanjemu zraku in ugotovil, da razlike v zmanjšanju pridelka v primerjavah obeh metod niso statistično značilne (23% zmanjšanje pridelka v poskusih na zunanjem zraku in 18% v kontroliranih pogojih – rastlinjak) in ugotavlja, da je razmerje med biomasama NC-S/NC-R dober kazalnik zmanjšanja pridelka zaradi vplivov onesnaženosti zraka z ozonom.

Razmerje v nadzemni masi med NC-S in NC-R klonoma bi ob predpostavljenih optimalnih okoljskih in drugih rastnih razmerah moralo biti 1. Če je razmerje pridelka med klonoma pod 1, pomeni, da je občutljivejši klon na ozon imel v povprečju manjši pridelek. V Zavodnjah v razmerju pridelkov med klonoma pred in po delovanju NRDP ni statistično značilnih razlik (t-test za neodvisne vzorce: $\bar{a}_{\text{predNRDP}}=0,87$; $\bar{a}_{\text{poNRDP}}=0,99$; $\text{SD}_{\text{predNRDP}}=0,22$; $\text{SD}_{\text{poNRDP}}=0,22$; $t=-1,69$; $\text{df}=33$, $p>0,05$). Toda povprečna vrednost razmerja po delovanju čistilne naprave je blizu ena (slika 20). Vrednost ena je cilj in ponazarja, da so vplivi zračnih onesnažil, zlasti ozona po sanacijskih ukrepih v TEŠ, zmanjšani. Linearna odvisnost med leti in razmerjem med klonoma v pridelku ni statistično značilna ($r=0,29$; $t=1,73$; $n=35$; $p=0,09$).

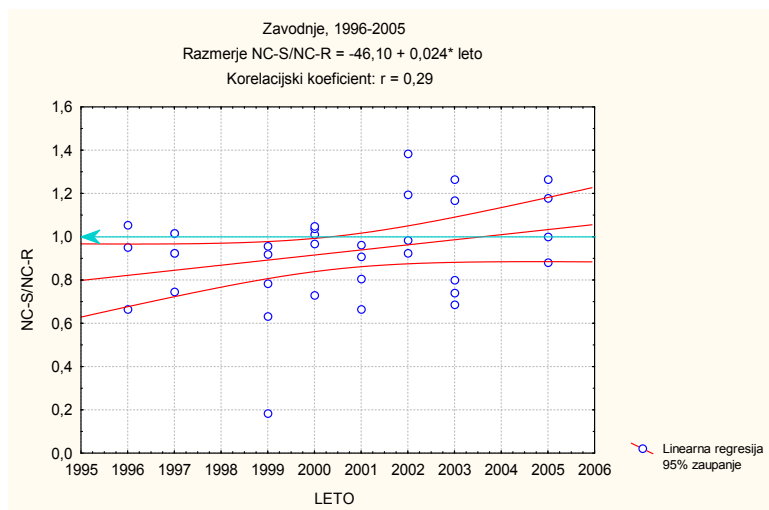
Iz slike 21 se vidi pozitiven trend, to je zmanjševanje vplivov ozona in drugih zračnih onesnažil na pridelek ozon občutljivejših vrst kmetijskih rastlin, v našem primeru NC-S klona. Linearna odvisnost med povprečnimi dnevnimi koncentracijami ozona in razmerjem v pridelku med klonoma NC-S in NC-R plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah ni statistično značilna ($r=-0,25$; $n=24$; $p=0,23$), kaže pa trend zmanjševanja vrednosti razmerja ob povečevanju koncentracij ozona. Rezultati ICP Vegetation skupine raziskovalcev (Hayes in sod., 2007) potrjujejo enake ugotovitve, le da so koncentracije ozona izrazili v AOT40 (ppm.h) vrednosti in ne v povprečnih dnevni koncentracijah in uporabili so rezultate iz 24-tih poskusnih mest iz različnih delov Evrope in za obdobje 11-tih let. Na sliki 22 smo

prikazali povezanost med koncentracijami ozona in razmerji med biomasama obeh klonov plazeče detelje 'Regal', ki so bila pod 1. Tudi v tem primeru ne ugotavljamo značilne linearne odvisnosti, čeprav smo s tem morebitne druge dejavnike okolja, predvsem tiste, ki bi lahko vplivali na boljšo rast klona NC-R in s tem razmerje v biomasah med klonoma povečali nad 1, izločili.



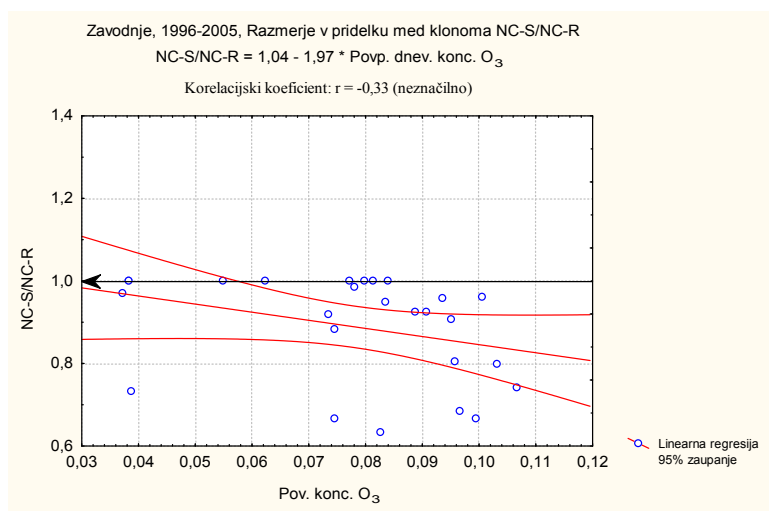
Slika 20: Razmerje v pridelku med NC-S in NC-R klonoma plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah pred in po delovanju naprave za razžvepljanje dimnih plinov (NRDP) ter po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).

Figure 20: Yield ratios of the NC-S to the NC-R clone of the 'Regal' white clover in Zavodnje before the flue gas desulphurization plant (NRDP) started operating, after its start of operation and after the reconstruction of the B5 steam generator (RKB5).



Slika 21: Linearna odvisnost med leti in razmerjem v pridelku med klonoma NC-S in NC-R plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah.

Figure 21: Linear correlation between years and yield ratios of the NC-s to the NC-R clone of the 'Regal' white clover in Zavodnje.



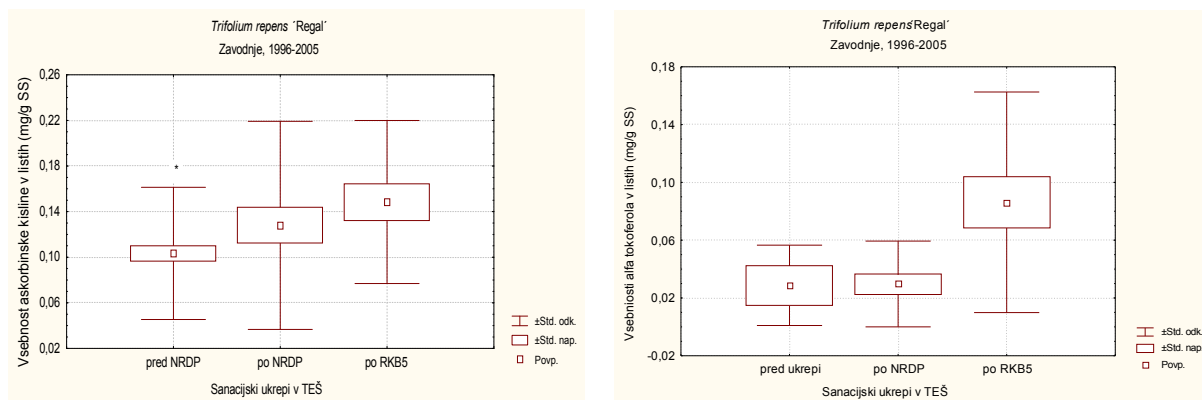
Slika 22: Linearna odvisnost med povprečnimi dnevnimi koncentracijami ozona ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) in razmerjem v pridelku med klonoma NC-S in NC-R plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah.

Figure 22: Linear correlation between average daily concentrations of ozone ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) and yield ratios of the NC-s to the NC-R clone of the 'Regal' white clover in Zavodnjah.

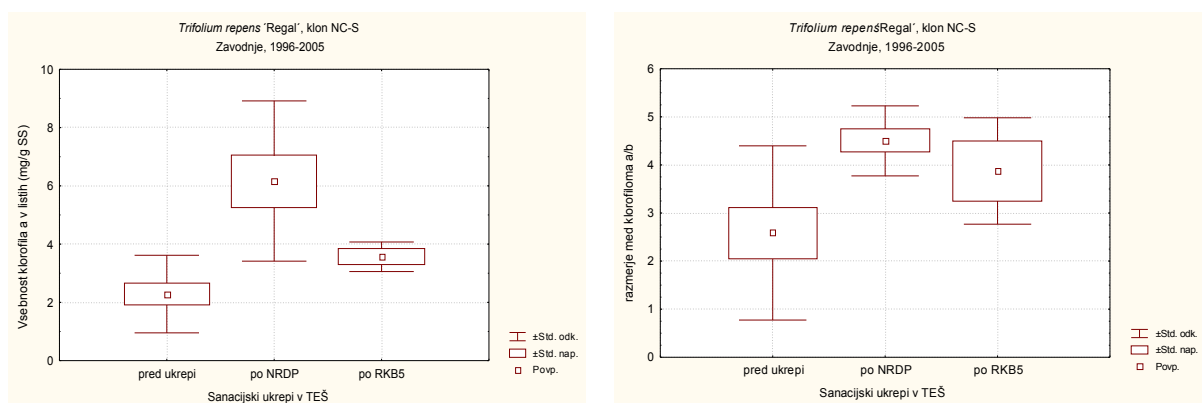
Odziv plazeče detelje 'Regal' smo spremljali v Zavodnjah od leta 1996 do 2005 tudi na biokemijski ravni, z meritvami vsebnosti antioksidativnih molekul (askorbinske kisline in alfa tokoferola) in rastlinskih pigmentov v listih. Povečane vsebnosti antioksidativnih molekul v listih pomenijo večjo obrambno sposobnost rastline. Pogosto se vsebnosti antioksidativnih molekul povečajo ob oksidativnem stresu, ki ga lahko povzroči onesnažilo, suša ali napad patogena ali insekta. Ob prekomernem in kontinuiranem oksidativnem stresu obrambna sposobnost rastlin ni več učinkovita in nastanejo trajne poškodbe na rastlinah. Velikokrat te poškodbe lahko evidentiramo kot zmanjšanje vsebnosti fotosintezno aktivnih pigmentov predvsem klorofila a in naraščanje vsebnosti ksantofilov in karotenov.

Vsebnosti askorbinske kisline v listih plazeče detelje 'Regal' naraščajo od obdobja pred delovanjem NRDP do obdobja po sanaciji emisij dušikovih oksidov v TEŠ (slika 23; enosmerna ANOVA: $\bar{a}_{\text{predNRDP}}=0,10$ mg/g SS, $\bar{a}_{\text{poNRDP}}=0,13$ mg/g SS, $\bar{a}_{\text{poRKB5}}=0,15$ mg/g SS, $F_{2,119}=3,51$, $p=0,03$; LSD test: $p_{(\text{predNRDP-poRKB5})}<0,05$). Podobno ugotavljamo za vsebnosti alfa tokoferola v listih (slika 23; enosmerna ANOVA: $\bar{a}_{\text{predNRDP}}=0,029$ mg/g SS, $\bar{a}_{\text{poNRDP}}=0,030$ mg/g SS, $\bar{a}_{\text{poRKB5}}=0,086$ mg/g SS, $F_{2,35}=4,66$, $p=0,02$; LSD test: $p_{(\text{predNRDP-poRKB5})}<0,01$). V Zavodnjah ugotavljamo, da so se vsebnosti glavnega rastlinskega pigmenta klorofila a v listih na ozon občutljivega klona (NC-S) plazeče detelje povečale od obdobja pred sanacijo emisij žveplovega dioksida (slika 24) in pričakovano se je povečalo tudi razmerje med klorofilom a in klorofilom b (slika 24).

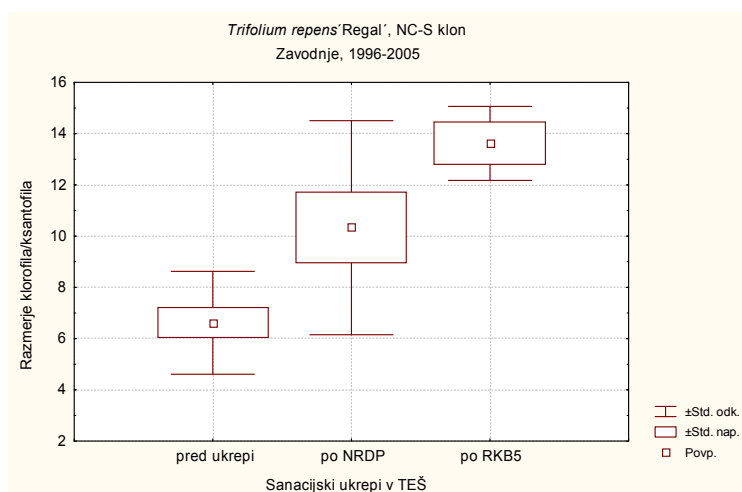
Razmerje med klorofiloma a in b s ksantofiloma (luteinom in zeaksantinom) v listih se povečuje od leta 1996 naprej (slika 25). Na takšne rezultate lahko sklepamo, da se vitalnost rastlin kljub naraščanju koncentracij ozona v vegetacijskem obdobju izboljšuje, predvsem na osnovi zmanjšane sinergističnega vpliva ozona z drugimi onesnažili. Izboljšana vitalnost rastlin posledično vpliva tudi na večji in predvsem učinkovitejši obrambni odziv rastlin na oksidativne strese v naravnem okolju.



Slika 23: Vsebnosti askorbinske kisline in alfa tokoferola v listih plazeče detlje 'Regal' v Zavodnjah pred in po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov (NRDP) ter po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).
Figure 23: Levels of ascorbic acid and alpha-tocopherol in the leaves of the 'Regal' white clover in Zavodnje before the flue gas desulphurization plant (NRDP) started operating, after its start of operation and after the reconstruction of the B5 steam generator (RKB5).



Slika 24: Vsebnosti klorofila a in razmerje med klorofiloma a in b v listih plazeče detlje 'Regal' v Zavodnjah pred in po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov (NRDP) ter po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).
Figure 24: Levels of chlorophyll a and ratio of chlorophyll a to chlorophyll b in the leaves of the 'Regal' white clover in Zavodnje before the flue gas desulphurization plant (NRDP) started operating, after its start of operation and after the reconstruction of the B5 steam generator (RKB5).



Slika 25: Razmerje med klorofiloma (klorofil a in b) in ksantofiloma (lutein in zeaksantin) v listih plazeče detelje 'Regal' občutljivega klona na ozon (NC-S) v Zavodnjah pred in po delovanju naprave za razžveplanje dimnih plinov (NRDP) ter po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).

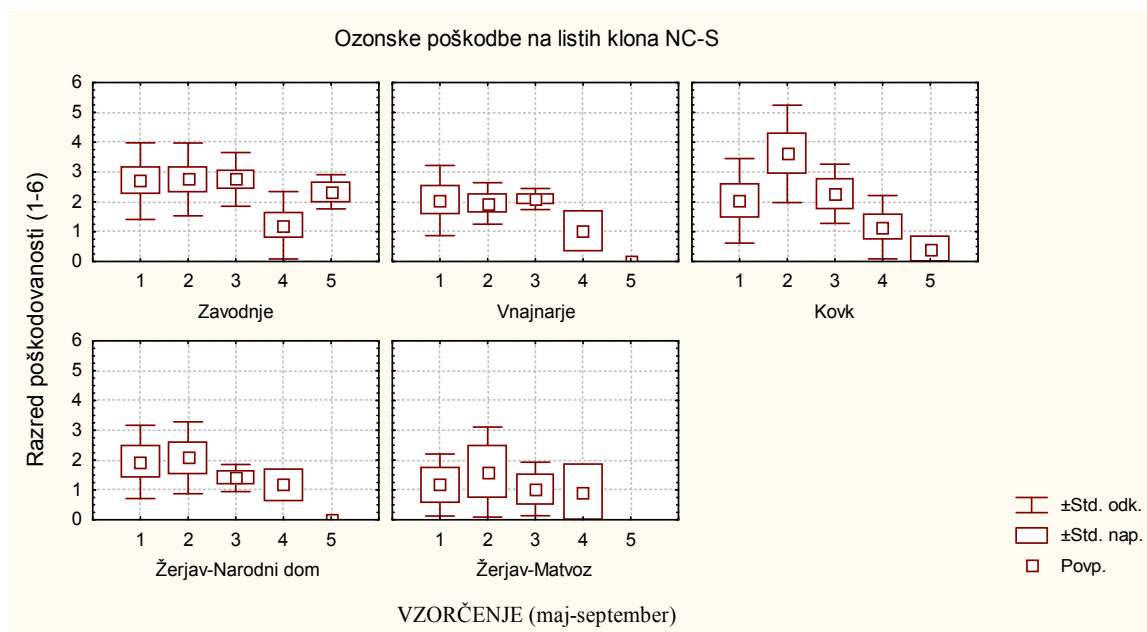
Figure 25: Ratio of chlorophylls (chlorophyll and ab) to xanthophylls (lutein and zeaxanthin) in the leaves of the ozone-sensitive (NC-S) 'Regal' white clover in Zavodnje before the flue gas desulphurization plant (NRDP) started operating, after its start of operation and after the reconstruction of the B5 steam generator (RKB5).

5.1.1.2 Primerjava odziva *Trifolium repens* 'Regal' iz štirih različno onesnaženih območij Slovenije z zračnimi onesnažili

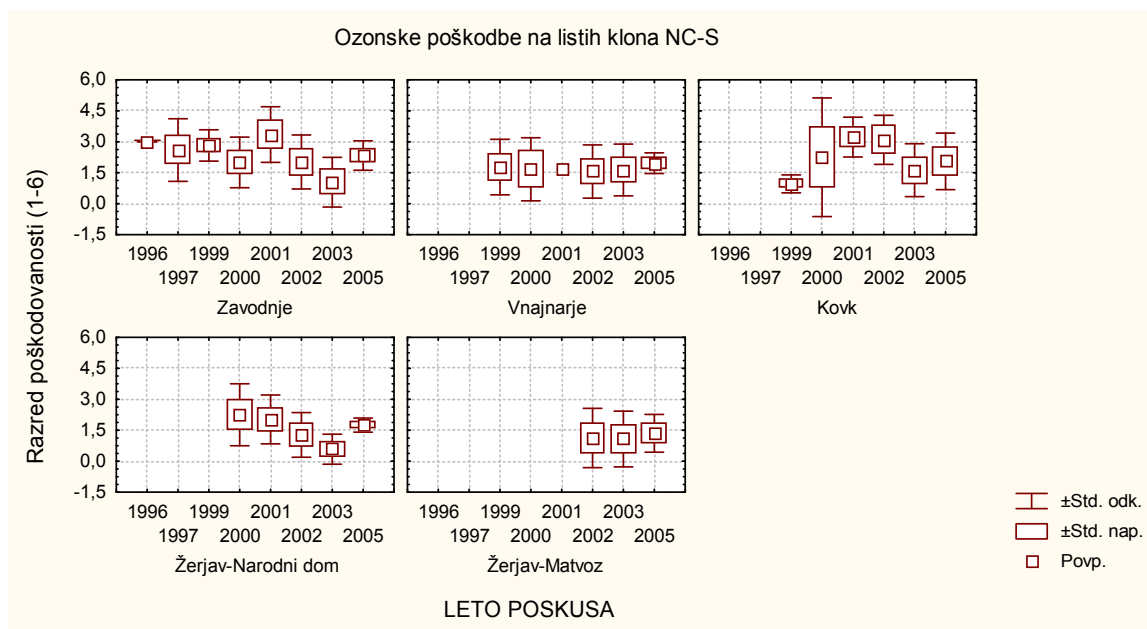
Enake poskuse s plazečo deteljo 'Regal' kot v Zavodnjah smo v preteklosti in tudi v letu 2005 izvajali še v Vnajarjarskih pri Ljubljani, Kovku v Zasavju in v Žerjavu v Mežiški dolini pri Narodnem domu in na Matvozovem vrhu. S primerjavo rezultatov odziva rastlin v Zavodnjah z drugimi poskusnimi mesti dobimo realnejšo predstavo o vplivih ozona in drugih onesnažil v Zavodnjah.

Na vseh poskusnih mestih ugotavljamo, da se zmanjšujejo evidentirane ozonske poškodbe na listih od prvega do zadnjega vzorčenja (upoštevali smo rezultate od leta 1996-2005) (slika 26).

Največji razred ozonskih poškodb smo v povprečju izračunali za Kovk v obdobju od prvega do drugega vzorčenja, to je meseca julija, enako za julij ugotavljajo tudi Hayes s sod. (2007) in ugotavljajo da se velike ozonske poškodbe beležijo lahko tudi avgusta in junija. Upoštevajoč vse podatke smo izračunali največji povprečen razred ozonskih poškodb na listih v Sloveniji (vsa poskusna mesta) ob drugem vzorčenju. Izračunana vrednost je 2,5, kar pomeni od 5 do 25% listov z ozonskimi poškodbami. Najmanj poškodb na listih smo v povprečju ocenili na poskusnih mestih v Žerjavu. Povprečna vrednost razreda v prvih treh obdobjih vzorčenja skupaj se med Kovkom in Zavodnjami statistično ne razlikuje. Med vsemi poskusnimi mesti ugotavljamo za Zavodnje padanje vrednosti razreda ozonskih poškodb od leta 1996 naprej (slika 27). Takšne rezultate smo beležili tudi na lokaciji Žerjav-Narodni dom, vendar v Žerjavu so zabeležene ozonske poškodbe na listih bile že od vsega začetka zelo majhne.



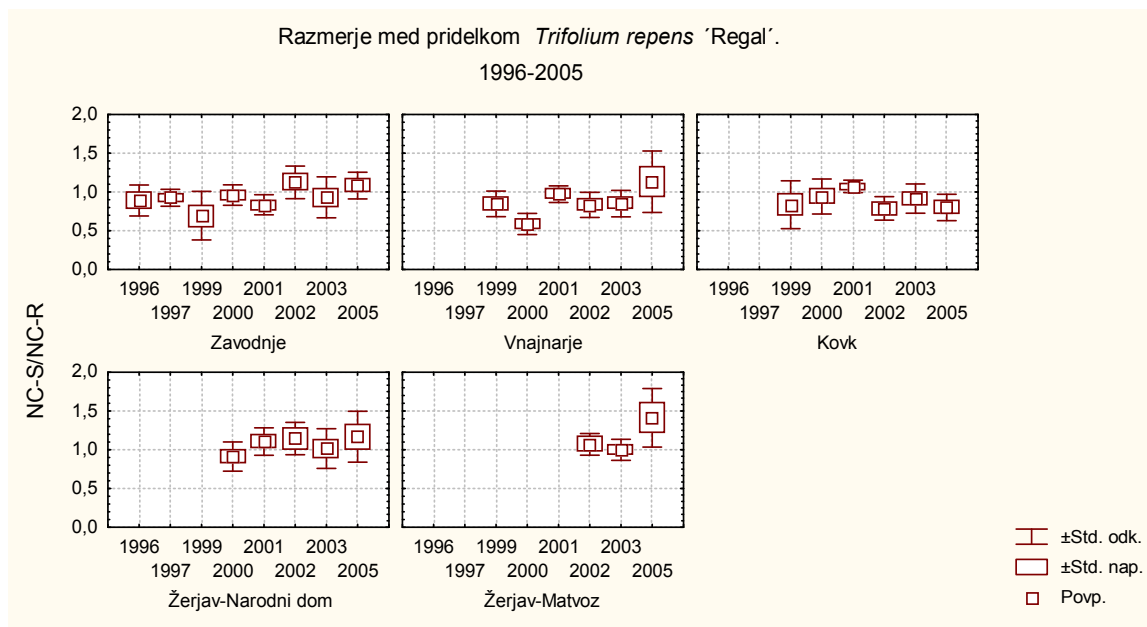
Slika 26: Razredi poškodovanosti listov plazee detelje 'Regal' v vegetacijskem obdobju, to je od prvega do zadnjega vzorčenja, na poskusnih mestih Zavodnje, Vnajnarje, Kovk, Žerjav-Narodni dom in Žerjav-Matvoz.
Figure 26: Classes of leaf injury observed in the 'Regal' white clover during the vegetation period, i.e. in the time from the first until the last sampling, at experiment sites Zavodnje, Vnajnarje, Žerjav (multi-purpose centre Narodni dom and Matvoz).



Slika 27: Razredi poškodovanosti listov plazee detelje 'Regal' od leta 1996 do 2005 na poskusnih mestih Zavodnje, Vnajnarje, Kovk, Žerjav-Narodni dom in Žerjav-Matvoz.
Figure 27: Classes of leaf injury observed in the 'Regal' white clover from 1996 to 2005 at experiment sites Zavodnje, Vnajnarje, Žerjav – Narodni dom and Matvoz.

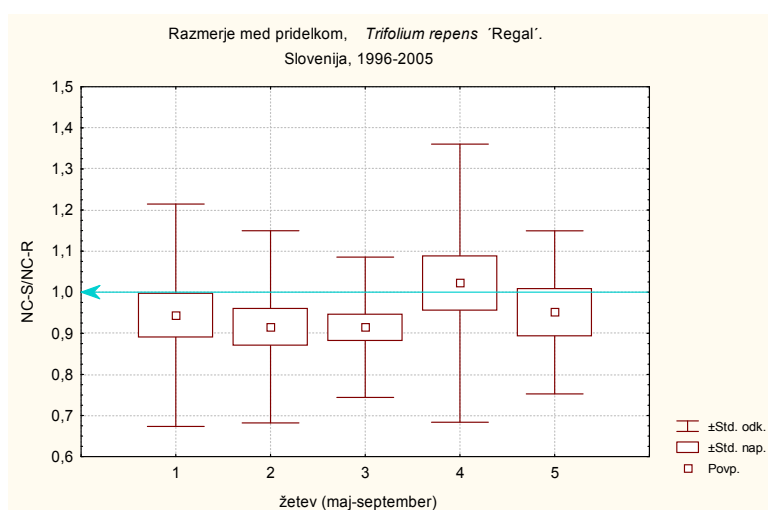
Razmerje med klonoma je značilno linearno odvisno od leta (slika 28: $p < 0,05$). Korelacijski koeficient kaže pozitiven trend v smislu zmanjševanja vpliva ozona na

pridelek in je 0,32 (Razmerje NC-S/NC-R = $-67,16 + 0,03 \cdot \text{leto}$). Med žetvami oz. meseci in razmerjem v pridelku plazeče detelje sorte Regal ni značilne linearne odvisnosti (Razmerje NC-S/NC-R = $0,91 + 0,02 \cdot \text{žetev}$). Razmerja so značilno manjša od 1 v primeru prvih treh žetev, to je od maja do julija (slika 27).



Slika 28: Razmerje v pridelku med klonoma NC-S in NC-R plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah, Vnajnarjih, Kovku, Žerjav-Narodni dom, Žerjav-Matvoz po posameznih poskusnih letih (1996–2005).

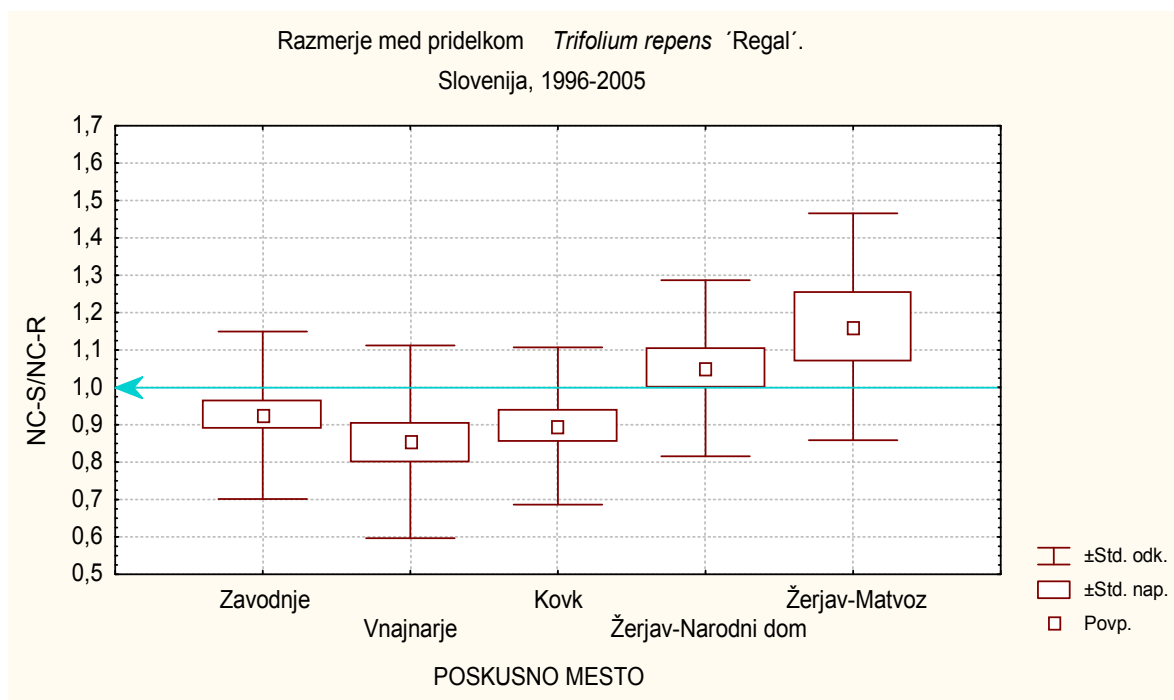
Figure 28: Yield ratios of the NC-S to the NC-R clone of the 'Regal' white clover at sites Zavodnje, Vnajnarje, Žerjav – Narodni dom and Matvoz in particular years when the experiment was conducted (1996–2005).



Slika 29: Razmerje v pridelku med klonoma NC-S in NC-R plazeče detelje 'Regal' upoštevaje vsa poskusna mesta in leta skupaj po posameznih vzorčenjih (1.-5. vzorčenje).

Figure 29: Yield ratios of the NC-S to the NC-R clone of the 'Regal' white clover regarding all experiment sites and years together per particular samplings (from the 1st to the 5th sampling).

Med lokacijami in leti so značilne razlike v razmerju med pridelkom obeh klonov ($F=2,39$, $p<0,01$) (slika 30). Žerjav-Matvoz se po izgubah pridelka razlikuje od Zavodnjeh, Vnajnarjih in Kovka, medtem ko se Žerjav-Narodni dom razlikuje le od Vnajnarjih in Kovka. Med lokacijama v Žerjavu ni značilnih razlik v razmerju. Na obeh lokacijah je razmerje nad 1. V Žerjavu ozon in drugi fotooksidanti ne vplivajo na pridelek kmetijskih rastlin. Največji vpliv ozona na zmanjšan pridelek pri občutljivem klonu (NC-S) plazeče detelje 'Regal' smo v povprečju izračunali za Vnajnarje (14,6 %), nato za Kovk (10,3 %) in nazadnje Zavodnje (8,5 %). Če upoštevamo pri nadaljnji statistiki rezultate vseh žetev in let na vseh petih lokacijah v Sloveniji, lahko ugotovimo zmanjševanje vplivov ozona na pridelek kmetijskih rastlin od leta 1996 naprej. Kot vidimo iz slike 28 so k temu rezultatu prispevali največ poskusni mesti v Žerjavu, nekaj pa tudi Zavodnje in Vnajnarje. Ob upoštevanju vseh petih poskusnih mest v Sloveniji je bil povprečen delež zmanjšanja pridelka na leto 5,2 %. V okviru programa ICP Vegetation so za Avstrijo v letih 1994, 1995 in 1996 beležili 7% zmanjšanje pridelka, v Belgiji (2003, 2004) 6%, v Italiji (2004) 11%, Nizozemski (1996, 2000) 2%, Španiji (2000) 11%, Švedski (1996, 1997, 1999) 15% in Švici (1995, 1996) 0% (zbrano v Hayes s sod., 2007).



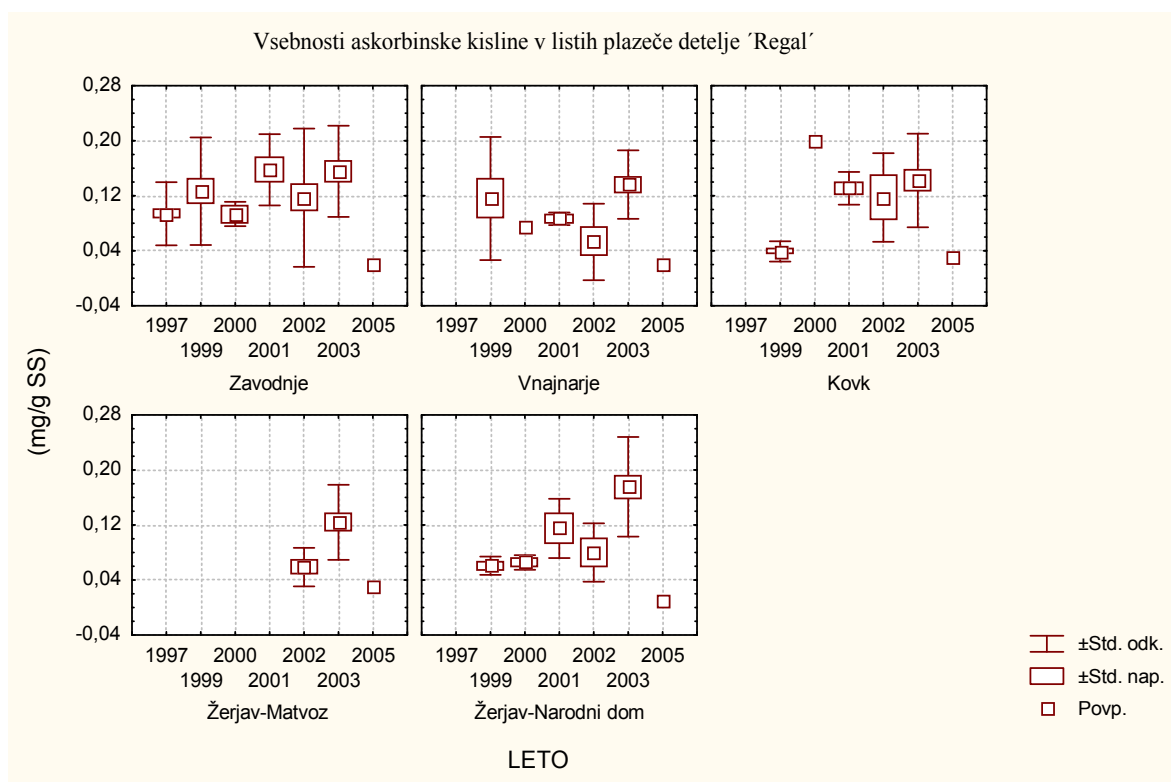
Slika 30: Povprečne vrednosti razmerja v pridelku med klonoma NC-S in NC-R plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah, Vnajnarjih, Kovku, Žerjavu-Narodni dom in v Žerjavu-Matvoz.

Figure 30: Average values of yield ratios of the NC-S to the NC-R clone of the 'Regal' white clover in Zavodnje, Vnajnarje, at Kovk and in Žerjav – at Narodni dom and Matvoz.

Linearna korelacija med leti in razmerjem v pridelku med klonoma je samo na Kovku negativna ($r=-0,12$), ni pa statistično značilna. To pomeni da se negativni vplivi ozona na pridelke kmetijskih rastlin na Kovku še vedno nadaljujejo ali celo povečujejo. Podoben rezultat dobimo, če primerjamo med sabo leta, kjer ugotovimo da se v obdobju 6-tih let v Kovku stanje ni izboljšalo ($F=1,03$, $p=0,43$). Enak rezultat dobimo tudi če primerjamo

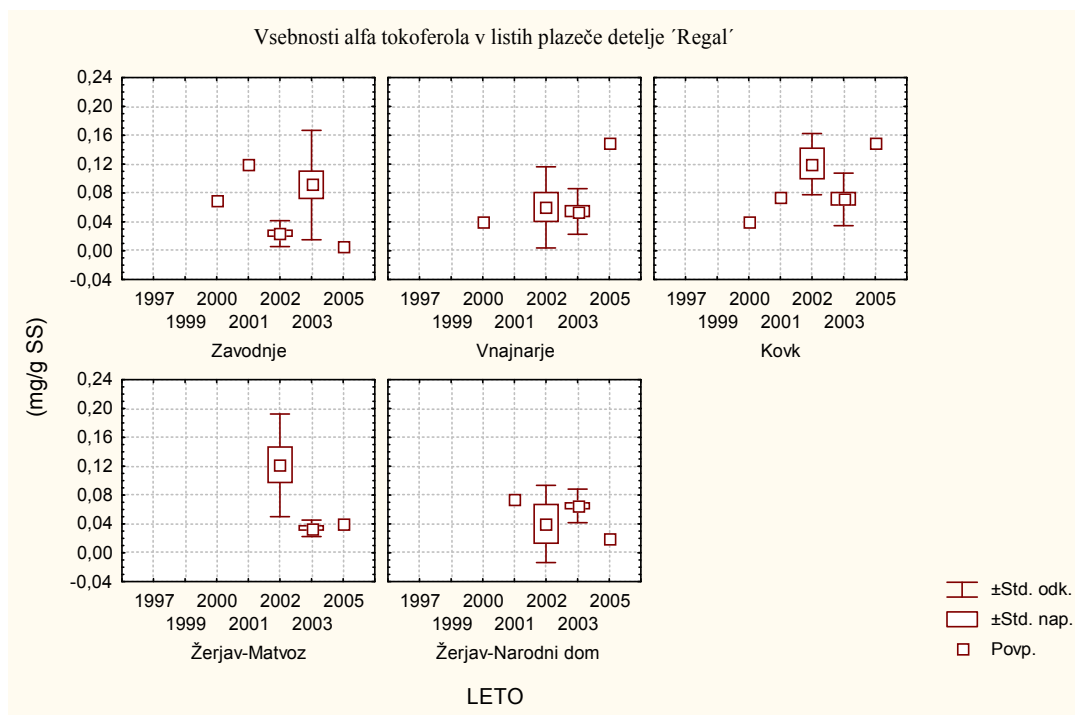
obdobje pred in po 2001, kjer ugotavljamo, da sanacija emisij SO₂ in NO_x v TEŠ ni vplivala na stanje onesnaženega zraka z ozonom na drugih poskusnih mestih, na primer Kovku (F=0,02, p=0,88), in zaključujemo, da daljinski transport onesnažil v tem primeru nima vpliva.

V slikah 31, 32, 33 so prikazani rezultati meritev biokemijskih parametrov merjenih v listih plazeče detelje 'Regal'. Za obdobje 1996 do 2003 ugotavljamo naraščanje vsebnosti antioksidantov v listih na vseh poskusnih mestih. V letu 2005 smo izmerili zelo majhne vsebnosti askorbinske kisline na vseh poskusnih mestih in menimo, da bi bilo meritve potrebno ponoviti ali pa je prišlo do razgradnje askorbinske kisline v vzorcih. Povprečno razmerje med klorofilom a in b v listih plazeče detelje je pričakovano največje v Žerjavu, najmanjše v Zavodnjah in Kovku (slika 34). Takšen rezultat v razmerju med klorofiloma v Žerjavu smo pričakovali zaradi rezultatov o vizualnih ozonskih poškodbah in razmerju med pridelkoma.



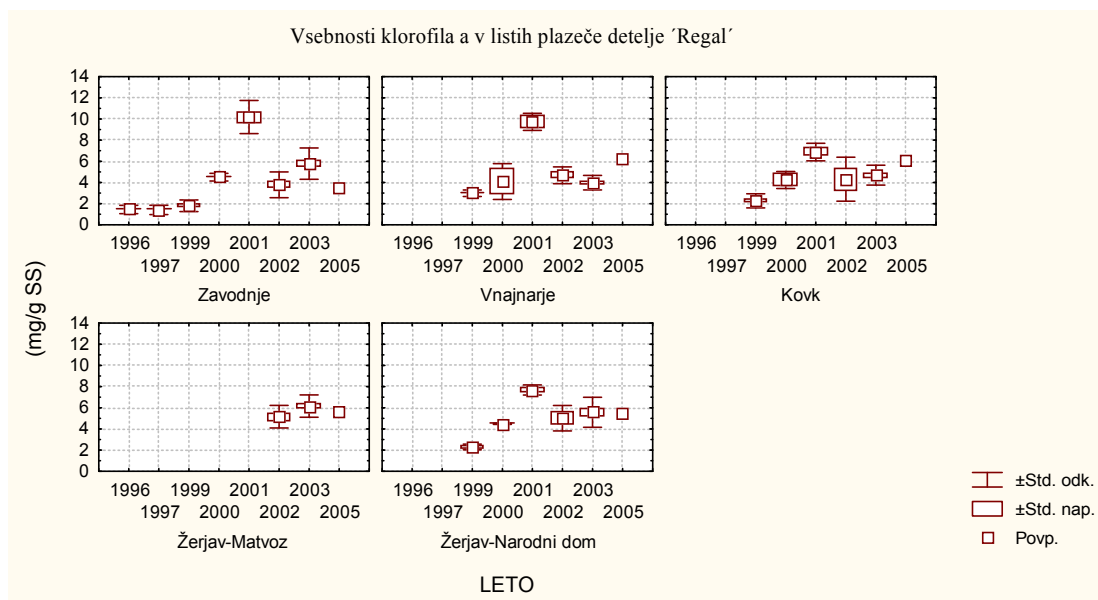
Slika 31: Vsebnosti askorbinske kisline v listih plazeče detelje 'Regal' po letih v Zavodnjah, Kovku, Žerjavu-Matvoz in Žerjavu-Narodni dom.

Figure 31: Levels of ascorbic acid in the leaves of the 'Regal' white clover per particular year in Zavodnje, Vnajarje, at Kovk and in Žerjav – at Narodni dom and Matvoz.



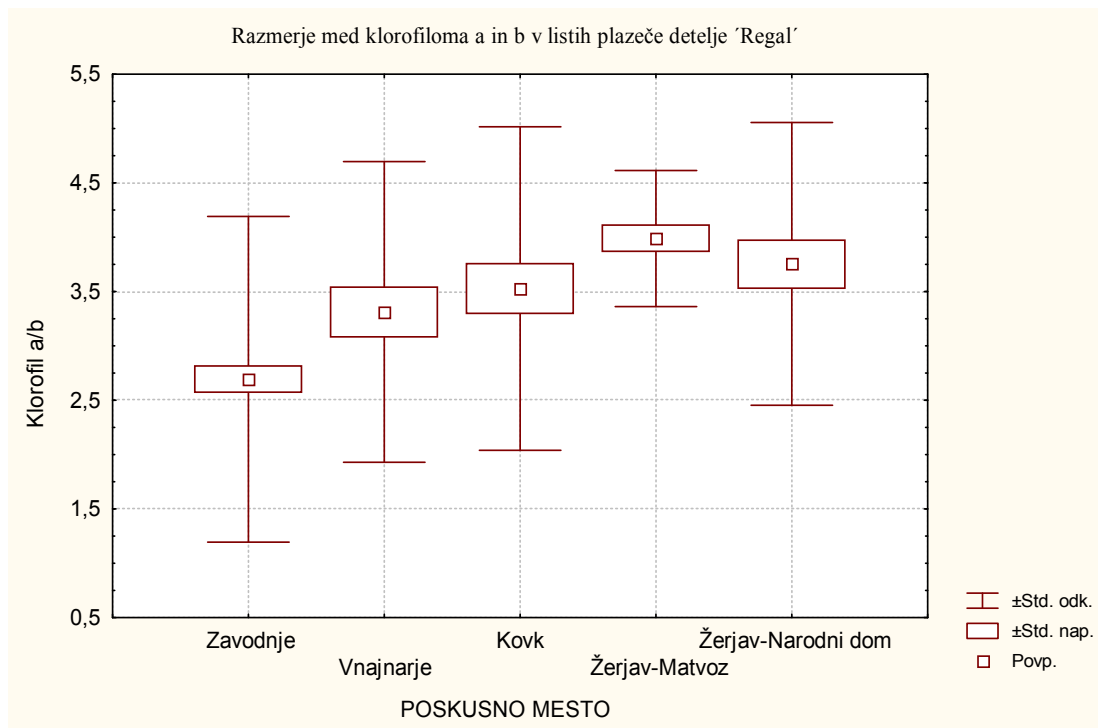
Slika 32: Vsebnosti alfa tokoferola v listih plazeče detelje 'Regal' po letih v Zavodnjah, Kovku, Žerjavu-Matvoz in Žerjavu-Narodni dom.

Figure 32: Levels of alpha-tocopherol in the leaves of the 'Regal' white clover per particular year in Zavodnje, Vnajarje, at Kovk and in Žerjav – at Narodni dom and Matvoz.



Slika 33: Vsebnosti klorofila a v listih plazeče detelje 'Regal' po letih v Zavodnjah, Kovku, Žerjavu-Matvoz in Žerjavu-Narodni dom.

Figure 33: Levels of chlorophyll a in the leaves of the 'Regal' white clover per particular year in Zavodnje, Vnajarje, at Kovk and in Žerjav – at Narodni dom and Matvoz.



Slika 34: Povprečno razmerje med klorofiloma a in b v listih plazeče detelje 'Regal' v Zavodnjah, Vnajarjeh, Kovku, Žerjavu – Matvoz in Žerjavu – Narodni dom.

Figure 34: Average ratio of chlorophyll a to chlorophyll b in the leaves of the 'Regal' white clover in Zavodnje, Vnajarje, at Kovk and in Žerjav – at Narodni dom and Matvoz.

5.1.2 Spremljanje odziva različnih vrst rastlin na zračna onesnažila od 2002 do 2005 v Šaleški dolini po EuroBionet metodi

5.1.2.1 Meteorološke značilnosti poskusnih obdobj

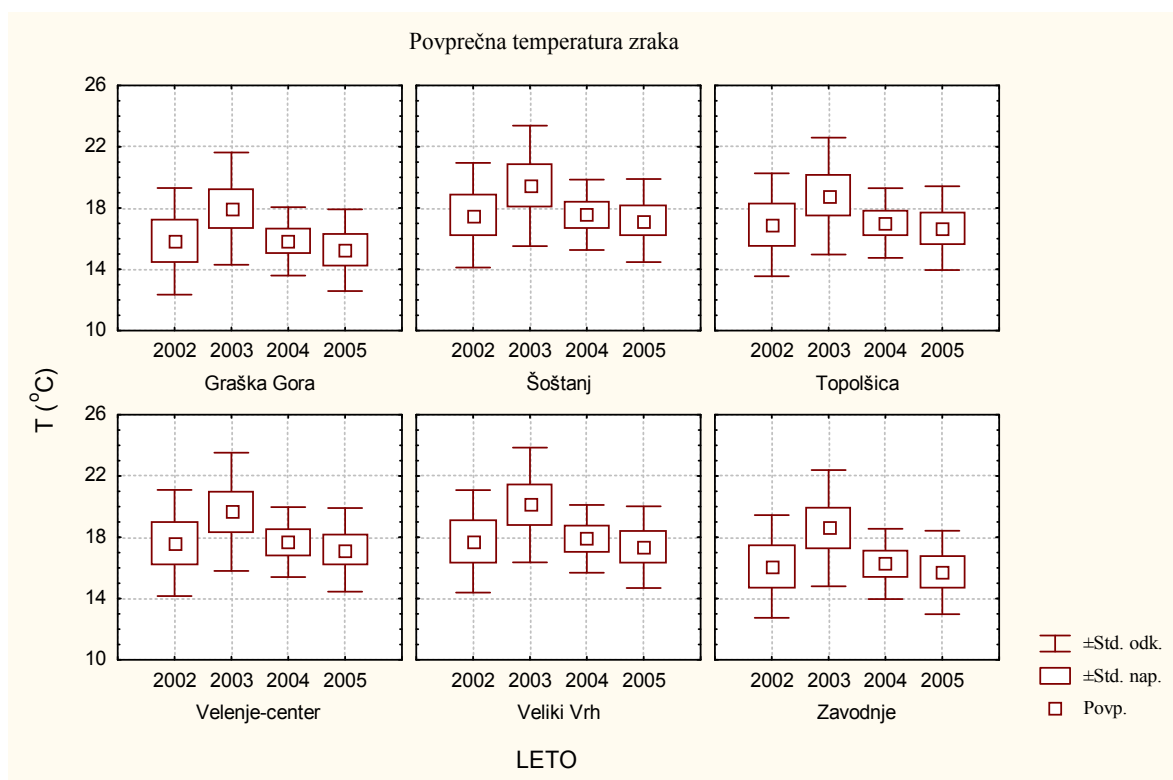
Meritve okoljskih parametrov se izvajajo na 6 poskusnih mestih od 9-tih. Poskusna mesta Velenje-jezero, Lipje in Šmartno ob Paki so mesta za katere ni na razpolago fizikalno kemijskih meritev glavnih dejavnikov okolja in imisijskih koncentracij zračnih onesnažil.

Statistična primerjava med merilnimi mesti in leti nam pove, da so med lokacijami značilne razlike v relativni zračni vlagi, koncentracijah žveplovega dioksida in ozona, le za temperaturo ne ugotavljamo razlik. Tudi med Zavodnjami in Velenjem-center ni značilnih razlik v temperaturi zraka za obdobje izvajanja poskusov. Največje povprečne temperature smo izračunali za leto 2003, leto 2005 je bilo v štiriletnem obdobju najhladnejše leto na vseh šestih merilnih mestih (slika 35). Na osnovi te ugotovitve sklepamo, da je bilo tudi na drugih štirih poskusnih mestih leto 2005 najhladnejše.

V obratnem sorazmerju s temperaturami smo izračunali za relativno zračno vlago največje vrednosti leta 2005 in najmanjše leta 2003 (slika 36). Zaradi manjših temperatur zraka in večje relativne vlage v letu 2005 glede na druga leta so bile koncentracije ozona v letu 2005 tudi manjše (slika 38). Največja razlika v povprečnih koncentracijah ozona med Velenjem – center in Zavodnjami glede na druga poskusna leta je bila izračunana v letu 2005. Koncentracije ozona po letih ne kažejo značilnega trenda, saj ugotavljamo značilno

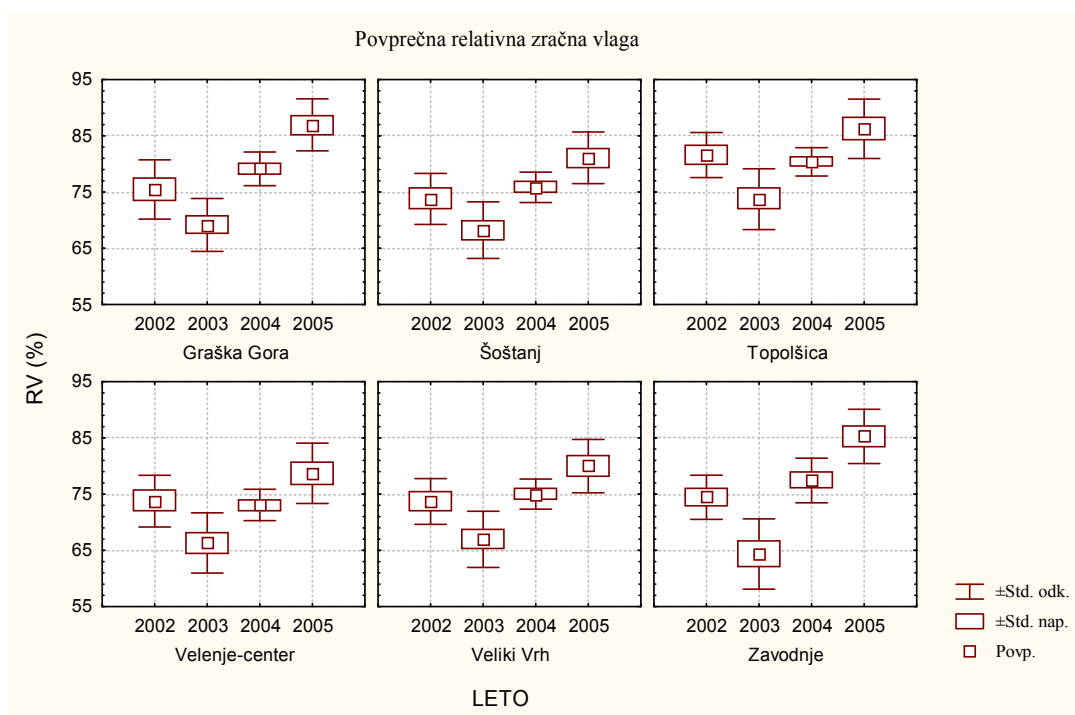
linearno povezanost koncentracij ozona s temperaturo ($r=+0,52$) in relativno zračno vlago ($r=-0,53$). Značilen linearno odvisnost pa koncentracije ozona za poskusno obdobje v Zavodnjah in Velenju kažejo glede na popise. Koncentracije ozona značilno padajo od prvega do zadnjega popisa (slika 39).

Koncentracije žveplovega dioksida so bile vsa leta večje na Velikem Vrhu in Šoštanju v primerjavi z drugimi merilnimi mesti (slika 37). Opaziti je značilno zmanjševanje koncentracij žveplovega dioksida od 2002 do 2005 za obe merilni mesti. Ti izračuni so rezultat sanacije emisij žveplovega dioksida iz TEŠ v letu 2001 z izgradnjo naprave za razžveplanje dimnih plinov na bloku 5.



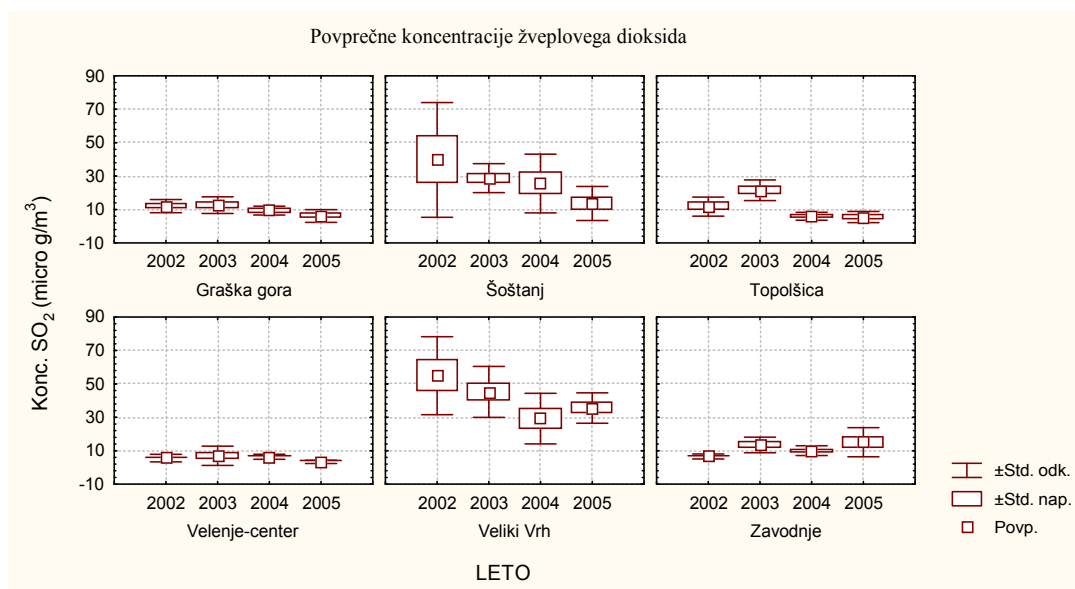
Slika 35: Povprečne temperature zraka za poskusna obdobja v letih 2002 do 2005 na merilnih mestih Graška Gora, Šoštanj, Topolšica, Velenje-center, Veliki Vrh in Zavodnje.

Figure 35: Average air temperatures in the experiment periods in the years from 2002 to 2005 at measurement sites Graška Gora, Šoštanj, Topolšica, Velenje – Centre, Veliki Vrh and Zavodnje.



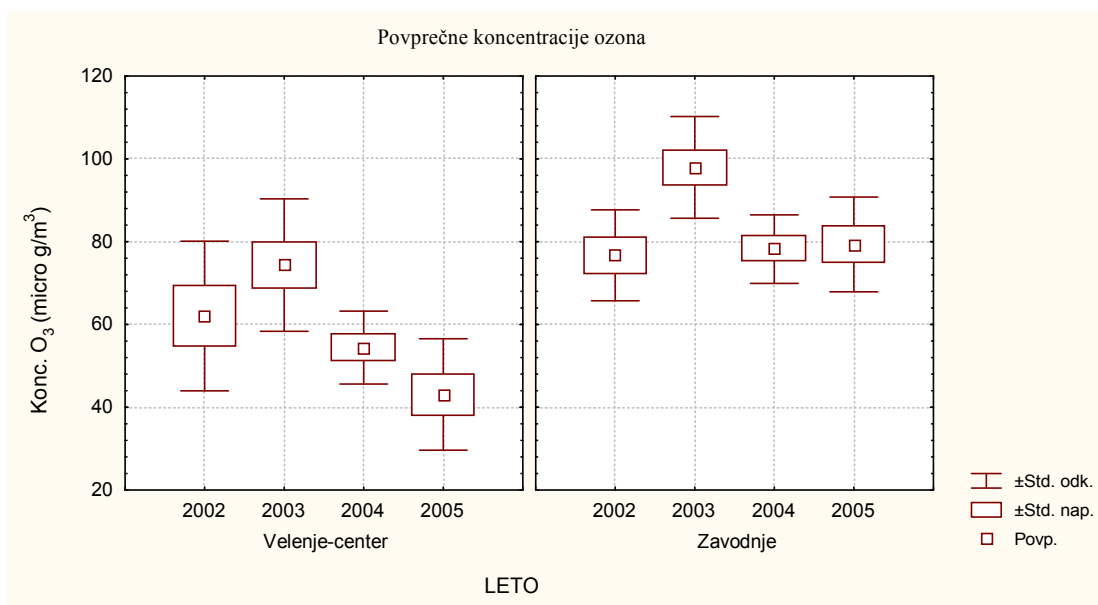
Slika 36: Povprečna relativna zračna vlaga za poskusna obdobja v letih 2002 do 2005 na merilnih mestih Graška Gora, Šoštanj, Topolšica, Velenje-center, Veliki Vrh in Zavodnje.

Figure 36: Average relative air humidity in the experiment periods in the years from 2002 to 2005 at measurement sites Graška Gora, Šoštanj, Topolšica, Velenje – Centre, Veliki Vrh and Zavodnje.



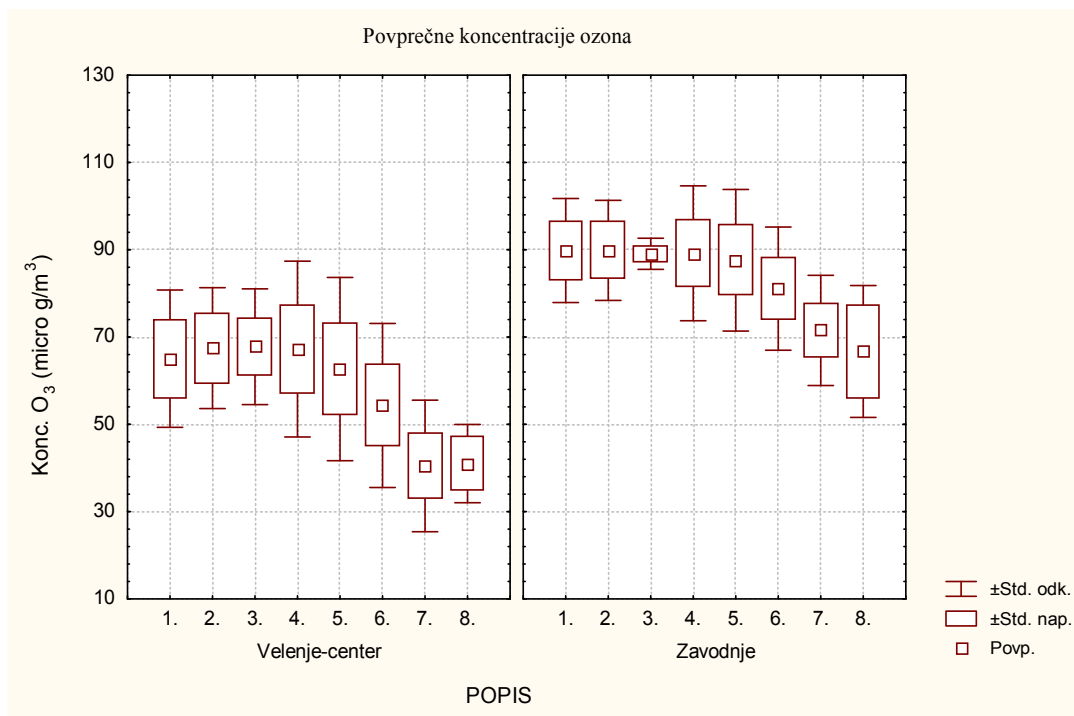
Slika 37: Povprečna koncentracija žveplovega dioksida za poskusna obdobja v letih 2002 do 2005 na merilnih mestih Graška Gora, Šoštanj, Topolšica, Velenje-center, Veliki Vrh in Zavodnje.

Figure 37: Average sulphur dioxide concentration in the experiment periods in the years from 2002 to 2005 at measurement sites Graška Gora, Šoštanj, Topolšica, Velenje – Centre, Veliki Vrh and Zavodnje.



Slika 38: Povprečne koncentracije ozona za poskusna obdobja v letih 2002 do 2005 na merilnih mestih Velenje-center in Zavodnje.

Figure 38: Average ozone concentrations in the experiment periods in the years from 2002 to 2005 at measurement sites Velenje – Centre and Zavodnje.



Slika 39: Povprečne koncentracije ozona za vsa poskusna obdobja od 1. do 8. popisa na merilnih mestih Velenje-center in Zavodnje.

Figure 39: Average ozone concentrations in all experiment periods from the 1st to the 8th recording at measurement sites Velenje – Centre and Zavodnje.

5.1.2.2 Kazalniki odziva rastlin na zračna onesnažila pred in po rekonstrukciji kotla B5 v TEŠ

Kazalniki oksidativnega stresa, ki ga povzročijo zračna onesnažila, med katerimi je najmočnejši oksidant ozon, so pri bioindikatorskih rastlinah vizualnega tipa (tipične ozonske pike ali večje pege na povrhnjici listov) ali poškodbe, ki so očem skrite (biokemijski kazalniki, ki ponazarjajo fiziološke motnje na celični ravni). Vizualne poškodbe so v bistvu kronične poškodbe, ki so nepovratne in za rastlino pomenijo izgubo fotosintezno aktivne površine in posledično se zmanjša pridelek. Biokemijski kazalniki kažejo na stresno stanje rastlin z akutnimi poškodbami, ki pa so še lahko povratne. Rastlina na oksidativni stres najprej reagira na celični ravni s fiziološkimi motnjami.

Ker je bila v letu 2003 izpeljana rekonstrukcija kotla B5 (RKB5) in s tem zmanjšanje emisij NO_x na polovico, smo nadaljnjo statistično obdelavo meritev in rezultatov analiz terenskih popisov usmerili v primerjavo dveh obdobji, to je obdobja pred (leto 2002) in obdobja po RKB5 (2004-2005).

5.1.2.2.1 Vizualna ocena ozonskih poškodb na listih

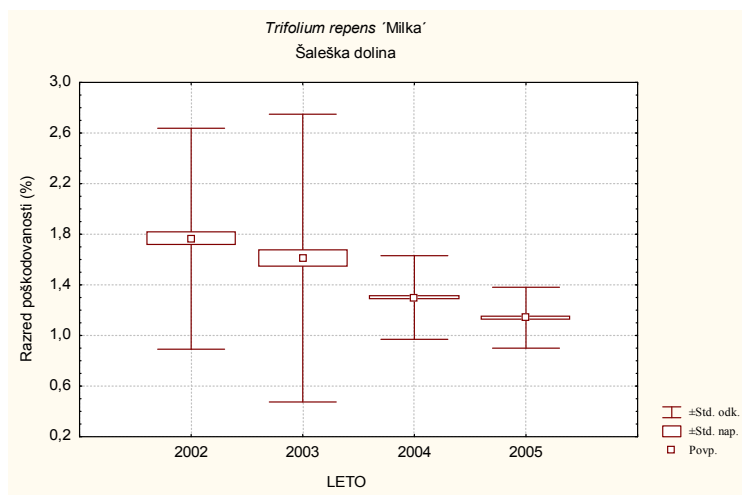
Višina stojala je prilagojena višini predšolskih otrok, ki so ena izmed najbolj rizičnih skupin glede negativnih vplivov onesnaženega zraka. Na stojalu imajo rastline zagotovljeno zadostno količino vode skozi vso izpostavitve, to je od junija do avgusta, senčilo pa preprečuje poškodbe pred ožigi zaradi sonca oziroma UV sevanja.

Tobak na stojalu je bil izpostavljen 14 dni, nato smo ga zamenjali z novimi rastlinami. Plazeča detelja 'Milka' in nizek fižol rumenostročni 'Berggold' sta bili izpostavljeni daljše obdobje. Nizek fižol smo izpostavili, ko je imel razviti vsaj prvi pravi list, medtem ko je ob izpostavitvi tobak imel razvite tri in plazeča detelja 5 pravih listov. Fižol smo izpostavili do faze polne zrelosti – to pomeni, da je bila vsaj polovica strokov suha in je bila faza cvetenja zaključena. Pri plazeči detelji smo polovico izpostavljenih rastlin na 14 dni porezali. Na vsakih 14 dni smo ozonske poškodbe popisovali na 14 in 28 dni starih listih.

Plazeča detelja 'Milka'

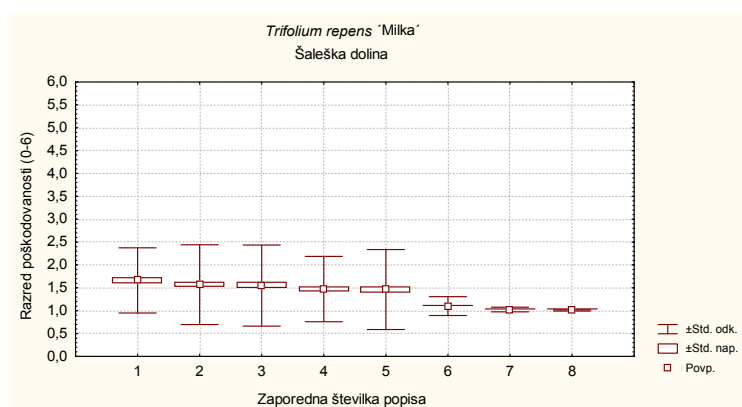
Povprečno za vsa poskusna mesta ugotavljamo, da se povprečen razred poškodovanosti listov plazeče detelje 'Milka' od leta 2002 do 2005 zmanjšuje od 1,8 do 1,3 (slika 40). Iz slike 41 pa lahko vidimo, da se razred poškodovanosti zmanjšuje od prvega do osmega popisa. Največje razrede poškodovanosti smo ocenili za Velenje-center in Šoštanj, nato sledi Graška Gora, Zavodnje in Veliki Vrh (slika 42). V Velenju-center smo izračunali povprečno 16,3 %, Graški gori 14,6 % in Velikem Vrh 13,6 % listov z ozonskimi poškodbami na rastlino. Najmanjši delež poškodovanih listov (7,3 %) smo izračunali za Topolšico. Če primerjamo ruralni in urbani del Šaleške doline v razredu poškodovanosti plazeče detelje 'Milka' ugotovimo, da smo v urbanem delu (Šoštanj, Velenje-center in Velenje-jezero) Šaleške doline določili več listov z ozonskimi poškodbami na rastlino ($F=4,58$, $p<0,05$). Ker je na vsakem poskusnem mestu na stojalu izpostavljenih po šest rastlin iste vrste smo primerjali tudi ali mesto lončka na stojalu vpliva na nastanek ozonskih poškodb na listih plazeče detelje. Ugotovili smo, da mesto rastline na stojalu nima vpliva na nastanek ozonskih poškodb ($F=1,07$, $p=0,38$). Liste plazeče detelje smo popisovali vsakih 14 dni. Na 28. dan smo vse liste porezali za biokemijske meritve in biomaso, pred tem pa smo tudi opravili popis. Zato lahko primerjamo ali starost listov

vpliva na nastanek ozonskih poškodb. Ugotavljamo, da se s starostjo oziroma dalj časa trajajočo izpostavljenostjo listov poveča tudi razred poškodovanosti, razlika je statistično značilna. Število listov se poveča od 14 do 28 dnevne izpostavljenosti za 1,7-krat, medtem ko se število poškodovanih listov v povprečju poveča za 2,3-krat. Razrede poškodovanosti plazeče detelje 'Milka' smo primerjali tudi med obdobjema pred in po rekonstrukciji kotla B5 (slika 43). V obdobju po zmanjšanju emisij NO_x je značilno manj ozonskih poškodb na listih v ruralnih in urbanih delih Šaleške doline. Trende upadanja ozonskih poškodb od leta 2002 do 2005 smo določili za vsa poskusna mesta.



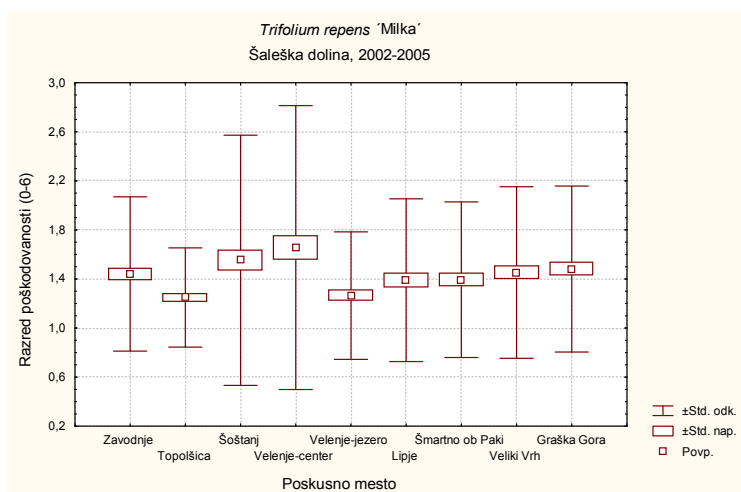
Slika 40: Primerjava povprečnih razredov poškodovanosti plazeče detelje 'Milka' med leti (Razredi poškodovanosti: 0: ni poškodb, 1: prvi simptomi, 2: 1–5 % listov s poškodbami, 3: 5–25 %, 4: 25–50 %, 5: 50–90 %, 6: nad 90 % poškodovanih listov).

Figure 40: Comparison of average classes of injury observed in the 'Milka' white clover per particular years (classes of injury: 0: no injury, 1: first symptoms, 2: 1–5% of leaves injured, 3: 5–25% of leaves injured, 4: 25–50% of leaves injured, 5: 50–90% of leaves injured, 6: over 90 % of leaves injured).



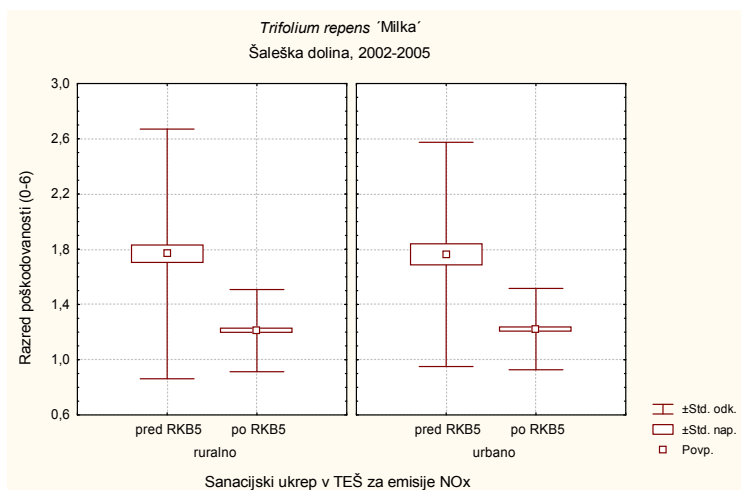
Slika 41: Primerjava povprečnih razredov poškodovanosti plazeče detelje 'Milka' med popisi (Razredi poškodovanosti: 0: ni poškodb, 1: prvi simptomi, 2: 1-5 % listov s poškodbami, 3: 5-25 %, 4: 25-50 %, 5: 50-90 %, 6: nad 90 % poškodovanih listov).

Figure 41: Comparison of average classes of injury observed in the 'Milka' white clover per particular recordings (classes of injury: 0: no injury, 1: first symptoms, 2: 1–5% of leaves injured, 3: 5–25% of leaves injured, 4: 25–50% of leaves injured, 5: 50–90% of leaves injured, 6: over 90 % of leaves injured).



Slika 42: Primerjava povprečnih razredov poškodovanosti plazeče detelje 'Milka' med poskusnimi mesti (Razredi poškodovanosti: 0: ni poškodb, 1: prvi simptomi, 2: 1-5 % listov s poškodbami, 3: 5-25 %, 4: 25-50 %, 5: 50-90 %, 6: nad 90 % poškodovanih listov).

Figure 42: Comparison of average classes of injury observed in the 'Milka' white clover per particular experiment sites (classes of injury: 0: no injury, 1: first symptoms, 2: 1-5% of leaves injured, 3: 5-25% of leaves injured, 4: 25-50% of leaves injured, 5: 50-90% of leaves injured, 6: over 90% of leaves injured).



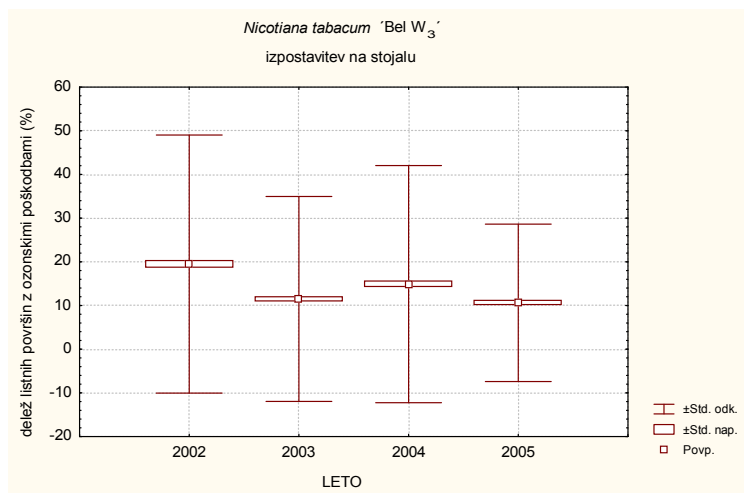
Slika 43: Primerjava povprečnih razredov poškodovanosti plazeče detelje 'Milka' med ruralnim in urbanim delom Šaleške doline in med obdobjema pred in po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5) (Razredi poškodovanosti: 0: ni poškodb, 1: prvi simptomi, 2: 1-5 % listov s poškodbami, 3: 5-25 %, 4: 25-50 %, 5: 50-90 %, 6: nad 90 % poškodovanih listov).

Figure 43: Comparison of average classes of injury observed in the 'Milka' white clover in the rural and urban parts of the Šalek Valley in the periods before and after the reconstruction of the B5 steam generator (classes of injury: 0: no injury, 1: first symptoms, 2: 1-5% of leaves injured, 3: 5-25% of leaves injured, 4: 25-50% of leaves injured, 5: 50-90% of leaves injured, 6: over 90% of leaves injured).

Tobak 'Bel W₃'

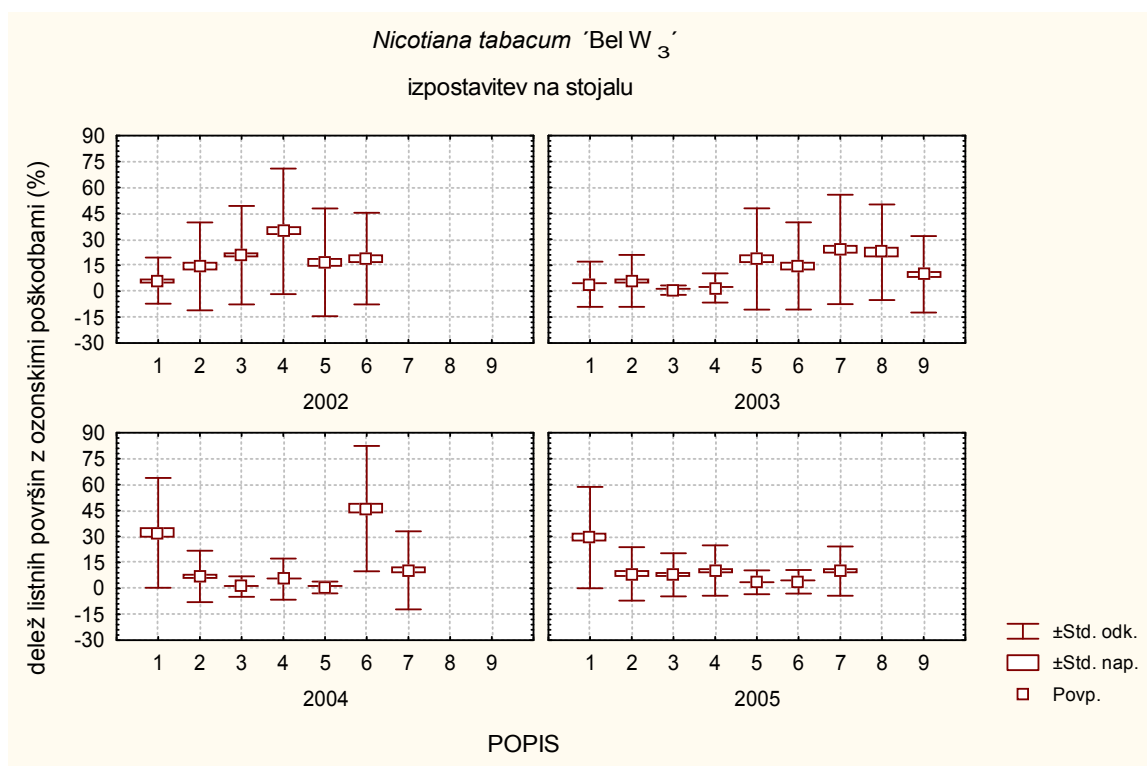
Pri tobaku na stojalu popisujemo ozonske poškodbe od 3. lista naprej. Ozonske poškodbe se ocenjujejo na listih, ki se razvijejo v obdobju 14-tih dni, to je od izpostavitve do popisa. V Šaleški dolini beležimo na osnovi štirih let na 9-tih poskusnih mestih v povprečju 15 % poškodovane listne površine zaradi ozona in drugih zračnih onesnažil, ki nastane na listih tobaka v obdobju 14 dni. Tudi pri tobaku smo enako kot pri plazeči detelji beležili padanje

deleža poškodovane listne površine s tipičnimi ozonskimi nekrozami od leta 2002 do 2005 (slika 44). Najmanjši delež poškodovane površine (11 %) smo izračunali za vsa poskusna mesta v Šaleški dolini v letu 2005. Največje površine listov z ozonskimi poškodbami smo ocenili v povprečju avgusta in septembra, julija najmanj, razen v letu 2005 (slika 45). Tobak, ki je na stojalu na notranji strani (mesti 3 in 4) ima značilno več ozonskih poškodb kot rastline na robnih mestih stojala. S starostjo lista se daljša tudi čas izpostavitve, zato je razumljivo, da so večji, bolj razviti in starejši listi bolj poškodovani kot mlajši, nerazviti. Značilen je trend upadanja deleža poškodovane listne površine tobaka zaradi ozona od 4. lista do 14. Poskusna mesta v ruralnih delih Šaleške doline so imela značilno večje površine listov z ozonskimi poškodbami kot urbana mesta. Primerjava obdobj pred in po sanaciji emisij NO_x iz TEŠ nam je pokazala, da se je v urbanem delu delež poškodb bolj zmanjšal kot v ruralnem delu Šaleške doline (slika 47). Delež ozonskih poškodb pri tobaku 'Bel W₃' je po RKB5 značilno manjši. Največje deleže ozonskih poškodb na listih tobaka smo izračunali za Veliki Vrh in nato sledi Zavodnje. Tudi tokrat smo najmanj ozonskih poškodb zabeležili v Topolšici (slika 46).



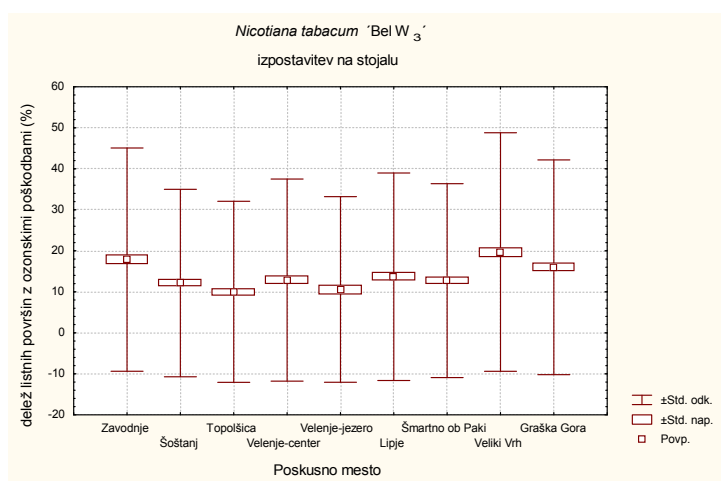
Slika 44: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na tobaku 'Bel W₃', izpostavljenem na stojalu, med leti (Razredi poškodovanosti: 0: ni poškodb, 1: prvi simptomi, 2: 1-5 % listov s poškodbami, 3: 5-25 %, 4: 25-50 %, 5: 50-90 %, 6: nad 90 % poškodovanih listov).

Figure 44: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Bel W₃' tobacco exposed on stands per particular years (classes of injury: 0: no injury, 1: first symptoms, 2: 1-5% of leaves injured: 3: 5-25% of leaves injured, 4: 25-50% of leaves injured, 5: 50-90% of leaves injured, 6: over 90 % of leaves injured).



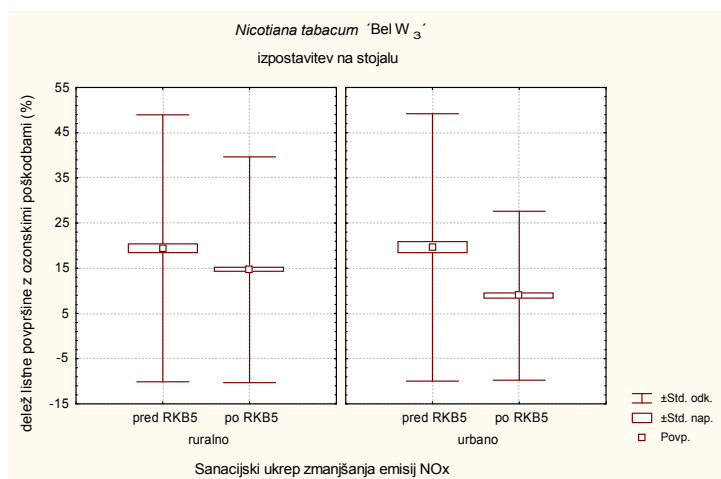
Slika 45: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na tobaku 'Bel W₃', izpostavljenem na stojalu, med popisi.

Figure 45: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Bel W₃' tobacco exposed on stands per particular recordings.



Slika 46: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na tobaku 'Bel W₃', izpostavljenem na stojalu, med poskusnimi mesti.

Figure 46: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Bel W₃' tobacco exposed on stands per experiment sites.

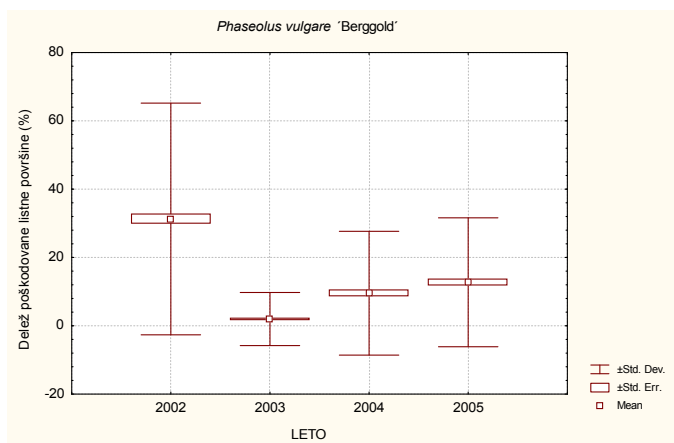


Slika 47: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na tobaku 'Bel W₃', izpostavljenem na stojalu, med ruralnim in urbanim delom Šaleške doline in med obdobjema pred in po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).

Figure 47: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Bel W₃' tobacco exposed on stands in the rural and urban parts of the Šalek Valley in the periods before and after the reconstruction of the B5 steam generator.

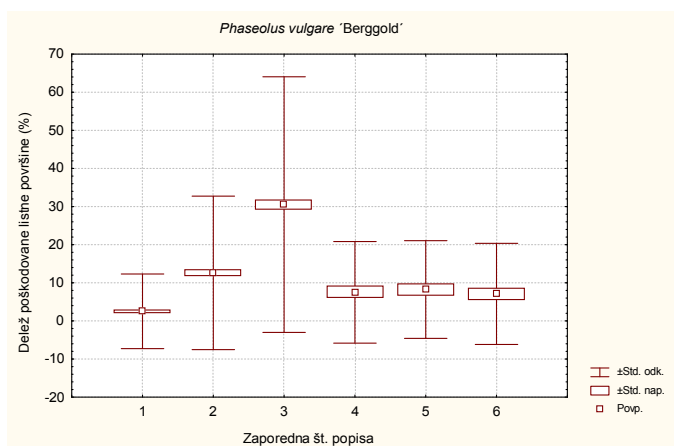
Nizek rumenostročni fižol 'Berggold'

Pri nizkem fižolu rumenostročni 'Berggold' je bil leta 2002 največji delež površine listov poškodovane od ozona. Med leti ugotavljamo značilne razlike. Najmanjši delež ozonskih poškodb smo izračunali za leto 2003 (slika 48). Delež ozonskih poškodb na listih je bil v povprečju največji ob tretjem popisu (slika 49). Rastline fižola so izpostavljene od začetka do končne zrelosti strokov in popise smo izvajali na 14 dni. K deležu poškodovanih listov od ozona so zato največ prispevali starejši listi, kot na primer prvi pravi list. Med poskusnimi mesti ugotavljamo največji delež ozonskih poškodb na fižolovih listih na Graški Gori, nato v Velenju-jezero, na Velikem vrhu in zanimivo tudi v Topolšici (slika 50). Nekoliko več ozonskih poškodb na fižolu smo zasledili v urbanem okolju v primerjavi z ruralnim. Predvidevamo, da so relativna zračna vlaga in ugodnejše temperature vplivale na kopičenje poškodb na listih fižola v Topolšici. Listi so zaradi ugodnih mikroklimatskih razmer dlje zeleni in ostajajo pripeti na stebelu. Namreč lahko se zgodi, da prvi listi ob zaključku poskusa odpadejo, kar vpliva na končni izračun deleža poškodovanosti listne površine. Po RKB5 ugotavljamo, da se je delež poškodovane listne površine pri fižolu statistično značilno zmanjšal (slika 51).



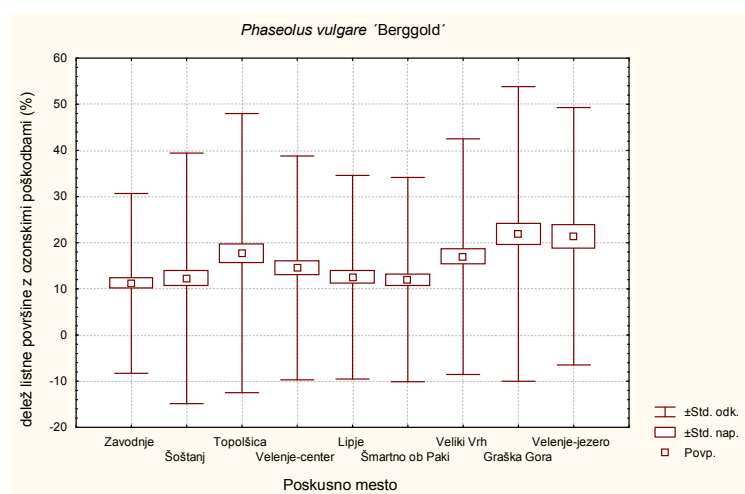
Slika 48: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na nizkem rumenostročnem fižolu 'Berggold' med leti.

Figure 48: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Berggold' yellow-pod dwarf beans per years.



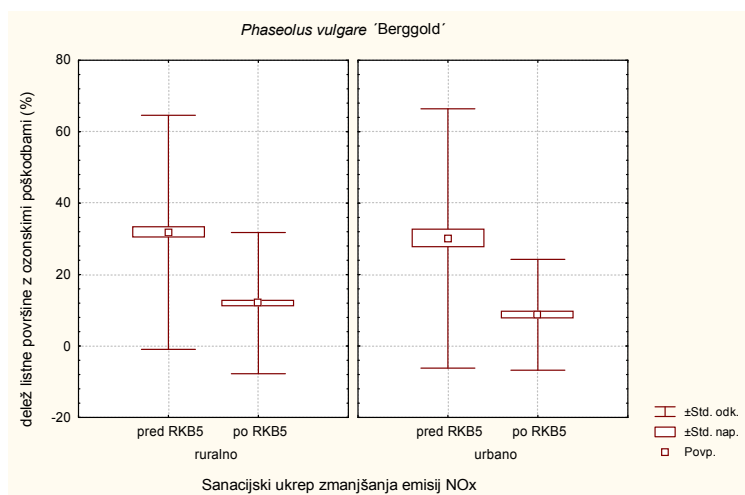
Slika 49: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na nizkem rumenostročnem fižolu 'Berggold' med popisi.

Figure 49: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Berggold' yellow-pod dwarf beans per particular recordings.



Slika 50: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na nizkem rumenostročnem fižolu 'Berggold' med poskusnimi mesti.

Figure 50: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Berggold' yellow-pod dwarf beans per experiment sites.



Slika 51: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, na nizkem rumenostročnem fižolu 'Berggold' med ruralnim in urbanim delom Šaleške doline in med obdobjema pred in po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).

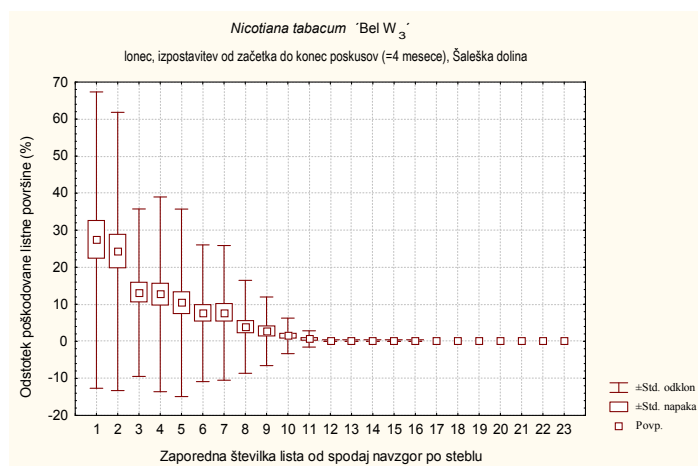
Figure 51: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Berggold' yellow-pod dwarf beans in the rural and urban parts of the Šalek Valley in the periods before and after the reconstruction of the B5 steam generator.

Tobak 'Bel W₃' v loncu

Tobak v loncu je izpostavljen vsem vremenskim dejavnikom in to skozi vso poskusno obdobje, ni dvignjen nad tlemi, ni zaščiten s senčilom, količina vode v rezervoarju je manjša kot na stojalu, zato pa je volumen posode v kateri raste 10-krat večji od volumna posode na stojalih. Rezultati na tobaku v loncih so primerljivi z rezultati poskusov, ki jih je izpeljala skupina Batič in sod. (1994) pred 10-timi leti. S poskusom tobaka, ki raste vso

vegetacijsko dobo na istem mestu in je izpostavljen od prve izpostavitve do zaključka poskusa (to je od junija do oktobra), želimo ugotoviti kakšen je akumulacijski učinek zračnih onesnažil na kmetijske rastline, ki imajo daljše obdobje rasti.

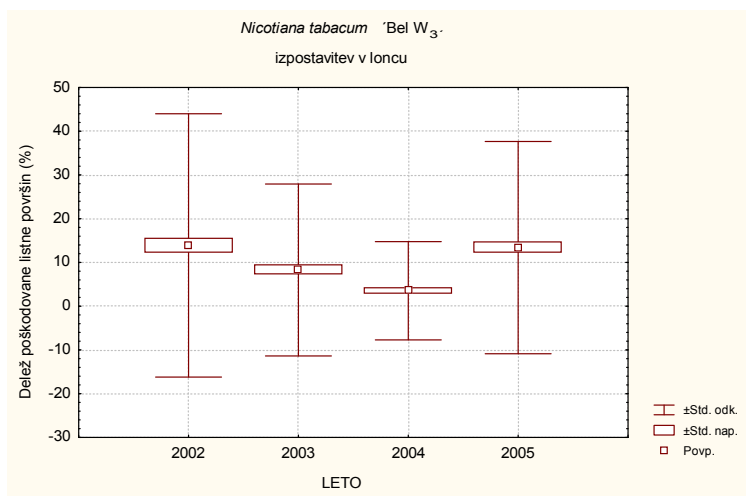
Ozonske poškodbe se na tobaku v loncu kopičijo, zato ugotavljamo (drugače kot pri tobaku na stojalu), da se le te kažejo tako, da so starejši listi najbolj poškodovani, mlajši ko so listi manjši je delež poškodb (slika 52). Najbolj poškodovani starejši listi so v povprečju imeli 30 % poškodb, nato se odstotek poškodb zmanjšuje, in je od 10. lista naprej enak 0 %.



Slika 52: Odstotek poškodovane listne površine na posameznem listu tobaka 'Bel W₃' v Šaleški dolini pri izpostavitvi v loncu.

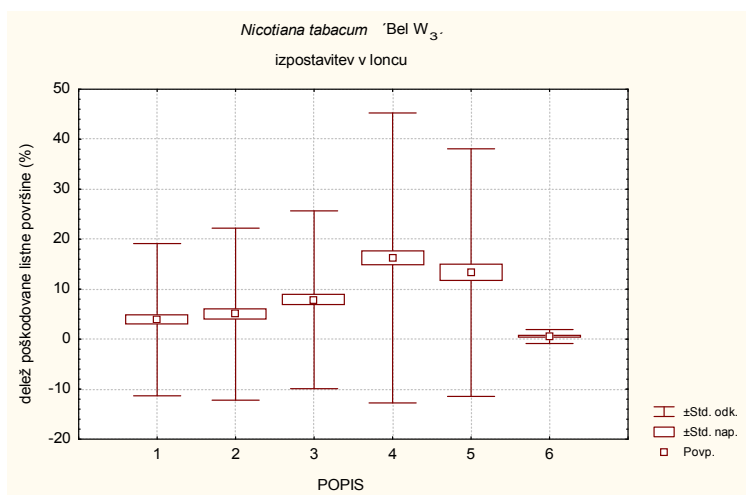
Figure 52: Percentage of damaged leaf surface per leaf of the 'Bel W₃' tobacco in the Šalek Valley observed in plants exposed in pots.

Primerjava deležev poškodovanosti listne površine na listih tobaka v loncih nam pokaže, da smo največje deleže popisali leta 2002 in 2005 (slika 53). Na osnovi popisov še ugotavljamo, da so ozonske poškodbe na listih tobaka v loncih v povprečju največje v Šoštanju, sledijo Zavodnje, Lipje in Veliki Vrh (slika 55). Najmanjše poškodbe od ozona smo določili v Topolšici (4,1 %). Četrty in peti popis (oktober in september) se po velikosti tipičnih ozonskih poškodb razlikujejo od ostalih popisov (slika 54). Ugotavljamo učinek kopičenja ozonskih poškodb skozi rastno obdobje tobaka v loncu. Ozonske poškodbe se na tobaku v loncu kopičijo, zato ugotavljamo drugače kot pri tobaku na stojalu, da le te od prvega do zadnjega popisa v povprečju naraščajo (slika 54). Najbolj poškodovani so najstarejši listi – 1. list (30 %), nato se odstotek poškodb zmanjšuje (od 10. lista naprej je 0 %). Po RKB5 se je stanje z vidika deleža poškodovanih listov na rastlino zelo izboljšalo v urbanem delu, manj v ruralnem delu Šaleške doline (slika 56).



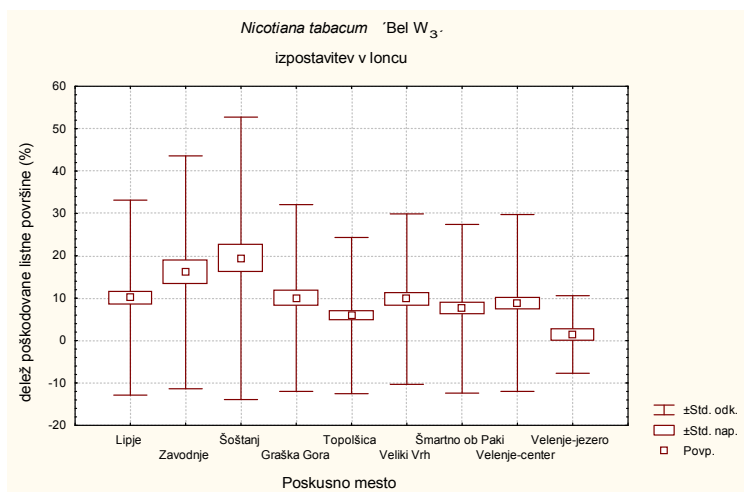
Slika 53: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, pri tobaku 'Bel W₃', izpostavljenem v loncu, med leti.

Figure 53: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Bel W₃' tobacco exposed in pots per years.



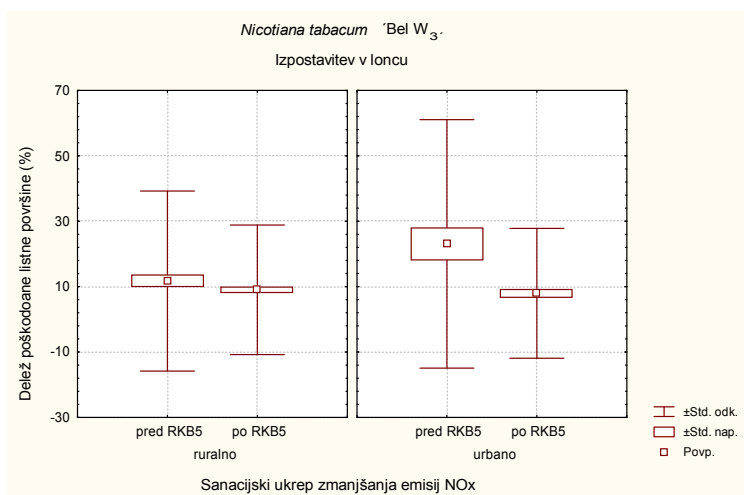
Slika 54: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, pri tobaku 'Bel W₃', izpostavljenem v loncu, med popisi.

Figure 54: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Bel W₃' tobacco exposed in pots per particular recordings.



Slika 55: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, pri tobaku 'Bel W₃', izpostavljenem v loncu, med poskusnimi mesti.

Figure 55: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Bel W₃' tobacco exposed in pots per experiment sites.



Slika 56: Primerjava deležev listne površine, poškodovane od ozona, pri tobaku 'Bel W₃', izpostavljenem v loncu, med ruralnim in urbanim delom Šaleške doline in med obdobjema pred in po rekonstrukciji kotla B5 (RKB5).

Figure 56: Comparison of percentage of ozone-damaged leaf surface observed in the 'Bel W₃' tobacco exposed in pots in the rural and urban parts of the Šalek Valley in the periods before and after the reconstruction of the B5 steam generator.

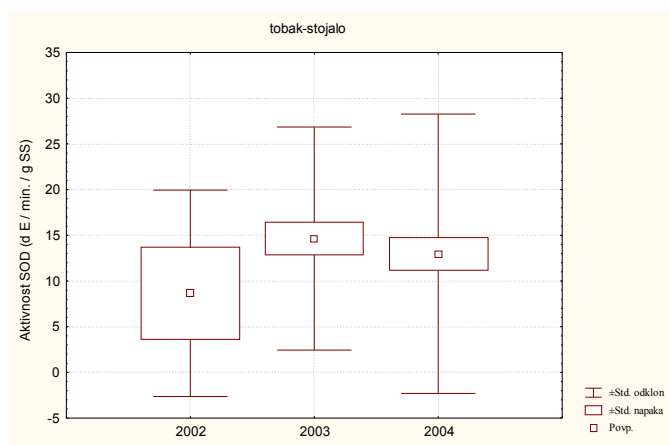
5.1.2.2.2 Biokemijski kazalci oksidativnega stresa

Obraunavani biokemijski kazalniki oksidativnega stresa so aktivnost encima superoksid dizmutaze (SOD), vsebnost askorbinske kisline, alfa tokoferola in fotosinteznih pigmentov.

Aktivnost encimov superoksid dizmutaze (SOD)

Leta 2003 je bila aktivnost SOD v povprečju večja kot v drugih dveh letih. Povečana aktivnost SOD kot lovilca prostih kisikovih radikalov se je pokazala ravno v letu 2003, ko

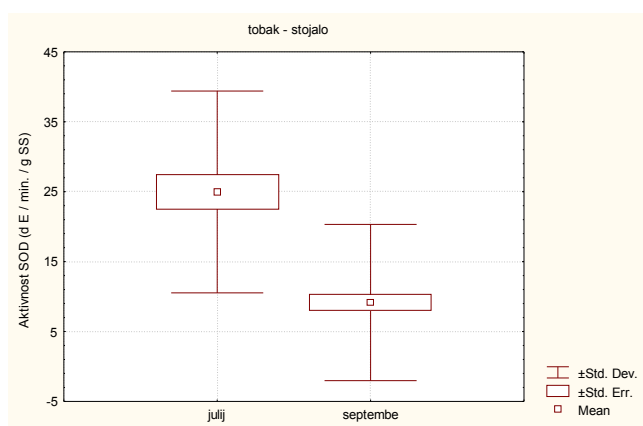
so bile koncentracije ozona največja. Statistično med leti nismo izračunali značilnih razlik v aktivnosti SOD (slika 57).



Slika 57: Primerjava aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih tobaka 'Bel W₃' na stojalu (izpostavitve \approx 14 dni) v letih 2002, 2003 in 2004.

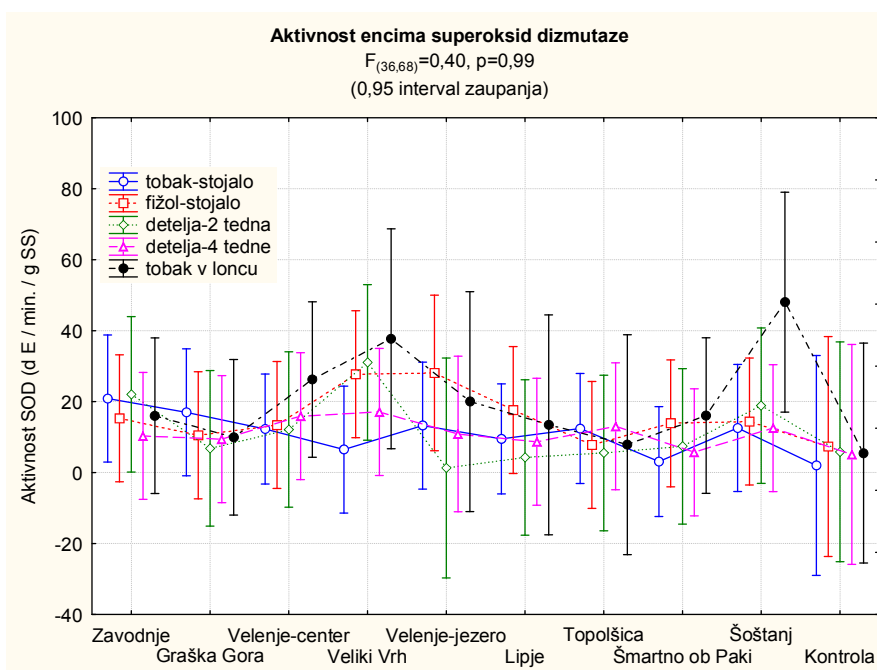
Figure 57: Comparison of the activity of the superoxide dismutase enzyme in the leaves of the 'Bel W₃' exposed on stands (exposure \approx 14 days) in 2002, 2003 and 2004.

V sliki 58 je prikazano, da je aktivnost SOD v listih tobaka v juliju večja kot septembra. Odziv rastlin je bil pričakovan glede na večje koncentracije ozona v juliju v primerjavi s septembrom. Statistična primerjava aktivnosti SOD je pokazala, da med mesti poskusov ni razlik. Aktivnost SOD v listih rastlin na stojalu je bila v povprečju največja na Velikem Vrhu, Šoštanju in v Zavodnjah, najmanjša pa je bila v kontroli, to je v rastlinjaku (slika 59). Primerjava aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih tobaka 'Bel W₃' med ruralnim in urbanim okoljem Šaleške doline in pred in po sanaciji emisij dušikovih oksidov iz TEŠ (rekonstrukcija kotla B5 = RKB5) je pokazala, da je po RKB5 aktivnost encima SOD povečana (slika 60). Menimo, da je aktivnost encima super oksid dizmutaze v listih hiperobčutljivega tobaka 'Bel W₃' na ozon lahko bolj specifičen kazalnik povečanih koncentracij ozona v zraku kot so na primer rastlinski pigmenti.



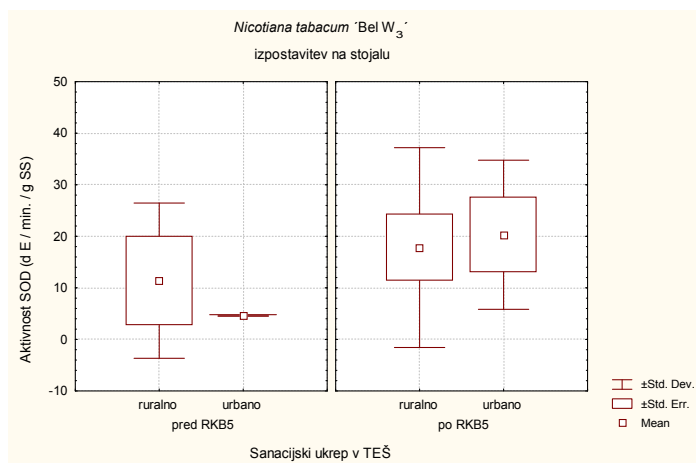
Slika 58: Primerjava aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih tobaka 'Bel W₃' na stojalu (izpostavitve \approx 14 dni) ob julijskem in septembrskem popisu.

Figure 58: Comparison of the activity of the superoxide dismutase enzyme in the leaves of the 'Bel W₃' exposed on stands (exposure \approx 14 days) at the time of the July and September recordings.



Slika 59: Primerjava povprečne aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih rastlin (tobak 'Bel W₃', plazeča detelja 'Milka', nizek rumenostročni fižol 'Berggold') med posameznimi poskusnimi mesti in kontrolo.

Figure 59: Comparison of the activity of the superoxide dismutase enzyme in the leaves of the plants ('Bel W₃' tobacco, 'Milka' white clover, 'Berggold' yellow-pod dwarf beans) per experimental sites and control site.

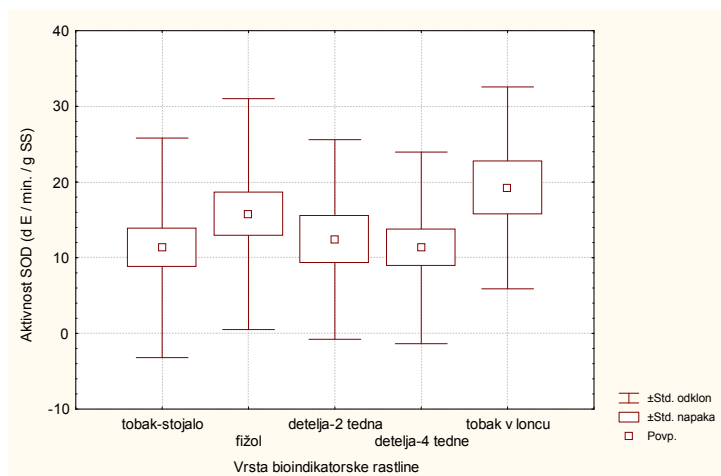


Slika 60: Primerjava aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih tobaka 'Bel W₃' med ruralnim in urbanim okoljem Šaleške doline in pred ter po sanaciji emisij dušikovih oksidov iz TEŠ (rekonstrukcija kotla B5 = RKB5).

Figure 60: Comparison of the activity of the superoxide dismutase enzyme in the leaves of the 'Bel W₃' tobacco in the rural and urban parts of the Šalek Valley and before and after the reduction of nitric oxide emissions from TEŠ (reconstruction of the B5 steam generator = RKB5).

V poskusnih letih 2003-2005 smo primerjali aktivnost SOD v listih nizkega fižola, plazeče detelje in tobaka na stojalu ter tobaka v loncu. Ugotovljamo, da med vrstami rastlin ni značilnih razlik v aktivnosti SOD. Največjo aktivnost SOD smo določili pri tobaku v loncu

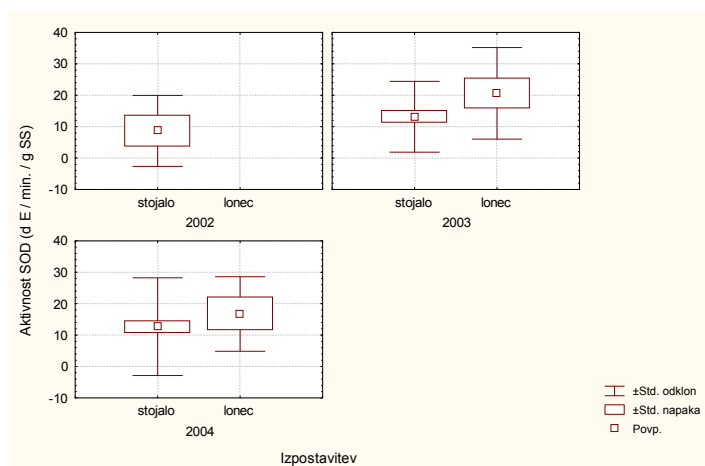
in nizkem fižolu rumenostročni 'Berggold' (slika 61). Za vrste rastlin, ki imajo v povprečju večjo aktivnost SOD ugotavljamo tudi manjši delež ozonskih poškodb.



Slika 61: Primerjava aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih rastlin, ki so rasle na stojalu (tobak 'Bel W₃', plazeča detelja 'Milka', nizek fižol rumenostročni 'Berggold') in v loncih (tobak 'Bel W₃').

Figure 61: Comparison of the activity of the superoxide dismutase enzyme in the leaves of the plants growing on stands ('Bel W₃' tobacco, 'Milka' white clover, 'Berggold' yellow-pod dwarf beans) and those growing in pots ('Bel W₃' tobacco).

Večjo povprečno aktivnost SOD ugotavljamo pri tobaku v loncu kot pri tobaku na stojalu, čeprav smo vzorčili enako stare liste (listi ki so se razvili v obdobju 2 tednov) pri obeh vrstah izpostavitve (slika 62). Predvidevamo, da je prišlo pri tobaku v loncu zaradi daljše izpostavljenosti rastline koncentracijam ozona do intenzivnejše obrambne strategije pri mlajših listih kot pri tobaku na stojalu. Rastline v loncu so v obdobju rasti in razvoja novih listov zaradi neprekinjenih oksidativnih pritiskov okolja krepile svojo obrambno sposobnost z večjo aktivnostjo encimov superoksid dizmutaz.



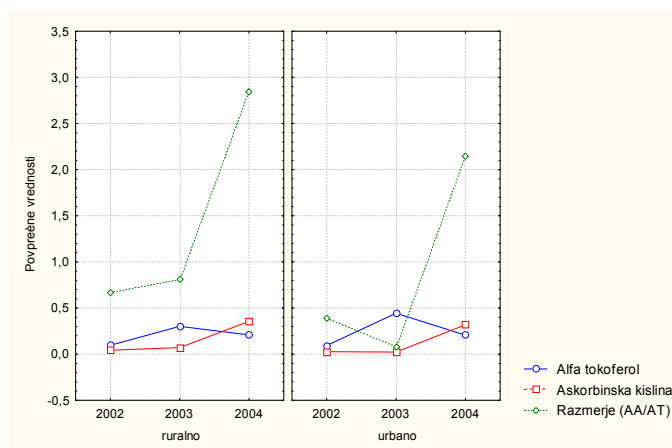
Slika 62: Primerjava aktivnosti encima superoksid dizmutaze v listih tobaka 'Bel W₃' med izpostavitvijo na stojalu (izpostavitvev \approx 14 dni) in v loncu (izpostavitvev od začetka do zaključka poskusov \approx 4 mesece).

Figure 62: Comparison of the activity of the superoxide dismutase enzyme in the leaves of the 'Bel W₃' tobacco during exposure on stands (time of exposure \approx 14 days) and in pots (time of exposure from the beginning until the end of conducting experiments \approx 4 months).

Vsebnosti alfa tokoferola in askorbinske kisline

Med leti (2002-2004) so značilno velike razlike v vsebnosti askorbinske kisline in alfa tokoferola ter njenega razmerja v listih bioindikatorskih rastlin. Pri alfa tokoferolu so povprečne vsebnosti največje v letu 2003 (Povp.=0,32), medtem ko smo največje vsebnosti askorbinske kisline statistično določili leta 2004 (Povp.=0,34).

Statistično značilno veliko razliko v razmerju med askorbinsko kislino in alfa tokoferolom smo izračunali med letoma 2003 in 2004. Razmerje med antioksidantoma je bilo 2,6 leta 2004 in 0,7 leta 2003. Za vsa tri leta velja, da med ruralnim in urbanim okoljem ni statistično značilnih razlik v vsebnostih antioksidantov in v njunem razmerju. Povprečne vrednosti razmerja so bile sicer v vseh letih večje v ruralnem okolju Šaleške doline.

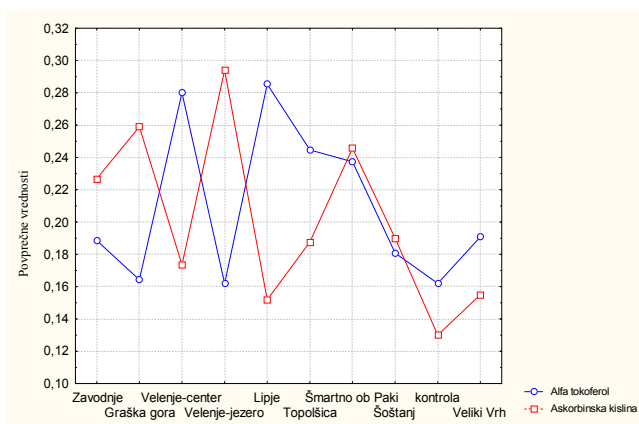


Slika 63: Primerjava vsebnosti alfa tokoferola, askorbinske kisline in njenega razmerja med leti 2002, 2003 in 2004 za urbano in ruralno okolje Šaleške doline.

Figure 63: Comparison of levels of alpha-tocopherol and ascorbic acid, and of ratios of apha-tocopherol to ascorbic acid for years 2002, 2003 and 2004 in the urban and rural environments of the Šalek Valley.

Primerjava med mesti

Primerjali smo vsebnosti antioksidantov v listih rastlin med poskusnimi mesti v Šaleški dolini in ugotavljamo, da med njimi ni značilnih razlik.

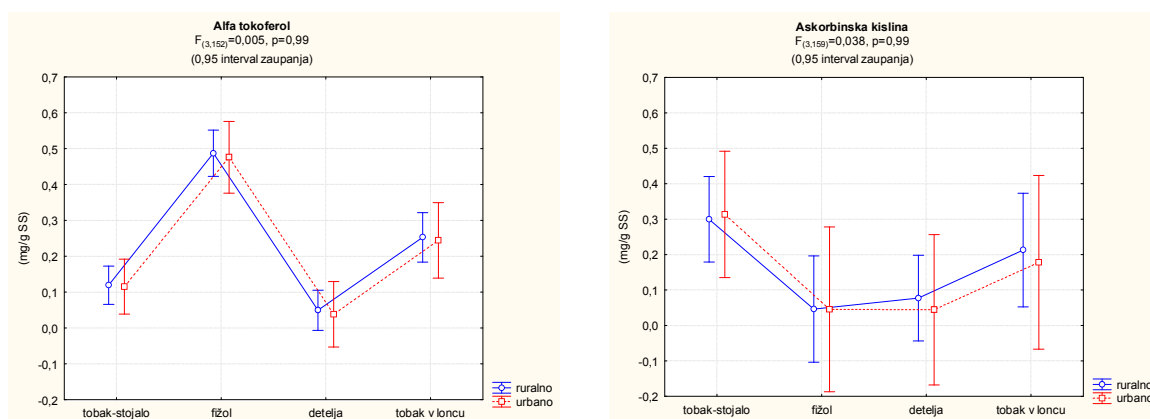


Slika 64: Primerjava vsebnosti alfa tokoferola, askorbinske kisline in njenega razmerja med 9 poskusnimi mesti v Šaleški dolini.

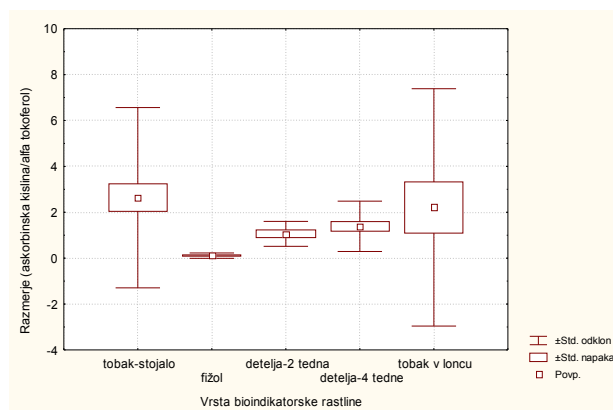
Figure 64: Comparison of levels of alpha-tocopherol and ascorbic acid, and of ratios of apha-tocopherol to ascorbic acid among 9 experiment sites in the Šalek Valley.

Primerjava med vrstami bioindikatorjev

Odziv bioindikatorskih rastlin na stres zaradi ozona je bil različen. Značilno večje vsebnosti alfa tokoferola so imeli listi nizkega fižola in listi tobaka v loncu (slika 65). Med plazečo deteljo 'Milka' staro 2 tedna in 4 tedne ni značilnih razlik v vsebnosti alfa tokoferola. Tobak na stojalu (14 dnevna izpostavitve) je imel največje vsebnosti askorbinske kisline v primerjavi z drugimi vrstami. Razlike v vsebnosti askorbinske kisline so statistično značilne. Razmerja med askorbinsko kislino in alfa tokoferolom so značilno večja pri tobaku v primerjavi s fižolom (slika 66).



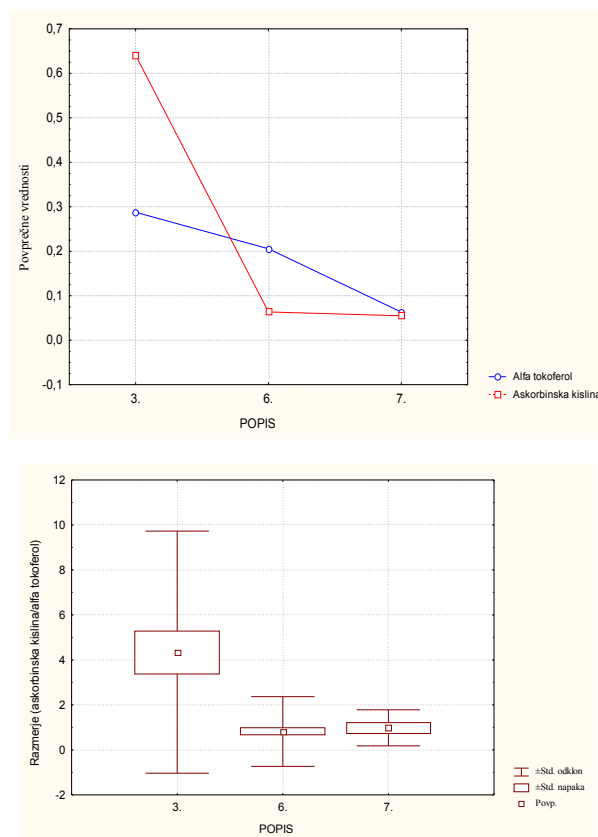
Slika 65: Primerjava vsebnosti alfa tokoferola in askorbinske kisline med bioindikatorskimi vrstami.
Figure 65: Comparison of levels of alpha-tocopherol and ascorbic acid among bioindicator species.



Slika 66: Primerjava razmerja med askorbinsko kislino in alfa tokoferolom med bioindikatorskimi vrstami.
Figure 66: Comparison of ratios of apha-tocopherol to ascorbic acid among bioindicator species.

Primerjava med popisi

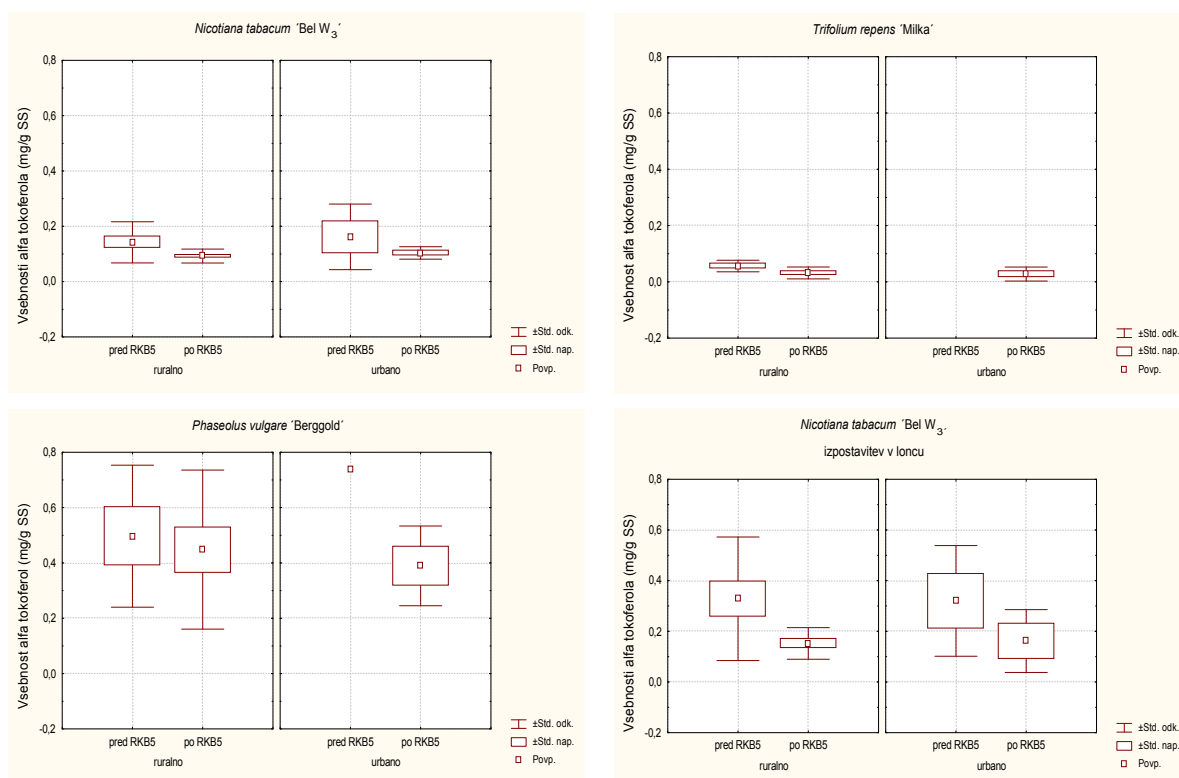
Vsebnosti antioksidantov (alfa tokoferol, askorbinska kislina) od začetka (maj) do izteka poskusov (september) padajo na vseh poskusnih mestih (slika 67). Prav tako ugotavljamo, da se od 3. do 7. popisa zmanjšujejo tudi razmerja med askorbinsko kislino in alfa tokoferolom. Z zmanjševanjem vsebnosti antioksidativne obrambe rastlin od maja do septembra se tveganje za kronične poškodbe in bolezni pri rastlinah poveča.



Slika 67: Povprečne vsebnosti askorbinske kisline, alfa tokoferola in povprečna razmerja med askorbinsko kislino in alfa tokoferolom ob 3., 6. in 7. popisu.

Figure 67: Average levels of ascorbic acid and alpha-tocopherol, and average ratios of ascorbic acid to alpha-tocopherol at the time of the 3rd, 6th and 7th recordings.

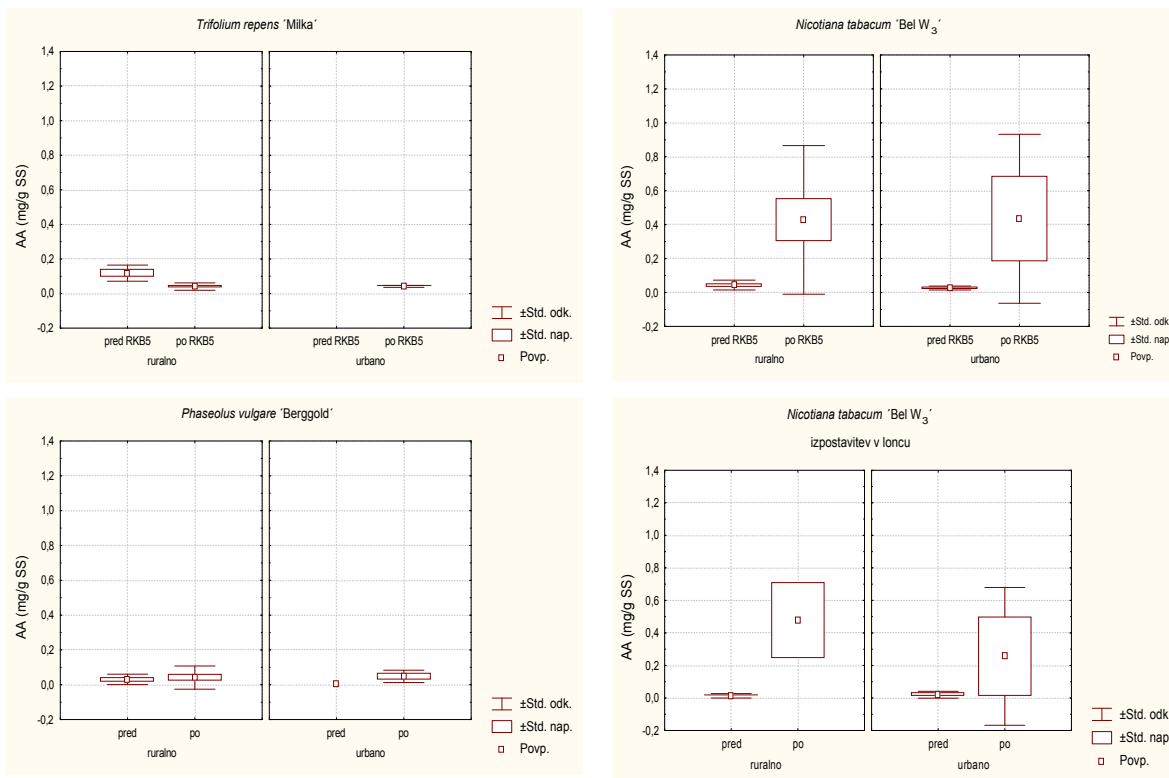
Največje vsebnosti alfa tokoferola smo pri tobaku v loncu in na stojalu določili leta 2003, ko so bile ozonske koncentracije v primerjavi z drugimi leti (2002, 2004, 2005) največje. Podobno ugotavljamo tudi za druge vrste rastlin, vendar so razlike med leti manj izrazite. V letu 2005 smo v povprečju določili toliko alfa tokoferola v listih rastlin kot leta 2002, kar je manj kot v letih 2003 in 2004. V vseh letih poskusov so bile vsebnosti alfa tokoferola v listih nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' največje. Medtem ko so bile najmanjše pri plazeči detelji. Med ruralnim in urbanim okoljem Šaleške doline pri nobeni vrsti rastlin smo določili značilne razlike v vsebnosti alfa tokoferola. Značilne razlike smo izračunali ob primerjavi obdobja pred in po sanaciji emisij NO_x iz TEŠ (RKB5). Ugotavljamo, da so bile vsebnosti alfa tokoferola v listih rastlin po sanaciji emisij NO_x manjše pri vseh vrstah rastlin (slika 68). Na podlagi rezultatov domnevamo, da so vsebnosti alfa tokoferola v listih bioindikatorskih rastlin bolj pokazatelj kronične izpostavljenosti rastlin dolgotrajnim povečanim koncentracijam ozona in drugim zračnim onesnažilom in je tesno povezan tudi s starostjo rastlin oziroma listov.



Slika 68: Vsebnosti alfa tokoferola v listih plazeče detelje 'Milka', tobaka 'Bel W₃' (izpostavitve na stojalu in v loncu) in nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' pred in po rekonstrukciji kotla B5 v TEŠ v ruralnem in urbanem delu Šaleške doline.

Figure 68: Levels of alpha-tocopherol in the leaves of the 'Milka' white clover, 'Bel W₃' tobacco (exposed on stands and in pots) and 'Berggold' yellow-pod dwarf beans in the rural and urban parts of the Šalek Valley before and after the reconstruction of the B5 steam engine in TEŠ.

Največje vsebnosti askorbinske kisline smo določili leta 2004 pri tobaku v loncu in na stojalu, ko so bile ozonske koncentracije v primerjavi z drugimi leti majhne. Podobno ugotavljamo tudi za druge vrste rastlin, vendar so tudi tukaj podobno kot pri alfa tokoferolu razlike med leti manj izrazite. Vsebnosti askorbinske kisline so bile v večini let največje pri tobaku 'Bel W₃' v primerjavi z drugimi vrstami rastlin. Najmanjše vsebnosti askorbinske kisline smo določili v listih nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' in pri plazeči detelji 'Milka'. Med ruralnim in urbanim okoljem Šaleške doline nismo pri nobeni vrsti rastlin določili značilne razlike v vsebnosti askorbinske kisline v listih. Toda spet smo izračunali značilne razlike ob primerjavi obdobja pred in po sanaciji emisij NO_x iz TEŠ (RKB5). Obratno kot za alfa tokoferol ugotavljamo za askorbinsko kislino, da so bile njene vsebnosti v listih rastlin po sanaciji emisij NO_x večje pri vseh vrstah rastlin, z izjemo plazeče detelje 'Milka' v ruralnem okolju (slika 69). Predvidevamo, da rastline v dalj časa trajajočih oksidativnih stresih reagirajo na način kopičenja alfa tokoferola v listih, askorbinska kislina pa je tista spojina, ki je v prvi »obrambni liniji« pred negativnimi učinki oksidativnega stresa. Njena vsebnost se poveča ob kratkotrajnejših in ne zelo velikih oksidativnih stresih, ob močnih stresnih situacijah obrambna sposobnost askorbinske kisline odpove. Takšen način reagiranja rastlin z alfa tokoferolom in askorbinsko kislino je verjetno nastajal milijarde let, in je filogenetsko pogojen z mestom nahajanja v rastlinskih celicah in kemijskimi lastnostmi obeh antioksidativnih molekul.



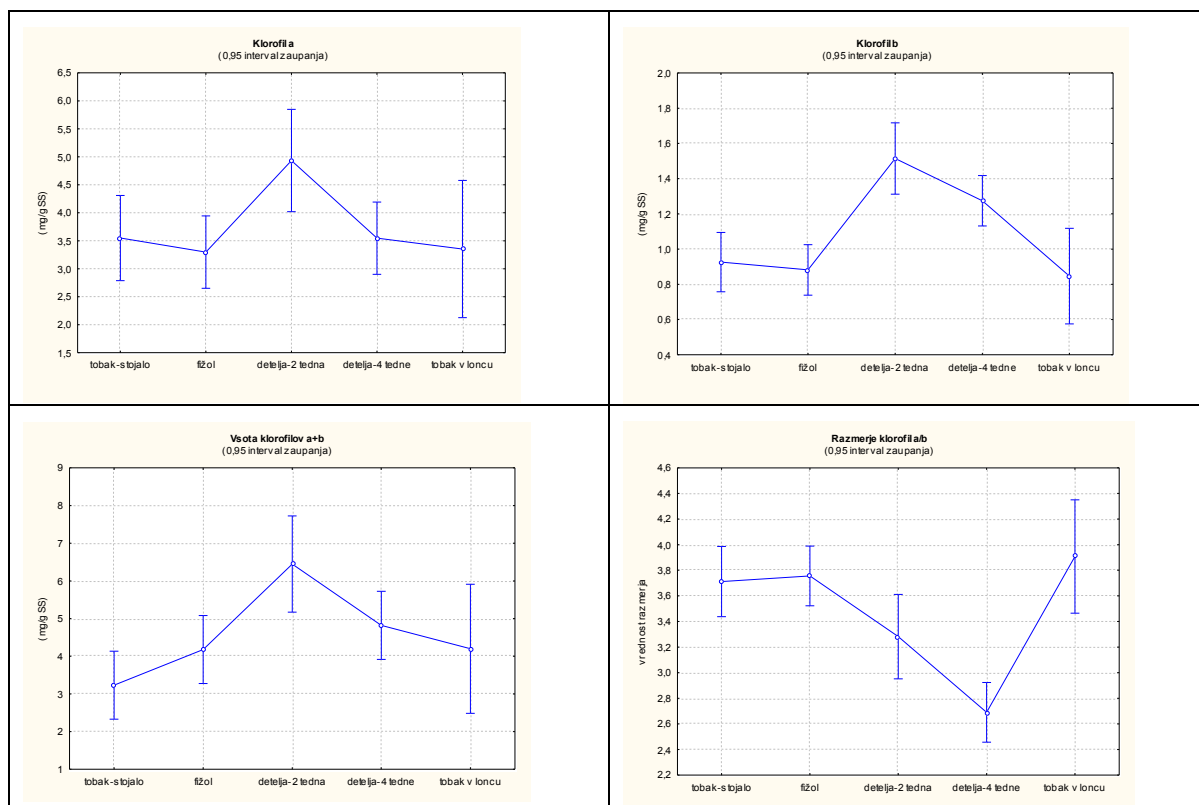
Slika 69: Vsebnosti askorbinske kisline v listih plazeče detelje 'Milka', tobaka 'Bel W₃' (izpostavitve na stojalu in v loncu) in nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' pred in po rekonstrukciji kotla B5 v TEŠ v ruralnem in urbanem delu Šaleške doline.

Figure 69: Levels of ascorbic acid in the leaves of the 'Milka' white clover, 'Bel W₃' tobacco (exposed on stands and in pots) and 'Berggold' yellow-pod dwarf beans in the rural and urban part of the Šalek Valley before and after the reconstruction of the B5 steam engine in TEŠ.

Vsebnosti pigmentov

Listi plazeče detelje, ki so stari 2 tedna imajo značilno večje vsebnosti klorofila a kot druge vrste uporabljenih bioindikatorskih rastlin (slika 70; $F_{(4,58)}=2,38$, $p=0,06$). Detelja se razlikuje od drugih vrst rastlin tudi po vsebnosti klorofila b in vsote obeh klorofilov (klorofil b: $F_{(4,58)}=9,93$, $p<0,001$; vsota klorofilov a in b: $F_{(4,63)}=4,53$, $p<0,01$). Posledično je razmerje med klorofilom a in b najmanjše pri plazeči detelji ne glede na njeno starost (2 ali 4 tedenska izpostavitve) ($F_{(4,58)}=14,32$, $p<0,001$).

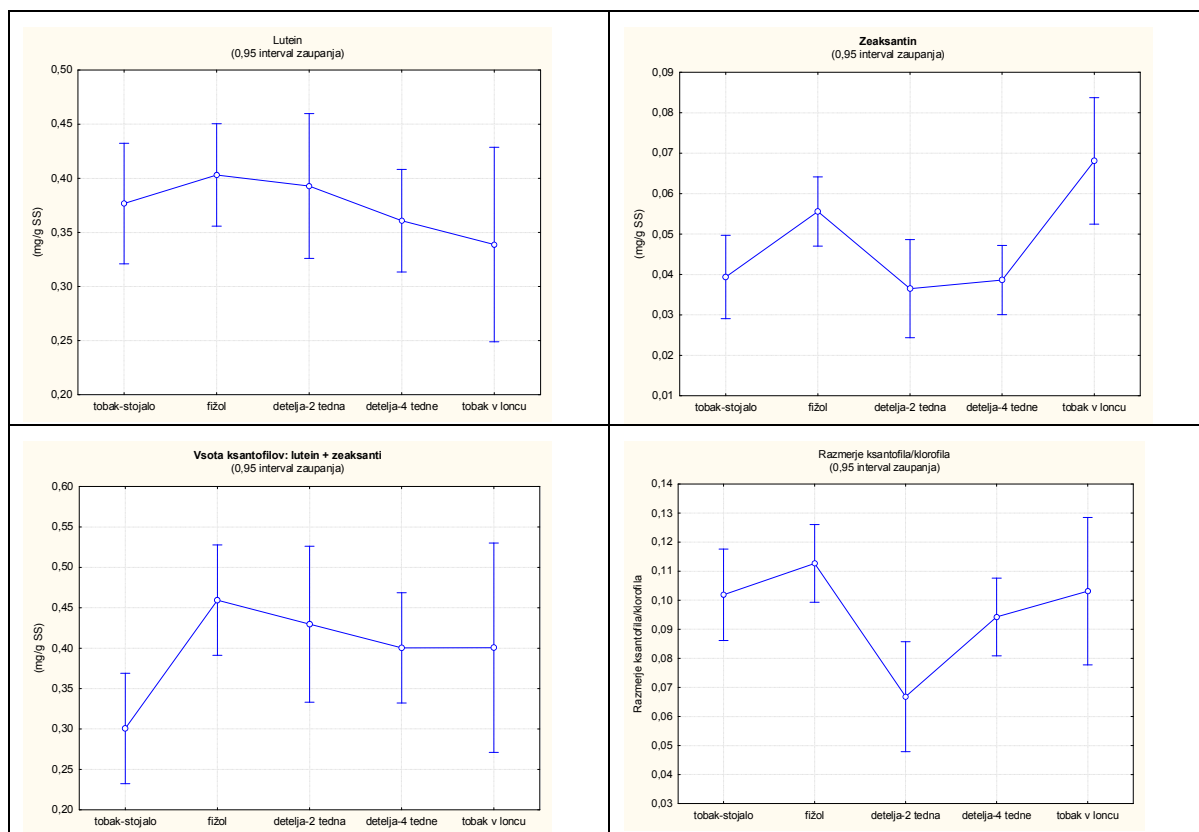
Za leto 2004 smo izvedli vzorčenje listov vseh vrst bioindikatorskih rastlin izpostavljenih na stojalu junija in septembra (slika 71). Največje vsebnosti zeaksantina, ki so statistično značilno večje od drugih vrst, smo izračunali pri tobaku in fižolu ($F_{(4,58)}=3,69$, $p<0,01$). Za lutein, katerega je po količini na suho snov lista precej več kot zeaksantina, nismo dobili značilnih razlik med vrstami rastlin ($F_{(4,58)}=0,65$, $p=0,63$). Vsota ksantofilov (zeaksantina in luteina) je značilno večja pri tobaku na stojalu (14 dnevna izpostavitve) ($F_{(4,63)}=2,93$, $p<0,05$). Razmerje med ksantofili in klorofili je statistično značilno najmanjše pri plazeči detelji 'Milka' stari 2 tedna, ker je pri tej vrsti bila vsebnost klorofilov največja ($F_{(4,58)}=4,11$, $p<0,01$).



Slika 70: Primerjava vsebnosti klorofila a, klorofila b, vsote klorofilov in razmerja med klorofiloma a in b v listih med različnimi vrstami bioindikatorskih rastlin.

Figure 70: Comparison of levels of chlorophyll a, chlorophyll b, total amount of chlorophylls and of the ratio of chlorophyll a to chlorophyll b in leaves of different species of bioindicator plants.

Ker so vsebnosti klorofila a v listih plazeče detelje stari 2 tedna, ki so toliko časa tudi izpostavljeni zunanjim vplivom, večje kot pri 4 tedne izpostavljenih listih ugotavljamo, da je bil zaradi oksidativnega stresa povzročenega z zračnimi onesnažili moten fiziološki proces nastajanja klorofila a v kloroplastih. Vsebnosti klorofila a so bile pri 4 tedne izpostavljenih listih plazeče detelje po povprečnih vrednostih podobne kot pri drugih bioindikatorskih vrstah. S starostjo listov upada obrambna sposobnost pred negativnimi vplivi zračnih onesnažil, odstotki ozonskih poškodb na površini listov se s starostjo povečujejo pri vseh obravnavanih vrstah rastlin in tudi to posledično vodi do zmanjševanja vsebnosti fotosintezno aktivnega klorofila a. Med 2 in 4 tedenskimi izpostavitvami plazeče detelje ne ugotavljamo razlik v vsebnosti vsote ksantofilov v listih. Edino zeaksantin je pigment, ki je bil v večjih vsebnostih določen v listih pri tobaku v loncu in fižolu, vzrok za to pa je po našem prepričanju v daljšem obdobju izpostavljenosti listov (dlje od 4 tednov) glede na druge bioindikatorske rastline. Zato sklepamo, da je večje nastajanje zeaksantina v listih posledica kroničnega patofiziološkega odziva rastline na stres nastalega zaradi zračnih onesnažil podobno kot ugotavljamo za vsebnosti alfa tokoferola.



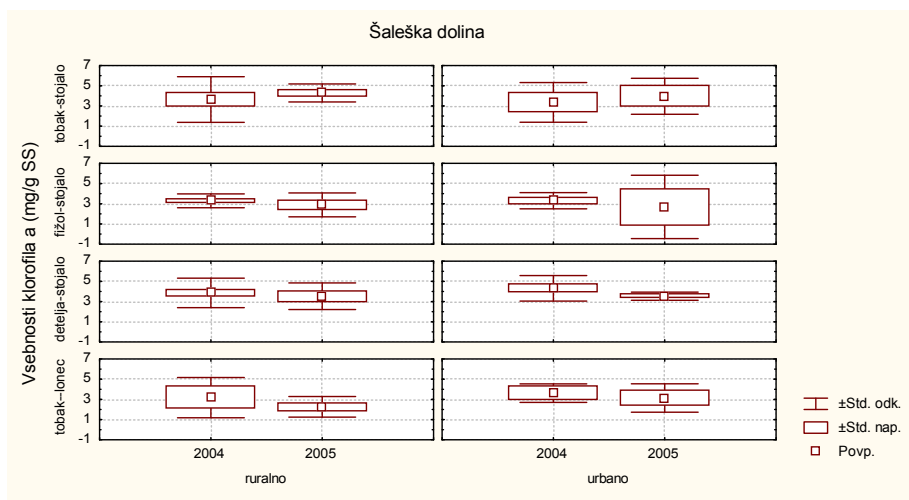
Slika 71: Primerjava vsebnosti luteina, zeaksantina, vsote ksantofilov in razmerja med ksantofili in klorofili v listih med različnimi vrstami bioindikatorskih rastlin.

Figure 71: Comparison of levels of lutein, zeaxanthin, total amount of xanthophylls and of the ratio of xanthophylls to chlorophylls in leaves of different species of bioindicator plants.

Naredili smo primerjavo med ruralnim in urbanim delom Šaleške doline in med vrstami rastlin in med letoma za slednje parametre: vsebnost klorofila a, razmerje klorofil a proti klorofilu b in razmerje klorofila (klorofil a in b) proti ksantofiloma (zeaksantin in lutein).

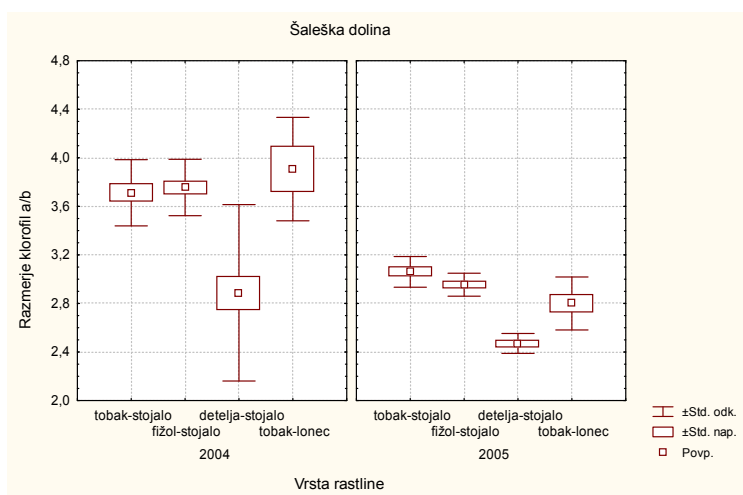
Povprečne vsebnosti klorofila a so večje v listih tobaka in detelje na stojalu od fižola in tobaka v loncu. Med ruralnim in urbanim delom se rastline po vsebnosti klorofila a ne razlikujejo (slika 72). V letu 2005 smo v povprečju določili večje vsebnosti klorofila a pri tobaku na stojalu kot v letu 2004, vendar razlike niso statistično značilne. Značilne razlike za tobak smo izračunali za razmerje klorofila a/b, manjše razmerje je bilo leta 2005. Za razmerje klorofila proti ksantofiloma med letoma ni razlike. V letu 2005 smo izmerili manjšo vsebnost klorofila a v listih rastlin v Zavodnjah, Velenju-center in Graški Gori.

V primerjavah ruralnega z urbanim okoljem Šaleške doline ne ugotavljamo značilnih razlik v razmerjih med klorofiloma a/b. Med izpostavljenimi rastlinami je bilo razmerje med klorofiloma a in b značilno manjše v listih plazeče detelje (slika 73). Pri vseh vrstah rastlin smo leta 2005 določili manjše razmerje med klorofiloma a in b. Za razmerje klorofilov proti ksantofiloma ugotavljamo, da ni značilnih razlik pri nobeni vrsti rastlin med letoma (slika 74).



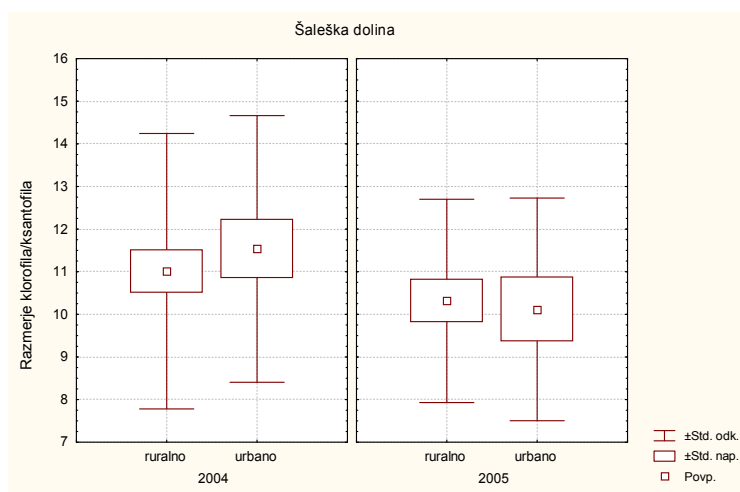
Slika 72: Vsebnosti klorofila a v listih plazeče detelje 'Milka', tobaka 'Bel W₃' (izpostavitev na stojalu in v loncu) in nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' v letih 2004 in 2005 v ruralnem in urbanem okolju Šaleške doline.

Figure 72: Levels of chlorophyll a in the leaves of the 'Milka' white clover, 'Bel W₃' tobacco (exposed on stands and in pots) and 'Berggold' yellow-pod dwarf beans in 2004 and 2005 in the rural and urban environments of the Šalek Valley.



Slika 73: Razmerje med klorofiloma a in b v listih plazeče detelje 'Milka', tobaka 'Bel W₃' (izpostavitev na stojalu in v loncu) in nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' v letih 2004 in 2005 v Šaleški dolini.

Figure 73: Ratio of chlorophyll a to chlorophyll b in the leaves of the 'Milka' white clover, 'Bel W₃' tobacco (exposed on stands and in pots) and 'Berggold' yellow-pod dwarf beans in 2004 and 2005 in the Šalek Valley.



Slika 74: Razmerje med klorofiloma in ksantofiloma v listih plazeče detelje 'Milka', tobaka 'Bel W₃' (izpostavitve na stojalu in v loncu) in nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold' v letih 2004 in 2005 v Šaleški dolini.

Figure 74: Chlorophylls-xanthophylls ratio in the leaves of the 'Milka' white clover, 'Bel W₃' tobacco (exposed on stands and in pots) and 'Berggold' yellow-pod dwarf beans in 2004 and 2005 in the Šalek Valley.

5.2 SKLEPI

- V ruralnem okolju (Zavodnje) smo primerjali odzive rastlin na ozon in druga zračna onesnažila pred in po zmanjšanju emisij prašnih delcev in SO₂ ter pred in po zmanjšanju emisij NO_x iz Termoelektrarne Šoštanj (TEŠ) po ICP Vegetation metodi izpostavitve. Rezultati so potrdili naša pričakovanja. Pozitivni učinki obeh ukrepov v TEŠ so se pokazali pri bioindikatorski rastlini *Trifolium repens* 'Regal' na biokemijsko-fiziološkem odzivu, ki se kaže v boljši vitalnosti (vsebnosti pigmentov) in posledično tudi na večji obrambni sposobnosti rastlin (vsebnosti antioksidantov) ter tudi na ravni vizualnih poškodb na listih.
- Ugotavljamo, da je obrambni mehanizem rastlin lahko učinkovit šele, ko je več nivojski in je organizem v dobri zdravstveni kondiciji. Vitalnost rastlin smo merili z vsebnostjo pigmentov (klorofil a in b, ksantofila lutein in zeaksantin, alfa in beta karoten) v listih. Po zmanjšanju emisij NO_x in SO₂ iz TEŠ se je zmanjšal tudi sinergističen vpliv ozona z drugimi zračnimi onesnažili; kot pozitiven odziv rastlin, smo izmerili večji delež klorofila a v listih *Trifolium repens* 'Regal'. Povečalo se je tudi razmerje med klorofiloma a in b. Večja vsebnost klorofila a pomeni večjo fotosintezno aktivnost rastlin in tudi boljšo rast in razvoj oziroma vitalnost rastlin. Na pozitiven odziv *Trifolium repens* 'Regal' v Zavodnjah na zmanjšanje koncentracij SO₂ in NO_x v zraku kažeta tudi razmerji ksantofila/klorofila in karotena/klorofila v listih, ki sta se zmanjšali po delovanju naprave za razžvepljanje dimnih plinov.
- Na ravni pridelka, ki je z ekonomskega vidika rastlinske proizvodnje pomemben kriterij, statistično značilnih pozitivnih učinkov obeh ukrepov zmanjševanja emisij nismo ugotovili, čeprav je viden trend v smeri zmanjševanja vplivov. Od leta 1996

- do 2005 smo v Zavodnjah zabeležili trend naraščanja v pridelku glede na izračunano razmerje med občutljivim in odpornim klonom plazeče detelje 'Regal'. Razmerje med pridelkoma občutljivega in odpornega klona se približuje 1. Negativen trend v smislu vplivov na pridelek smo določili le v Zasavju (Kovk).
- Pri dolgotrajnejšem oksidativnem stresu zaradi ozona in drugih zračnih onesnažil, ki ni nujno povezan z zelo velikimi koncentracijami le-teh, smo zabeležiti zmanjšano rast in posledično manjši pridelek na ozon občutljivega klona *Trifolium repens* 'Regal' na poskusnih mestih Kovk, Zavodnje, Vnajarje v vseh letih izvajanja poskusov.
 - Med 9-timi obravnavanimi poskusnimi mesti v Šaleški dolini smo ugotovili največji negativen vpliv ozona in drugih zračnih onesnažil v Šoštanju, Velenju – center in Velikem Vrhu. Vrstni red med temi mesti se spreminja glede na obravnavan kazalnik oksidativnega stresa in vrsto rastline. Na drugih poskusnih mestih so bili učinki oksidativnega stresa zaradi zračnih onesnažil zabeleženi, vendar v manjšem obsegu (povprečje do 10 % poškodovanosti listov).
 - V Šaleški dolini je primerjava urbanega z ruralnim okoljem pokazala značilne razlike v poškodbah listov tobaka 'Bel W₃', medtem ko za druge vrste rastlin razlike niso značilne. V povprečju smo več ozonskih poškodb v Šaleški dolini določili na rastlinah, ki so rastle na poskusnih mestih v ruralnem okolju.
 - Negativni vpliv ozona in drugih zračnih onesnažil (vzrok velikim koncentracijam prostih radikalov v zraku) je bil v letu 2003 v Šaleški dolini večji v primerjavi z leti 2002, 2004 in 2005 glede na zabeležene ozonske poškodbe in na osnovi biokemijskih kazalcev oksidativnega stresa pri tobaku 'Bel W₃'.
 - Med obravnavanimi vrstami rastlin je na ozon najodpornejši nizek rumenostročni fižol 'Berggold', najobčutljivejši pa tobak 'Bel W₃'. Plazeča detelja 'Milka' propadle liste lahko hitro nadomesti z novimi mlajšimi listi, zato je umeščena po tolerantnosti med obema prej omenjenima vrstama. Nizek fižol v listih vsebuje med antioksidativnimi molekulami v primerjavi z drugimi vrstami največ alfa tokoferola. Plazeča detelja ima med obravnavanimi vrstami rastlin največje vsebnosti askorbinske kisline, kar povezujemo z večjim deležem novo tvorjenih listov. Zato tudi sklepamo, da se v mlajših listih nahaja več askorbinske kisline kot v starejših listih; obratno sklepamo, da je v starejših listih več alfa tokoferola kot v mlajših. Izbira biokemijskih kazalnikov, ki jih bomo uporabili v preučevanju odziva rastlin na ozon (oksidativen stres) je odvisna od vrste preučevane rastline.
 - S starostjo listov upada obrambna sposobnost pred negativnimi vplivi zračnih onesnažil, saj se odstotki ozonskih poškodb na površini listov s starostjo povečujejo pri vseh obravnavanih vrstah rastlin in posledično se vsebnosti fotosintezno aktivnega klorofila a v listih zmanjšajo (plazeča detelja: manjše vsebnosti pri 4 tedne starih listih v primerjavi z 2 tedna starimi).
 - V večjem delu vegetacijskega obdobja smo opravljali popise poškodb listov (do osem na leto) v enakih časovnih presledkih in tako smo v obravnavo zajeli mesece od maja do oktobra. Znotraj teh mesecev ugotavljamo, da so rastline tobaka 'Bel W₃' imele največ ozonskih poškodb od sredine julija do sredine avgusta. Velik

vpliv na takšen rezultat imajo zelo velike koncentracije ozona v tem obdobju v letu 2003.

- Na osnovi rezultatov lahko predvidevamo redosled odziva rastlin na oksidativen stres na fiziološki ravni. Najprej se rastline odzovejo s povečano aktivnostjo encima superoksid dizmutaze, nato s povečano vsebnostjo askorbinske kisline in nazadnje (ob dlje časa trajajočem stresu) z večjo vsebnostjo alfa tokoferola.
- Ugotavljamo, da se v letu z zelo velikimi koncentracijami ozona (npr. leto 2003) običajno pojavljajo hkrati tudi velike temperature zraka, kar povzroči zapiranje listnih rež pri rastlinah in s tem posledični izogib direktnemu oksidativnemu stresu zaradi ozona. Zato v takem letu ne beležimo velikih odstotkov poškodovanosti listnih površin, beležimo pa kot posreden vpliv večje zmanjšanje pridelka, čeprav so rastline rastle v pogojih redne oskrbe z vodo.
- Statistično značilnih linearnih korelacij med imisijskimi meritvami zračnih onesnažil in odzivi rastlin nismo izračunali. Imisijske meritve koncentracij ozona same zase ne kažejo velikosti vplivov, kajti rastline se odzovejo vedno v tesni povezavi z vplivi še drugih okoljskih dejavnikov. Zato je tudi razumljivo, da kljub večletnim poskusom linearni trendi odzivov rastlin kot tudi meritve ozona (po nastanku sekundarno onesnažilo), niso statistično značilni. Odzivna bioindikacija z višjimi rastlinami (kvalitativne in kvantitativne meritve) za spremljanje onesnaženosti zraka z ozonom je pomembna in potrebna nadgradnja informacijam o imisijskih meritvah koncentracij ozona (kvantitativne meritve).

6 POVZETEK (SUMMARY)

6.1 POVZETEK

Rezultati meritev onesnaženosti zraka v koncentracijah posameznih zračnih onesnažil ne omogočajo neposrednih zaključkov o vplivih na organizme. Vpliv na organizme namreč ni odvisen samo od doze onesnažila, temveč na to vplivajo številni drugi dejavniki, kot je klima, hranila, preddispozicija, starost, sočasen vpliv različnih onesnažil, itd. Ocena kvalitete zraka z uporabo bioindikatorskih rastlin je utemeljena z definicijo, da so bioindikatorji organizmi ali združbe organizmov, ki reagirajo na okoljske vplive s spremembami v svojih vitalnih funkcijah in/ali s spremembami v svoji kemični sestavi. Ocene in meritve teh sprememb nam dajejo možnosti, da naredimo zaključke o stanju okolja v katerem živimo. Osnovni pogoj za uporabo bioindikatorjev in primerljivost rezultatov je visoka stopnja standardizacije metod vzgoje, izpostavitve in ocenjevanja ter vrednotenja učinkov. Večina stresorjev (zračna onesnažila, suša, herbicidi, patogeni...) povzroča v rastlinah nastanek oksidantov, zato govorimo o oksidativnem stresu. Inventarizacija vplivov je tako lahko poleg emisijskih in imisijskih meritev zračnih onesnažil tretji informacijski sistem v kontroli onesnaženosti zraka. Največji negativen vpliv na rast in razvoj rastlin ima med zračnimi onesnažili ozon in sicer ker: (i) je zelo močan oksidant; (ii) so koncentracije ozona največje ravno v času glavne vegetacijske sezone; (iii) se povišane koncentracije ozona najpogosteje zgodijo v ruralnem okolju, kjer poteka glavna rastlinska pridelava hrane. Glavni krivec vse večjih koncentracij ozona v Sloveniji so emisije NO_x in HOS v prometu, emisije NO_x in SO_2 iz termoenergetskih objektov in daljinski transport onesnažil iz sosednjih držav, zlasti Italije.

Namen doktorske disertacije je bil ugotoviti uporabnost izbranih bioindikatorskih metod kot tretjega informacijskega nivoja v spremljanja onesnaženosti zraka na območju delovanja termoenergetskih objektov. Cilj je bil kvantitativno (pridelek) in kvalitativno (vizualne poškodbe listov, vsebnosti rastlinskih pigmentov in antioksidantov v listih) ovrednotiti učinke zmanjšanja emisij SO_2 in NO_x iz TEŠ na rastlinsko pridelavo hrane v ruralnem in urbanem okolju. Predpostavili smo, da se bo po zmanjšanju koncentracij SO_2 in NO_x v zraku zaradi manjšega sinergističnega vpliva vseh onesnažil skupaj zmanjšal tudi vpliv ozona na rastline.

Biokemijsko-fiziološko raven odziva rastlin na ozon smo merili z vsebnostjo alfa tokoferola in askorbinske kisline ter na encimski ravni z aktivnostjo superoksid dizmutaze. Vse omenjene molekule imajo velik pomen pri obrambi rastlin pred oksidativnim stresom. Vitalnost rastlin smo merili z vsebnostjo rastlinskih pigmentov (klorofil a in b, zeaksantin, lutein in alfa ter beta karoten) v listih. Vsebinsko raziskava obsežno obravnava prostorsko in časovno dimenzijo vplivov troposferskega ozona in drugih zračnih onesnažil na rastline. Tako so na devetih mestih v Šaleški dolini (Šoštanj, Veliki Vrh, Šmartno ob Paki, Velenje-center, Velenje-jezero, Lipje, Graška Gora, Topolšica, Zavodnje) potekali poskusi od 2002 do 2005, na štirih območjih v Sloveniji (Zasavje – Kovk, Mežiška dolina – Žerjav (Narodni dom in Matvoz), Šaleška dolina – Zavodnje, obrobje Ljubljanske kotline – Vnajarje) pa od 1996 do 2005.

V Šaleški dolini smo v urbanem in ruralnem okolju uporabili standardizirano metodo bioindikacije ozona, ki so jo razvili Klumpp in sod. (2000). Metoda je bila uporabljena in preizkušena v mednarodnem projektu EuroBionet v okviru LIFE programa. Poskusna

mesta v Šaleški dolini so bila izbrana glede na lego TEŠ v vseh glavnih smereh pihanja vetrov. V prevladujočih smereh vetrov smo dodatno izbrali bližje in bolj oddaljene lokacije od TEŠ-a. Tako smo na primer izbrali lokaciji Veliki Vrh in Šmartno ob Paki oziroma Velenje-center in Lipje. Poleg prej omenjene in v svetu preizkušene metode bioindikacije ozona s tobakom (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃') smo prvič uporabili še ocenjevanje vplivov onesnaženega zraka na nizek rumenostročni fižol (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') in na plazečo deteljo (*Trifolium repens* 'Milka'). Poskusi v Šaleški dolini so potekali vsa leta na posebej za to oblikovanih stojalih. Višino izpostavljenih rastlin na stojalih smo prilagodili višini predšolskih otrok, ki predstavlja eno izmed najbolj občutljivih populacij za negativne vplive ozona in drugih zračnih onesnažil. Na poskusnih mestih z več ozonskimi poškodbami na rastlinah je pričakovati tudi večji negativni vpliv na zdravje ljudi. V prvem letu smo potrdili pravilnost izbire bioindikatorske metode in bioindikatorskih rastlin za naše okolje.

Že od leta 1996 naprej na poskusnih mestih Zavodnje (Šaleška dolina), Kovk (Zasavje), Žerjav-Matvoz in Narodni dom (Mežiška dolina) ter Vnajnarje (hribovito obrobje Ljubljanske kotline) izvajamo poskus s plazečo deteljo 'Regal' (*Trifolium repens* 'Regal'), z občutljivim (NC-S klon) in odpornim klonom (NC-R klon) na ozon. Metoda spremljanja odzivov plazeče detelje 'Regal' na ozon je povzeta iz mednarodnega ICP Vegetation programa (*International Cooperative Programme on Effects of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops*).

Plazeča detelja 'Milka' in nizek rumenostročni fižol 'Berggold' sta se pokazala kot dobra odzivna bioindikatorja za spremljanje onesnaženosti zraka z ozonom in drugimi zračnimi onesnažili v naših rastnih razmerah. Uporabljena metoda bioindikacije s plazečo deteljo 'Milka' je enostavna in uporabna širše v Sloveniji in tudi v evropskem prostoru. Prvič smo evidentirali izgled ozonskih poškodb na listih plazeče detelje 'Milka' in listih nizkega rumenostročnega fižola 'Berggold'. Na osnovi evidentiranih poškodb listov smo ugotovili, da so med mesnim (urbanim) in podeželskim (ruralnim) okoljem razlike, prav tako ugotavljamo razlike med določenimi poskusnimi mesti. Med poskusnimi mesti v Šaleški dolini smo največ poškodb zaradi oksidativnega stresa določili v Šoštanju, Velenju - center, Velikem Vrhu in v Zavodnjah. V letu 2003 so bili pridelki rastlin zaradi velikih koncentracij ozona in suhega ter vročega poletja najmanjši. Kot najbolj tolerantna vrsta rastlin na ozon, uporabljena v poskusu, se je na ravni pojavljanja vidnih poškodb na listih pokazal nizek fižol, nato plazeča detelja, najprej pa se je na povečane koncentracije ozona odzval tobak. Na osnovi rezultatov lahko predvidevamo redosled odziva rastlin na oksidativen stres na fiziološki ravni. Najprej se rastline odzovejo s povečano aktivnostjo encima superoksid dizmutaze, nato s povečano vsebnostjo askorbinske kisline in nazadnje (ob dlje časa trajajočem stresu) z večjo vsebnostjo alfa tokoferola.

Termoelektrarna Šoštanj (TEŠ) si že vrsto let prizadeva za pridobivanje okolju prijaznejše električne energije. Zato je bilo v okviru ekološkega sanacijskega programa TEŠ postavljenih več ciljev. V tem smislu so pomembno zmanjšali emisije žveplovega dioksida in prašnih delcev v letu 2001, v letu 2003 pa je bil izveden še drugi ukrep, to je rekonstrukcija kotla B5 in s tem zmanjšanje emisij NO_x za polovico. V Zavodnjah smo ugotavljali odzive plazeče detelje 'Regal' na ozon in druga onesnažila pred delovanjem naprave za razžveplanje dimnih plinov (NRDP) na bloku 5 v TEŠ, po delovanju NRDP in po rekonstrukciji kotla B5. Oba sanacijska ukrepa v TEŠ sta pomembno vplivala na izboljšanje kakovosti zraka v Šaleški dolini. Rezultati so potrdili tudi naša pričakovanja

glede pozitivnih odzivov pri rastlinah. V Zavodnjah se je pri plazeči detelji 'Regal', s katero smo spremljali vplive ozona od leta 1996 naprej, delež poškodb listov značilno zmanjšal po zmanjšanju emisij SO₂ in dimnih plinov iz bloka 5 v TEŠ; še večje izboljšanje ugotavljamo po zmanjšanju emisij NO_x z rekonstrukcijo kotla B5. Največji negativni vpliv zračnih onesnažil na ravni vizualnih poškodb, pridelka in fizioloških odzivov rastlin smo določili na regionalni skali na Kovku, sledita Vnajnarje in Zavodnje, najmanjši vpliv med obravnavanimi mesti pa smo evidentirali v Žerjavu. V skladu s trendi imisijskih koncentracij zračnih onesnažil smo pričakovano na Kovku določili pozitiven (naraščajoč) trend nastanka ozonskih poškodb na listih od leta 1996 do 2005. V Zavodnjah pozitivnega trenda v poškodovanosti listov nismo določili, kljub naraščanju koncentracij ozona v vegetacijskem obdobju, kar pripisujemo manjšemu sinergističnemu vplivu ozona in SO₂. Pozitivni učinki obeh sanacijskih ukrepov v TEŠ so pri kmetijskih rastlinah vidni na biokemijsko-fiziološkem odzivu, ki se kaže v boljši vitalnosti (vsebnosti pigmentov) in posledično tudi na večji obrambni sposobnosti rastlin (vsebnosti antioksidantov) ter tudi na ravni zmanjšanja pogostosti in velikosti vizualnih poškodb na listih. Vsebnosti askorbinske kisline in alfa tokoferola v listih plazeče detelje 'Regal' naraščajo od obdobja pred delovanjem NRDP do sanacije emisij dušikovih oksidov v TEŠ. Vsebnosti glavnega fotosintezno aktivnega pigmenta (klorofila a) v listih na ozon občutljivega klona (NC-S) plazeče detelje so se povečale od obdobja pred sanacijo emisij žveplovega dioksida; pričakovano se je povečalo tudi razmerje med klorofilom a in klorofilom b. Od leta 1996 naprej se povečuje tudi razmerje med klorofiloma (a in b) ter ksantofiloma (luteinom in zeaksantinom). Ugotavljamo, da se je po sanacijskih ukrepih v TEŠ vitalnost rastlin v vegetacijskem obdobju kljub velikim koncentracijam ozona izboljševala, verjetno zaradi zmanjšanega sinergističnega vpliva ozona z drugimi zračnimi onesnažili. Izboljšana vitalnost rastlin posledično vpliva tudi na večji in predvsem učinkovitejši obrambni odziv rastlin na druge stresne dejavnike v naravnem okolju. Na ravni pridelka, ki je z ekonomskega vidika rastlinske pridelave hrane pomemben kriterij, statistično značilnih pozitivnih učinkov nismo določili. Vendar se pričakuje še dodatno izboljšanje kakovosti zraka v Šaleški dolini zaradi novih zakonsko določenih meja za emisije NO_x iz velikih kurilnih naprav, to je zmanjšanje vrednosti emisij pod 500 mg/m³. Za doseg tega cilja so v TEŠ v septembru 2007 izpeljali zagon naprave za recirkulacijo dimnih plinov na bloku 5. Največji vpliv ozona na izgube pridelka pri občutljivem klonu (NC-S) plazeče detelje 'Regal' v primerjavi z odpornim klonom (NC-R) smo izračunali v povprečju za Vnajnarje (14,6 %), nato za Kovk (10,3 %) in Zavodnje (8,5 %). Zmanjševanje vplivov ozona na pridelek kmetijskih rastlin od leta 1996 naprej smo ugotavljali na vseh mestih razen na Kovku (Zasavje).

Obrambni mehanizem rastlin je učinkovitejši, če je več nivojski in je rastlina v dobri zdravstveni kondiciji; velja pa tudi, da so učinki zmanjševanja emisij zračnih onesnažil večji, če so pristopi k temu večnivojski in se ukrepi izvajajo na lokalni, državni, evropski in svetovni ravni hkrati. Z vidika negativnih vplivov zračnih onesnažil na pridelovanje rastlinske hrane v Sloveniji in v Evropi predstavljajo v prihodnosti glavni problem predvsem emisije iz prometa na cestah, katerega gostota iz leta v leto naglo narašča. Menimo, da je odzivna bioindikacija z višjimi rastlinami primerna metoda za spremljanje vplivov onesnaženosti zraka na organizme in lahko pomembno dopolnjuje fizikalno-kemijske meritve emisijskih in imisijskih koncentracij posameznih vrst zračnih onesnažil.

6.2 SUMMARY

The results of air pollution measurements of the concentrations of individual air pollutants do not allow any direct conclusions about their impact on organisms since this does not depend solely on the amount of the pollutants, but also on a number of other factors, e.g. climate, nutrients, predisposition, age of organisms, simultaneous impact of other pollutants, etc. The air quality assessment using bioindicator plants is based on the definition that bioindicators are organisms or societies of organisms reacting to environmental impacts by changing their vital functions and/or by altering their chemical composition. Assessing and measuring these changes gives us an opportunity to draw conclusions on the state of the environment we live in. The prerequisite for the use of bioindicators and comparability of results is a high level of standardization of the methods of growing, exposure and assessment of impacts. Most stressors (air pollutants, drought, herbicides, pathogens, etc.) cause oxidants to be formed in plants, hence we talk about oxidative stress. Apart from taking measurements of emissions and immissions of air pollutants, making a list of the impacts can therefore be a third information system in controlling air pollution. Among air pollutants, ozone has the greatest negative effect on the development and growth of plants because it is a very strong oxidant – ozone concentrations are highest precisely at the time of the main vegetation season, and more often than not they occur in rural areas where most plants grown for food can be found. The main culprits for the ever growing ozone concentrations in Slovenia are NO_x and SO₂ emissions from thermal power plants and long-range transport of pollutants from neighbouring countries, particularly Italy.

The aim of this doctoral thesis was to determine the applicability of bioindicator methods as a third level of information gathering on air pollution monitoring in the areas around thermal power plants. The goal was to assess the quantitative (yield) and qualitative impacts (visible leaf damage, levels of plant pigments and antioxidants in leaves) of decreasing the SO₂ and NO_x emissions from the Šoštanj thermal power plant (TPP) on crops grown in rural and urban environments. It was presumed that with decreased SO₂ and NO_x concentrations in the air and due to a smaller synergistic impact of all pollutants combined, the effect of ozone on plants would be reduced as well.

The biochemical-physiological reactions of plants were determined by measuring the levels of alpha-tocopherol and ascorbic acid as well as the activity of superoxide dismutase at the enzyme level. All above mentioned molecules play an important part in protecting plants from oxidative stress. The vitality of plants was determined by measuring the levels of plant pigments (chlorophyll a and b, zeaxanthin, lutein, alpha- and beta-carotene) in leaves. The research extensively deals with the impacts of tropospheric ozone and other air pollutants on plants in terms of time and space. From 2002 to 2005, experiments were carried out at nine sites in the Šalek Valley (Šoštanj, Veliki Vrh, Šmartno ob Paki, Velenje – Centre, Velenje – Lake, Lipje, Graška Gora, Topolšica, Zavodnje), and from 1996 to 2005 at four sites in different regions of Slovenia (the Sava Valley – Kovk, the Mežica Valley – Žerjav (multi-purpose centre Narodni dom and Matvoz), the Šalek Valley – Zavodnje, outskirts of the Ljubljana basin – Vnajarje).

In the urban and rural areas of the Šalek Valley, we used the standardized method of ozone bioindication developed by Klumpp and colleagues (2000). The method was used and tested in the international EuroBiNet project within the framework of the LIFE

programme. The experiment sites in the Šalek Valley were chosen according to the position of TPP Šoštanj, in all main wind directions. In the directions in which most winds blow, locations near and far away from TPP Šoštanj were chosen, for instance Veliki Vrh and Šmartno ob Paki or Velenje – Centre and Lipje. Apart from applying the above mentioned widely recognized method of ozone bioindication with tobacco (*Nicotiana tabacum* 'Bel W₃'), we assessed air pollution impacts using yellow-pod dwarf beans (*Phaseolus vulgare* 'Berggold') and white clover (*Trifolium repens* 'Milka'). The plants used in the experiments in the Šalek Valley were exposed on purpose-made stands, the height of which was adapted to the height of pre-school children, who represent one of the population groups most vulnerable to the negative effects of ozone and other air pollutants. At the experiment sites with more ozone damage on plants, a greater impact on the health of people is to be expected. During the first year of conducting experiments, the choice of the applied bioindicator method and bioindicator plants in our environment proved to be correct.

Since 1996, an experiment with an ozone-sensitive (NC-S) and ozone-resistant (NC-R) clones of the 'Regal' white clover (*Trifolium repens* 'Regal') had been carried out at experiment sites Zavodnje (the Šalek Valley), Kovk (the Sava Valley), Žerjav – Matvoz and Narodni dom (the Mežica Valley) and Vnajarje (hilly outskirts of the Ljubljana basin). The method of observing the reactions of the 'Regal' white clover to ozone is taken from the international ICP Vegetation Programme (*International Cooperative Programme on Impacts of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops*).

The 'Milka' white clover and 'Berggold' yellow-pod dwarf beans proved to be good reaction bioindicators for observing the pollution of air with ozone and other air pollutants in our vegetation conditions. The bioindication method using the 'Milka' white clover is straightforward and widely applicable in Slovenia as well as in other parts of Europe. For the first time, the visual characteristics of ozone damage on the leaves of the 'Milka' white clover and 'Berggold' yellow-pod dwarf beans were described. On the basis of the records on leaf damage it was established that differences exist between city (urban) and countryside (rural) environments as well as among particular experiment sites. Among the sites in the Šalek Valley, most damage caused by oxidative stress was determined in Šoštanj, Velenje – Centre, Veliki Vrh and Zavodnje. In 2003 crop yields were lowest due to high ozone concentrations and a dry and hot summer. Regarding visible leaf damage, among the plants used in the experiment dwarf beans exhibited highest tolerance to ozone, followed by white clover. Tobacco was the first to react to increased ozone concentrations. On the basis of the results obtained a chronological order of reactions of plants to oxidative stress at the physiological level can be forecast. First, plants react with an increased activity of the superoxide dismutase enzyme, later with a higher ascorbic acid level and finally, when subjected to a prolonged period of stress, with an increased alpha-tocopherol level.

For years, the Šoštanj thermal power plant has been striving for environment-friendly production of electrical energy. Therefore a number of goals were set within the framework of the TPP Šoštanj ecological remedial action programme. In 2001 the emissions of sulphur dioxide and dust particles were reduced substantially. In 2003 another measure was taken, a reconstruction of the B5 steam generator, which decreased NO_x emissions by half. In Zavodnje, the reactions of the 'Regal' white clover to ozone and other pollutants were observed during three periods: before the flue gas desulphurization

plant at Unit 5 of TPP Šoštanj started operating, after its start of operation and after the reconstruction of the B5 steam generator. Both remedial measures in TPP Šoštanj had a profound impact on the improvement of air quality in the Šalek Valley. The results also confirmed our expectations of positive reactions in plants. In Zavodnje, leaf damage decreased characteristically in the 'Regal' white clover, which was used to observe the effects of ozone from 1996 on, after the emissions of SO₂ and flue gases from Unit 5 of TPP Šoštanj were reduced; an even greater improvement was achieved after a decrease in NO_x emissions following the reconstruction of the B5 steam generator. On a regional scale, the greatest negative impact of air pollutants at the levels of visible leaf damage, yield and physiological reactions of plants was established at Kovk, followed by Vnajarje and Zavodnje, while the lowest impact among the sites included in the experiment was established in Žerjav. Based on the trends of immission concentrations of air pollutants, an expected positive (increasing) trend of ozone-induced leaf damage was determined between 1996 and 2005. In Zavodnje, there was no positive trend despite the increase in ozone concentrations during the vegetation period, which is ascribed to a lower synergistic impact of ozone and SO₂. Positive impacts of both remedial measures in TPP Šoštanj on crops can be determined on the basis of the biochemical-physiological reaction of plants, which can be seen in greater vitality (pigments level) and consequently in the defence abilities of plants (antioxidants level) as well as in the amount of visible leaf damage. Levels of ascorbic acid and alpha-tocopherol in the leaves of the 'Regal' white clover increased in the period from the time before the flue gases desulphurization plant started operating until the reduction of nitric oxide emissions in TPP Šoštanj. The levels of the main photosynthetically active pigment, chlorophyll a, in the leaves of the ozone-sensitive (NC-S) clone of white clover had risen since the period before the reduction of sulphur dioxide emissions. As expected, the ratio of chlorophyll a to chlorophyll b increased as well. Moreover, since 1996 the ratio of the chlorophylls (a and b) to xanthophylls (lutein and zeaxanthin) had been rising. After TPP Šoštanj took remedial action, the vitality of plants in vegetation period improved in spite of increasing ozone concentrations, presumably due to a lower synergistic impact of ozone and other air pollutants. Greater vitality consequently leads to a larger and above all more effective defence reaction of plants to other stress factors in their natural environment. Regarding yield, which is an important criterion from an economic aspect of food production, no statistically characteristic positive impacts have yet been determined. However, because of new regulations on maximum levels of NO_x emissions from large combustion plants, reducing the maximum allowed emission levels below 500 mg/m³ after 31st October 2007, greater improvement in air quality is expected in the Šalek Valley. To achieve this goal, in September 2007 TPP Šoštanj put a flue gases circulation plant at Unit 5 into operation, which leads to NO_x emissions being reduced below 400 mg/m³. Comparing the effects on the sensitive (NC-S) clone of the 'Regal' white clover to the resistant (NC-R) clone, the greatest influence of ozone on average yield loss was calculated in Vnajarje (14,6 %), followed by Kovk (10,3 %) and Zavodnje (8,5 %). Since 1996, a trend of decreasing ozone impacts on crop yields had been determined at all sites apart from Kovk (the Sava Valley).

The defence mechanism of plants is more efficient when it exists at multiple levels and the plants are in good health. At the same time it is also true that the impacts of the decreasing emissions of air pollutants are greater when taking a multilevel approach to tackling the problem and the measures are carried out at a local, national and European level as well as

at a world level. Regarding negative effects of air pollutants on growing crops in Slovenia and Europe, emissions from road traffic, which is quickly thickening from year to year, present the main problem in the future. We believe that reactive bioindication using higher plants is an appropriate method for monitoring the impacts of air pollution on organisms and can considerably supplement physical-chemical measurements of emission and immission concentrations of individual types of air pollutants.

7 VIRI

- Al Sayegh Petkovšek S. 1996. Vpliv onesnaževanja in nekaterih rastiščnih dejavnikov na mikorizne sadike smreke. Magistrska naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 107 str.
- Al Sayegh Petkovšek S, Batič F., Ribarič Lasnik C. 2008. Norway spruce needles as bioindicator of air pollution in the area of influence of the Sostanj Thermal Power Plant, Slovenia. *Environmental Pollution*, 151, 2: 287-291
- Amundson R.G., Alschér R.G., Fellows S., Rubin G., Fincher J., Van Leuken P., Weinstein L.H. 1991. Seasonal changes in photosynthetic capacity, pigments, and carbohydrates of health sampling and mature red spruce and of declining and health red spruce. *Canadian Journal of Forest Research*, 21: 119-123
- Arndt U., Nobel W., Schweizr B. 1987. Bioindikatoren. Ulmer Verlag: 388 str.
- Batič F. 1994. Bioindikacija onesnaženosti zraka in njen pomen pri vzpostavitvi integralnega biomonitoringa. V: Zbornik varstva zraka: Stanje in ukrepi za izboljšanje stanja. Bled 28.-30. marec 1994. Ljubljana, Zavod za tehnično izobraževanje: 12/1-12/10
- Batič F. 1997a. Bioindikacija in stresna fiziologija - princip pri ekosistemskih raziskavah gozdnih ekosistemov. V: Znanje za gozd. Zbornik ob 50. obletnici obstoja in delovanja Gozdarskega inštituta Slovenije. Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije: 93-102
- Batič F. 1997b. Pomen bioindikacije pri spremljanju stanja okolja. V: Zbornik 1. mednarodnega simpozija Sanacija termoenergetskih objektov. Dejanovič, B., Ribarič Lasnik, C. (ur.). Rogaška Slatina, Društvo energetikov Slovenije: 291-293
- Batič F., Ribarič-Lasnik C., Vidergar-Gorjup N., Kopušar N., Bienelli A. 1996a: Monitoring the effects of ozone on agricultural plants within the ICP-Crops in Slovenia. V. *Biometeorology. Proceedings of 14th International Congress of Biometeorology*, 1.-8. september 1996, Ljubljana, Slovenia, Part 1 (Abstracts): 20
- Batič F., Bienelli A., Kopušar N., Vidergard-Gorjup N., Čuhalev I. 1996b. First results of the ICP-crops project carried out in Slovenia. *Research Reports of the Biotechnical faculty University of Ljubljana*, 67: 97-106
- Batič F., Bienelli A., Kopušar N., Sinkovič T., Šircelj H., Vidergar-Gorjup N. 1996c. Onesnaževanje ozračja in vplivi na kmetijsko proizvodnjo. V: *Novi izzivi v poljedelstvu '96. Zbornik simpozija*, Radenci, 9.-10. december 1996: 121-125
- Batič F., Grill D., Kalan P., Ribarič-Lasnik C. 1995a: Impact of emission gases from the thermal power plant in Šoštanj on the biochemical structure of Norway spruce needles (*Picea abies* L. Karst.). *Acta Pharmaceutica*, 45, 2. Suppl. L795: 191-197
- Batič F., Klemenčič S., Jenčič-Medvešek M., Macarol B., Strniša A., Ribarič-Lasnik C., Vidergar N. 1995b. Bioindikacija ozona v troposferi z občutljivim kultivarjem tobaka (*Nicotiana tabacum* L. cv. BelW₃). V: Ljubljana, Zbornik gozdarstva in lesarstva, 47: 131-144
- Batič F., Ribarič-Lasnik C., Strniša A., Vidergar Gorjup N. 1994. Poskus ugotavljanja ozona v zraku z občutljivimi kultivarji tobaca *Nicotiana tabacum* (L.) cv. Bel W₃. V:

- Zbornik posvetovanja: Varstvo zraka za izboljšanje stanja v Sloveniji. Bled, 28.-30. marec 1994, Ljubljana, Zavod za tehnično izobraževanje: 37-50
- Batič F., Turk B., Krivec M., Kopušar N., Eler K., Šircelj H., Planinšek A., Zupančič B. 2005a. Spremljanje učinkov ozona na vegetaciji = Monitoring of tropospheric ozone effects on vegetation. V: J. Maček (ur.). 7. slovensko posvetovanje o varstvu rastlin / 7th Slovenian Conference on Plant Protection. Zbornik predavanj in referatov. 8.-10. mar. 2005, Zreče, Slovenija. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 410-415
- Batič F., Turk B., Krivec M., Kopušar N., Eler K., Šircelj H., Planinšek A., Zupančič B. 2005b. Preučevanje vpliva ozona in drugih fotooksidantov na gojene rastline in naravno vegetacijo v Evropi. V: Posvetovanje Varstvo zraka '05 : zbornik predavanj, Ljubljana, 18. - 20. maj 2005. Zavod za tehnično izobraževanje: 59-64
- Barrett M., Holland M. 2008. The costs and health benefits of reducing emissions from power stations in Europe. *Air pollution and climate*, 20: 64 str.
- Benton J., Fuhrer J., Gimeno B. S., Skärby L., Ball G., Palmer-Brown D., Roadknight C., Sanders G. 1995. ICP-Crops and critical levels of ozone for injury development. V: International workshop: Exceedances of critical loads and levels. Vienna, 1995 November 22 -24, Austrian Research Centre Seibersdorf: 1-15
- Beričnik Vrbovšek J. 2001. Fluoridi na vplivnem območju termoenergetskih objektov v Sloveniji: poročilo za leto 2000. DP 9/02/01. Velenje, ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave: 36 str.
- Bienelli A. 1997. Vpliv fotooksidantov na rast in razvoj izbranih vrst kmetijskih rastlin na območju Zasavja. Diplomaska naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 87 str.
- Bienelli A., Orešnik K. 1999. Ocenjevanje vplivov in nastale škode zaradi fotooksidantov v zraku na kmetijske rastline v Ljubljani, Vnajnarijih, Kovku in Zavodnjah. Letno poročilo. DP-409/99. Velenje, ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave: 65 str.
- BilTEŠ 2006. Poročilo o proizvodnji, vzdrževanju in ekoloških obremenitvah okolja TE Šoštanj v letu 2006. U. Rotnik (ed.), 2007.
http://www.te-sostanj.si/filelib/biltes_06_web.pdf (13. jun. 2008)
- Biolley J.P., Lauga B., Cagnon C., Duran R., Salvado J.C., Goulas P. 1996. Phenolic pattern of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as useful tool for monitoring ozone polluted air. V: Polyphenols Communications 96. J. Vercauteren, C. Chéze, M.C. Dumon, J.F. Weber (eds.). 18th International Conference on Polyphenols, 1996 July 15-18, Bordeaux (France), 2: 359-360
- Blasing T.J., Jones S. 2003. Current Greenhouse Gas Concentrations. (sept. 2003).
http://cdiac.esd.ornl.gov/pns/current_ghg.html (7. okt. 2003)
- Blum O., Didyk N. 2007. Study of ambient ozone phytotoxicity in Ukraine and ozone protective effect of some antioxidants. *Journal of Hazardous Materials*, 149, 3: 598-602
- Bole A., Kucovan R. 2001. Letno poročilo rezultatov meritev imisijskega obratovalnega monitoringa TE Trbovlje. Leto 2000. Strokovno poročilo. Št. poročila: EKO 566. Ljubljana, Elektroinštitut Milan Vidmar: 87 str.

- Bortier K., Ceulemans R., De Temmerman L. 1999. Effect of tropospheric ozone on woody plants. V: Environmental pollution and plant responses. S.B. Agrawal in M. Agrawal (eds.), Lewis publishers: 153-182
- Boutron F. 1994. Topics in atmospheric and interstellar physics and chemistry. Grenoble, France, ERCA, European Research Course on Atmospheres: 477 str.
- Brennan E.G., Clarke B.B., Greenhalgh-Weidman B., Smith G. 1990. An assessment of the impact of ambient ozone on field-grown crops in New Jersey using the EDU method: Part 2 – soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). Environmental Pollution: 361-373
- Calfapietra C., Paolacci A.R., Burinello A., Abenavoli M.R., Badiani M. 2000. Ozone biomonitoring in a rural area near Viterbo, Central Italy. Fresenius Environmental Bulletin 9: 631-637
- Calvet J.G. 1994. The chemistry of the atmosphere: its impact on global change. IUPAC – Chemistry for the 21st century. V: Changes in stratospheric ozone. Science, 237: 35-42
- Cicerone R.J. 1987. Changes in stratospheric ozone. Science, 237: 35-42
- Ciglar R., Planinšek A., Rode B. 1994: Varstvo zraka in ukrepi za izboljšanje stanja v Sloveniji. V: Zbornik varstva zraka: Stanje in ukrepi za izboljšanje stanja. Bled, Zavod za tehnično izobraževanje, Ljubljana: 4/1-4/18
- Clarke B.B., Greenhalgh-Weidman B., Brennan E.G. 1990. An assessment of the impact of ambient ozone on field-grown crops in New Jersey using the EDU method: Part 1 – white potato (*Solanum tuberosum*). Environmental Pollution, 66: 351-360
- Čuhalev I., Šušteršič A., Gorjup T., Hofer B., Alatič, T. 1999. Vpliv TE-TO Ljubljana in JP Energetika Ljubljana na onesnaženost zraka v Ljubljani. Leto 1998. Referat št.: 1443/99. Ljubljana, Elektroinštitut Milan Vidmar: 211 str.
- Demmig-Adams B., Adams W. 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. Trends in Plant Science, 1, 1: 21-26
- De Temmerman L., Bell J.N.B., Garrec J.P., Klumpp A., Krause G.H.M., Tonneijck A.E.G. 2004. Biomonitoring of air pollutants with plants – considerations for the future. V: A. Klumpp, W. Ansel, G. Klumpp (eds.). Urban air pollution, bioindication and environmental awareness. Cuvillier Verlag, Göttingen: 337–372
- De Vries W., Reinds G.J., Posch M., Sanz M.J., Krause G.H. M., Calatayud V., Renaud J.P., Dupouey J.L., Sterba H., Vel E.M., Dobbertin M., Gunderson P., Voog J.C.H. 2003. Ozone exposure and ozone injury symptoms at intensive monitoring plots: results from the test phase 2001. V: Intensive monitoring of forest ecosystems in Europe. EC-UN/ECE ICP-Forests, Technical Report: 25-36
- Dhindsa R.S., Plumb-Dhindsa P., Thorpe T.A. 1981. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany, 32, 126: 93-101
- Diagnostic injury to eastern forest trees. 1987. Skelly J.M., Davis D.D., Merrill W., Cameron E.A., Brown H.D., Drummond D.B., Dochinger L.S. (eds). USDA-Forest Service, Vegetation Survey Research Cooperative and the Pennsylvania State University, University Park, PA: 122 str.

- Direktiva 2002/3/ES Evropskega parlamenta in Sveta z dne 12. februarja 2002 o ozonu v zunanem zraku. 2002. Luxemburg, Evropski parlament, Ur. l. EU, L 067/14, 2002, Posebna izdaja v slovenščini, 15, 06: 497-514
- Direktiva 2001/81/ES Evropskega parlamenta in Sveta z dne 23. oktobra 2001 o nacionalnih zgornjih mejah emisij za nekatera onesnaževala zraka. 2001. Luxemburg, Evropski parlament, Ur. l. EU, L 309/22, 2001, Posebna izdaja v slovenščini, 15, 06: 320-329
- Doke N., Miura Y., Chai H. B., Kawakita K. 1991. Involvement of Active Oxygen in induction of plant defense response against infection and injury. V: Active Oxygen/Oxidative Stress and Plant Metabolism. Rockville, American Society of Plant Physiologists, M.D.: 84-96
- Dunning J.A., Heck W.W., Tingey D.T. 1974. Foliar sensitivity of pinto bean and soybean to ozone as affected by temperature, potassium nutrition, and ozone dose. *Water, Air & Soil Pollution*, 3: 305-313
- Džuban T. 2002. Indikacijske vrednosti klonov plazeče detelje *Trifolium repens* 'Regal' (NC-S, NC-R) za sledenje fotooksidantov v Sloveniji. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za Agronomijo: 43 str.
- Elektro inštitut Milan Vidmar (EIMV). Oddelek za okolje – OOK. Kakovost zraka v Zasavju skozi čas. Ljubljana, (jan. 2008).
http://envirtest.eimv.si/PRVA_STRAN1.HTM (17. jul. 2008)
- Elstner E. F. 1982. Oxygen activation and oxygen toxicity. *Annual Review of Plant Physiology*, 33: 73-96
- Elstner E.F. 1991. Mechanisms of oxygen activation in different compartments of plant cells. V: Active / Oxidative Stress and Plant Metabolism. E.J. Pell in K.L. Steffen (ur.), Rockville, M.D., American Society of Plant Physiologists: 13-25
- Elstner E.F., Osswald W. 1994. Mechanisms of oxygen activation during plant stress. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh*, 102B: 131-154
- Emberson L.D., Ashmore M.R., Cambridge H.M., Simpson D., Tuovinen J.P. 2000a. Modelling stomatal ozone flux across Europe. *Environmental Pollution*, 109, 3: 403-413
- Emberson L.D., Wieser G., Ashmore M.R. 2000b. Modelling of stomatal conductance and ozone flux of Norway spruce: comparison with field data. *Environmental Pollution*, 109, 3: 393-402
- Experimental protokol for the 1996 experiments of the ICP-Crops. The ICP-Crops Coordination Centre the Nottingham Trent University, ICP Crops Steering Committee: G. Sanders (UK), J. Benton (UK), L. Skärby (Sweden), J. Fuhrer (Switzerland), B. Sanchez-Gimeno (Spain): 34 str.
- Experimental protokol for the 1997 experiments of the ICP-Crops. The ICP-Crops Coordination Centre the Nottingham Trent University, ICP Crops Steering Committee: G. Mills (UK), J. Benton (UK), L. Skärby (Sweden), J. Fuhrer (Switzerland), B. Sanchez-Gimeno (Spain): 47 str.

- Experimental protokol for the 1999 season of the ICP-NWPC (International cooperative programme on effect of air pollution and other stresses on non-wood plants and crops). Wge – Working Group on Effects, Convention on Long-range Transboundary Air Pollution United Nations Economic Commission for Europe, the ICP-NWPC Steering Committee: G. Mills (UK), G. Ball (UK), J. Fuhrer (Switzerland), B. Sanchez-Gimeno (Spain), L. De Temmerman (Belgium): 42 str.
- Experimental protokol for the 2000 season of the ICP Vegetation (International cooperative programme on effect of air pollution on natural vegetation and crops). Wge – Working Group on Effects, Convention on Long-range Transboundary Air Pollution United Nations Economic Commission for Europe, ICP Vegetation Steering Committee: G. Mills (UK), F. Hayes (UK), J. Fuhrer (Switzerland), B. Sanchez-Gimeno (Spain), L. De Temmerman (Belgium): 21 str.
- Fagnano M., Zoina A. 1995. Ethylenediurea effect on productivity and phytosanitary status of bean. *Agricultural Meteorology, Special Volume*: 119-124
- Fagnano M., Merola G., Forlani A., Postiglione L., Fuhrer J. 2004. Monitoring yield loss from ozone pollution in a Mediterranean environment: A comparison of methods. *Water Air and Soil Pollution*, 155, 1-4: 383-398
- Floor H., Posthumus A.C., 1977. Biologische Erfassung von Ozon - und PAN - Immissionen in den Niederlanden 1973, 1974 und 1975. *VDI-Berichte*, 270: 183-190
- Foyer C.H. 1993. Ascorbic acid. Chapter 2. V: Antioxidants in higher plants. Alscher R.G., Hess J.L. (eds.), United States, CRC Press: 50-51
- Frame J., Newbould P. 1986. Agronomy of white clover. *Advances in Agronomy*, 40: 1-37
- Francini A., Nali C., Picchi V, Lorenzini G. 2007. Metabolic changes in white clover clones exposed to ozone. *Environmental and Experimental Botany*, 60, 1: 11-19
- Fridovich I. 1970. Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milk xanthine oxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, 245: 4053-4060
- Fuhrer J., Skärby L., Ashmore M. R. 1997. Critical levels for ozone effects on Vegetation in Europe. *Environmental Pollution*, 97, 1-2: 91-106
- Glasečnik E. 2004. Vpliv onesnaženega zraka na celične delitve v koreninskih vršičkih šalotke (*Allium cepa* L. var *ascalonicum*) na emisijsko ogroženih območjih Slovenije. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 199 str.
- Guderian R. 1970. Untersuchungen über quantitative Beziehungen zwischen dem Schwefelgehalt von Pflanzen und dem Schwefeldioxidgehalt der Luft. *Z Pflanzenkrankh Pflanzenschutz*, 77: 200-220
- Guri A. 1993. Variation in glutathione and ascorbic acid content among selected cultivars of *Phaseolus vulgaris* prior and after exposure to ozone. *Canadian Journal of Plant Sciences*, 63: 733-737
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C. 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Second Edition, Clarendon Press, Oxford: 543 str.

- Halliwell B. 2006. Reactive species and antioxidants; Redox biology is fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141: 312-322
- Hansen P.W. 1990. Pollution: Invisible thief of American agriculture. USA, Virginia, Arlington, National Office, Izaak Walton League of America: 27 str.
- Harmens H., Mills G., Hayes F., Williams P. and the participants of the ICP Vegetation, 2004. Air Pollution and Vegetation. UNECE ICP Vegetation, Annual Report 2003/2004. Bangor, UK: 48 str.
- Harmens H., Mills G., Hayes F., Jones L., Norris D., Fuhrer J. and the participants of the ICP Vegetation, 2007. Air Pollution and Vegetation. UNECE ICP Vegetation, Annual Report 2006/2007. Bangor, UK: 37 str.
- Hassan I.A., Tewfik I. 2006. CO₂ photoassimilation, chlorophyll fluorescence, lipid peroxidation and yield in cotton (*Gossypium hirsutum* L. cv Giza 65) in response to O₃. *World Review of Science, Technology and Sustainable Development*, 3, 1: 70-79
- Hayes F., Mills G., Harmens H., Norris D. 2007. Evidence of widespread ozone damage to vegetation in Europe (1990-2006). Centre for ecology and hydrology, Deiniol Road, Environment centre Wales, Bangor: 58 str.
- Heagle A.S., Miller J.E., Sherrill D.E. 1994. Atmospheric pollutants and trace gases: A white clover system to estimate effects of tropospheric ozone on plants. *Journal of Environmental Quality*, 23: 613-621
- Heagle A.S., Miller J.E., Chevone B.I., Dreschel T.W., Manning W.J., Mc Cool P.M., Morrison C.L., Neely G.E., Rebbeck J. 1995. Response of a white clover indicator system to tropospheric ozone at eight locations in the United States. *Water, Air & Soil Pollution*, 85: 1373-1378
- Heath R.L. 1980. Initial events in injury to plants by air pollutants. *Annual Review of Plant Physiology*, 31: 395-431
- Heath R.L. 1994. Alterations of plant metabolism by ozone exposure. V: Plant responses to the Gaseous Environment, molecular, metabolic and physiological aspects. R.G. Alscher, A.R. Wellburn (eds). UK, Chapman & Hall Inc.: 121-145
- Heath R. L., Pacher L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198
- Heggstad H. E., Bennet J. H. 1984. Impact of atmospheric pollution on agriculture. V: Air Pollution and Plant Life. M. Treshow (eds.). New York, John Wiley & Sons: 357-397
- Hočevar A., Petkovšek Z. 1988. Meteorologija osnove in nekatere aplikacije (tretja popravljena izdaja). Ljubljana, Partizanska knjiga, TOZD Založba: 219 str.
- Hogsett W.E., Tingey D.T., Holman S.R. 1985. A programmable exposure control system for determination of the effects of pollutant exposure regimes on plant growth. *Atmospheric Environment*, 19, 7: 1135-1145
- Holland M., Mills G., Hayes F., Buse A., Emberson L., Cambridge H., Cinderby S., Terry A., Ashmore M. 2002. Economic assessment of yield losses from ozone exposure. DEFRA Contract EPG 1/3/170, The UNECE International Cooperative Program on

- Vegetation, The Centre for Ecology and Hydrology (Natural Environment Research Council): 70 str.
- Holland M., Kinghorn S., Emberson L., Cinderby S., Ashmore M., Mills G., Harmens H. 2006. Development of a framework for probabilistic assessment of the economic losses caused by ozone damage to crops in Europe. The Centre for Ecology and Hydrology (Natural Environment Research Council): 50 str.
- Höglind M. 1992. White clover morphology and development. V: XIII Nordic Graduate Course in Crop Production. Helsinki, Finland: 1-16
- Hrček D. 1998. Promet - vse pomembnejši onesnaževalec zraka v Sloveniji. V: Naprej k naravi II. Zbornik referatov strokovnega posveta ekološkega foruma liberalne demokracije Slovenije in dokumenti foruma: 195-205
- Idso K.E., Idso S.B. 1994. Plant responses to atmospheric CO₂ enrichment in the face of environmental constraints: a review of the past 10 years' research. *Agricultural and Forest Meteorology*, 69: 153-203
- Innes J.L., Skelly J.M., Schaub M. 2001. Ozone and broadleaved species. *Ozon Laubholz- und Krautflanzen*. WSL, Haupt: 136 str.
- Iqbal M., Abdin M.Z., Mahmooduzzafar, Yunus M., Agrawal M. 1996. Resistance Mechanisms in Plants Against Air Pollution. V: *Plant Response to Air Pollution*. M. Yunus, M. Iqbal (eds.), England, John Wiley & Sons: 195-240
- Istraživanje olova, kadmija i cinka u dolini rijeke Meže. 1996. Prpić-Majić D. (ur.). Zagreb, Institut za medicinska istraživanja i medicine rada: 151 str.
- Jurkovnik M. 2001. Metode ugotavljanja vpliva onesnažil iz prometa na kmetijske rastline. Diplomaska naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 98 str.
- Kazalci okolja v Sloveniji. Emisije predhodnikov ozona. 2008a. Agencija republike Slovenije za okolje (28. feb. 2008).
http://kazalci.arso.gov.si/kazalci/index_html?Kaz_id=182&Kaz_naziv=Emisije%20predhodnikov%20ozona&Sku_id=7&Sku_naziv=ENERGIJA&tip_kaz=1#KAZALEC_TOP (3. jul. 2008)
- Kazalci okolja v Sloveniji. Intenzivnost emisij (CO₂, SO₂ in NO_x) iz proizvodnje električne energije in toplote v javnih termoelektrarnah in termoelektrarnah toplarnah. 2008b. Agencija republike Slovenije za okolje (27. feb. 2008).
[http://kazalci.arso.gov.si/kazalci/index_html?Kaz_id=179&Kaz_naziv=Intenzivnost%20emisij%20\(CO₂,%20SO₂%20in%20NOx\)%20iz%20proizvodnje%20električne%20energije%20in%20toplote%20v%20javnih%20termoelektrarnah%20in%20termoelektrarnah%20toplarnah%20&Sku_id=7&Sku_naziv=ENERGIJA&tip_kaz=1#KAZALEC_TOP](http://kazalci.arso.gov.si/kazalci/index_html?Kaz_id=179&Kaz_naziv=Intenzivnost%20emisij%20(CO%20SO%20in%20NOx)%20iz%20proizvodnje%20električne%20energije%20in%20toplote%20v%20javnih%20termoelektrarnah%20in%20termoelektrarnah%20toplarnah%20&Sku_id=7&Sku_naziv=ENERGIJA&tip_kaz=1#KAZALEC_TOP) (3. jul. 2008)
- Kelly N.A., Wolff G.T., Ferman M.A. 1984. Sources and sinks of ozone in rural areas. *Atmospheric Environment*, 21: 605-615
- Kerpen J., Faensen-Thiebes A. 1985. Bioindikator tabak Bel-W₃. *Staub-Reinhaltung der Luft*, 45: 127-131

- Kickert R.N., Krupa S.V. 1991. Modeling plant response to tropospheric ozone: a critical review. *Environmental pollution*, 70, (4): 271-383
- Kienzl K., Riss A., Vogel J., Hackl J., Götz B. 2003. Bioindicators and biomonitors for policy, legislation and administration. V: *Bioindicators & biomonitors. Principles, concepts and applications*. B.A. Markert, A.M. Breure, H.G. Zechmeister (eds.). Elsevier Science, First edition: 85-122
- Kimball B.A. 1992. Cost comparisons among free - air CO₂ enrichment, open-top chamber, and sunlit controlled-environment chamber methods of CO₂ exposure. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 11: 265-270
- Kimball B.A., Kobayashi K., Bindi M. 2002. Responses of agricultural crops to free-air CO₂ enrichment. *Advances in Agronomy*, 77: 293-368
- Klumpp A., Klumpp G., Domingos M. 1996. Bio-indication of air pollution in the tropics. *Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft*, 56: 27-31
- Klumpp A. 2002. Bioindication and air quality in European cities – an introduction. V: *Bioindication and Air Quality in European Cities – Research, Application, Communication*. A. Klumpp, A. Fomin, G. Klumpp, W. Ansel (eds.), Stuttgart, Verlag Günter Heimbach: 13-18
- Klumpp A., Ansel W., Klumpp G., Pickl C. 2000a. Internal manual of the European network for the assessment of air quality by the use of bioindicator plants (EuroBioNet). Modified from VDI: Draft of the guideline for the standardised exposure of tobacco (neobjavljeno).
- Klumpp G., Furlan C.M., Domingos M., Klumpp A. 2000b. Response of stress indicators and growth parameters of *Tibouchina pulchra* Cogn. exposed to air and soil pollution near the industrial complex of Cubatão, Brazil. *The Science of the Total Environment*, 246: 79-91
- Klumpp A., Klumpp G., Ansel W., Fomin A. 2002. European network for the assessment of air quality by the use of bioindicator plants – the first year of EuroBionet. V: *Bioindication and Air Quality in European Cities – Research, Application, Communication*. A. Klumpp, A. Fomin, G. Klumpp, W. Ansel (eds.), Stuttgart, Verlag Günter Heimbach: 37-55
- Klumpp A., Ansel W., Klumpp G., Vergneb P., Sifakisc N., Sanzd M. J., Rasmussene S., Ro-Poulsene H., Ribasf A., Peñuelasf J., Kambezidisc H., Heg S., Garrecg J. P., Calatayudd V. 2006a. Ozone pollution and ozone biomonitors in European cities Part II. Ozone-induced plant injury and its relationship with descriptors of ozone pollution. *Atmospheric Environment*, 40, 38: 7437-7448
- Klumpp A., Ansel W., Klumpp G., Calatayud V., Garrec J.P., Shang H., Peñuelasf J., Ribas A., Ro-Poulsen H., Rasmussen S., Sanz M.-J., Vergne P. 2006b. Ozone pollution and ozone biomonitors in European cities. Part I. Ozone concentrations and cumulative exposure indices at urban and suburban sites. *Atmospheric Environment*, 40, 40: 7963-7974
- Knabe W. 1982. Monitoring of air pollutants by wild life plants and plant exposure: suitable bioindicators for different immissions types. V: *Monitoring of air pollutants by plants*. L. Steubing, H.J. Jäger (eds.). The Hague, Dr. W. Junk Publishers: 59-71

- Kolar I. 1988. Umiranje smreke v gozdovih Šaleške doline. Zbornik gozdarstva in lesarstva, 34: 121-198
- Končnik D. 2002. Zrak (aerosoli). V: Primerjalna študija onesnaženosti okolja v Zgornji Mežiški dolini med stanji v letih 1989 in 2001. Velenje, ERICo Velenje, 2. zvezek: 27-53
- Kopušar N. 1996. Ocenjevanje vplivov in nastale škode zaradi fotooksidantov v zraku na kmetijske rastline v Zavodnjah. DP 132/96. Velenje, ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave: 47 str.
- Kopušar N. 1998. Ocenjevanje vplivov in nastale škode zaradi fotooksidantov v zraku na kmetijske rastline v Sloveniji. DP 263/98. Velenje, ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave: 58 str.
- Kopušar N. 2000. Ocenjevanje vplivov in nastale škode zaradi fotooksidantov v zraku na kmetijske rastline v Zavodnjah, Vnajarjih, Kovku in Žerjavu. DP-27/2000. Velenje, ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave: 63 str.
- Kopušar N., 2003a. Monitoring vplivov fotooksidantov in drugih zračnih onesnažil na kmetijske rastline na območjih termoenergetskih objektov v Sloveniji. DP 11/02/03. Velenje, ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave: 82 str.
- Kopušar N. 2003b. Vpliv zračnih onesnažil na rast in produkcijo izbranih vrst kmetijskih rastlin. Magistrsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 193 str.
- Kopušar N., Gomboc S., Batič F., Ribarič-Lasnik C. 2005. Občutljivost rastlin na ozon v interakciji s herbivori = Plant sensitivity to ozone in interaction to herbivores. V: J. Maček (ur.). 7. slovensko posvetovanje o varstvu rastlin / 7th Slovenian Conference on Plant Protection, 8.-10. mar. 2005, Zreče, Slovenija. Zbornik predavanj in referatov. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 416-422
- Kopušar N., Savinek K. 2001. Ocenjevanje vplivov in nastale škode zaradi fotooksidantov v zraku na kmetijske rastline v Vnajarjih, Kovku, Zavodnjah in Žerjavu. Delno poročilo DP 4/02/01. Velenje, ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave: 67 str.
- Kostka-Rick R., Manning W.J. 1993. Dynamics of growth and biomass partitioning in field-grown bush bean (*Phaseolus vulgaris* L.), treated with the antiozonant ethylenediurea (EDU). Agriculture, Ecosystems and Environment, 47: 195-214
- Kostka-Rick R., Hahn H.U. 2005. Biomonitoring mit Tabak Bel-W₃ liefert ergänzende Informationen zur Risikoabschätzung von Pflanzenschäden durch Ozon. Gefahrstoffe - Reinhaltung Luft, 65: 485-491
- Koppel A., Sild E. 1995. Bioindication of ozone in Estonia by using tobacco variety Bel W₃. Water, Air and Soil Pollution, 85: 1515-1519
- Košmelj K. 2001. Uporabna statistika. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 249 str.
- Krivec M. 2002. Vpliv zračnih onesnažil na uspevanje klonov plazeče detelje (*Trifolium repens* 'Regal') v Zavodnjah. Diplomsko delo, univerzitetni študij, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana: 44 str.

- Krupa S.V., Manning W.J 1988: Atmospheric Ozone: Formation and effects on vegetation. *Environmental Pollution*, 50: 101-137
- Kugonič N. 1998. Posnetek stanja onesnaženosti tal in rastlinskega materiala na območju Zgornje Mežiške doline. Velenje, ERICo Velenje, DP-313/98: 110 str.
- Kugonič N., Kopušar N. 2000. Garden soil and vegetable pollution assessment of Upper Meža valley (Slovenia). *Phyton (Horn)*, 40, 4: 117-121
- Kugonič N., Pokorny B. 2006. Impact of heavy metal pollution on soils and plants in the vicinity of the abandoned lead smelter in the Upper Meža Valley (Slovenia). *Mitgliedschaft Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft*, 73: 113-119
- Kuehler E.A., Flagler R.B. 1999. The effects of sodium erythorbate and ethylenediurea on photosynthetic function of ozone-exposed loblolly pine seedlings. *Environmental Pollution*, 105: 25-35
- Larcher W. 1995. *Physiological plant ecology*. Third edition. Berlin, Springer – Verlag: 506 str.
- Lazarini F., Brenčič J. 2004. Splošna in anorganska kemija. Visokošolski učbenik. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 557 str.
- Lee T.T. 1967. Inhibition of oxidative phosphorylation and respiration by ozone in tobacco mitochondria. *Plant Physiology*, 42: 691-696
- Leeuw F.A.A.M., Zantvoort E.D.G. 1997. Mapping of exceedances of ozone critical levels for crops and forest trees in the Netherlands: Preliminary results. *Environmental Pollution*, 96, 1: 89-98
- Leksikon Cankarjeve založbe. Okolje. 1985. Ljubljana, Cankarjeva založba, 2. izdaja: 357 str.
- Lepper P. 1992. Wirkungen luftgetragener Schadstoffe (SO₂, NO₂, O₃) auf antioxidative Systeme, Fettsauremuster und Frostresistenz von Kulturpflanzen. Frankfurt, Wissenschafts-verlag Maraun: 228 str.
- Levanič T., Slapnik A. 2006. Dendroekološka analiza rasti smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) v okolici dveh termoelektrarn. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 79: 3–18
- Lindqvist Y., Branden C.L., Mathews F.S., Lederer F. 1991. Spinach glycolate oxidase and yeast flavocytochrome b2 are structurally homologous and evolutionarily related enzymes with distinctly different function and flavin mononucleotide binding. *The Journal of biological Chemistry*, 266, 3: 198-207
- Likar M. 1998. Vodnik po onesnaževalcih okolja. Ljubljana, Zbornica sanitarnih tehnikov in inženirjev: 391 str.
- Logan J.A. 1985. Tropospheric ozone: Seasonal behavior, trends and antropogenic influence. *Journal of Geophysical Research*, 90: 1251-1266
- Loschen G., Azzi A., Richter C., Floheßp L. 1974. Superoxide radicals as precursors of mitochondrial hydrogen peroxide. *FEBS Letters*, 42: 68-72
- Malhotra S.S., Khan A.A. 1984. Biochemical and Physiological Impact of Major Pollutants. V: *Air Pollution and Plant Life*. M. Treshow (ed.). New York, John Wiley & Sons: 113-158

- Manning, W.J., Krupa, S.V. 1992. Experimental methodology for studying the effects of ozone on crops and trees. V: Surface Level Ozone Exposures and Their Effects on Vegetation. A. S. Lefohn (ed.). MI., Inc. Chelsea, Lewis Publishers: 93-156
- Manning W.J. 2003. Detecting plant effects is necessary to give biological significance to ambient ozone monitoring data and predictive ozone standards. *Environmental pollution*, 126: 375-379
- Marinček L., Čarni A. 2002. Komentar k vegetacijski karti gozdnih združb Slovenije v merilu 1:400.000. Ljubljana: ZRC SAZU, Biološki inštitut Jovana Hadžija: 79 str.
- McKersie B.D., Leshem Y.Y. 1994. Stress and stress coping in cultivated plants. The Netherlands, Kluwer Academic Publishers: 256 str.
- Mead R., Curnow R.N., Hasted A.M. 2002. Statistical methods in agriculture and experimental biology. Third edition. UK, London, Chapman and Hall: 492 str.
- Mehlhorn H., Seufert G., Schmidt A., Kunert K.J. 1986. Effect of SO₂ and O₃ on production of antioxidants in conifers. *Plant Physiology*, 82: 336-338
- Mežiška dolina. http://www.koroska.com/doline/meziska_dolina.html (5. avg. 2008)
- Mežiška dolina - Wikipedija, prosta enciklopedija, (6. nov. 2007)
http://sl.wikipedia.org/wiki/Me%C5%BEi%C5%A1ka_dolina (19. avg. 2008)
- Mills G., Hayes F., Jones M.L.M., Cinderby S. 2007. Identifying ozone-sensitive communities of (semi-) natural vegetation suitable for mapping exceedance of critical levels. *Environmental pollution*, 146, 3: 736-743
- Mikuš, T., Gomboc, S., Batič, F., Milevoj, L., 2004. Primerjava poškodb sesajočih škodljivcev in ozona na listih klonov plazeče detelje (*Trifolium repens* 'Regal'). *Acta agriculturae slovenica*, 83: 301-311
- Mitterhuber E., Pfanz H., Kaiser M.W. 1989. Leaching of solutes by the action of acidic rain: a comparison of efflux from twigs and single needles of *Picea abies* (L.) Karst. *Plant Cell and Environment*, 12: 93-100
- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Review. *Trends in plant science*, 7, 9: 405-410
- Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Van Breusegem F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Review. *Trends in plant science*, 9, 10: 490-498
- Mudd J.B. 1996. Biochemical Basis for the Toxicity of Ozone. V: Plant Response to Air Pollution. Yunus M., Iqbal M. (eds.). England, John Wiley & Sons: 267-283
- Musselman R.C., McCool P.M. 1987. Air pollution crop loss manual. USA, California, California department of food and agriculture, division of pest management, environmental Protection and worker safety, Branch of environmental monitoring and pest management: 37 str.
- Resolucija o nacionalnem programu varstva okolja 2005–2012 (ReNPVO). 2006. Ur. l. RS št. 2/2006: 17-105
- Protokol o zmanjševanju zakisljevanja, evtrofikacije in prizemnega ozona h konvenciji iz leta 1979 o onesnaževanju zraka na velike razdalje preko meja. Ur. l. RS št. 9/2004 : 3633-3663

- Nali C., Ferretti M., Pellegrini M., Lorenzini G. 2001. Monitoring and biomonitoring of surface ozone in Florence, Italy. *Environmental Monitoring and Assessment*, 69: 159-174
- Notar M., Loose A., Jankovič M., Jazbinšek-Seršen N., Avsenak Ž., Piltaver A. 2000. Okolje v Mestni občini Ljubljana. Poročilo o stanju okolja. Ljubljana, Zavod za varstvo okolja Mestne občine Ljubljana: 72 str.
- Nutritional disorders of plants. Development, visual and analytical diagnosis. 1992. Bergmann W. (ed.). New York, Stuttgart, Jena, Gustav Fischer Verlag Jena: 741 str.
- Nussbaum S., Geissmann M., Fuhrer J. 1995. Ozone exposure-response relationships for mixtures of perennial ryegrass and white clover depend on ozone exposure patterns. *Atmospheric Environment*, 29, 9: 989-995
- Odlok o območjih največje obremenjenosti okolja in o programu ukrepov za izboljšanje kakovosti okolja v Zgornji Mežiški dolini. Ur.l. RS, št. 119/07: 17181-17198
- Ogrin D. 1996. Podnebni tipi v Sloveniji. Ljubljana, Zveza geografskih društev Slovenije Geografski vestnik, 68: 39-56
- Orešnik K. 1995. Obnašanje ozona na merilni postaji Krvavec v obdobju od leta 1991 do leta 1994. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 73 str.
- Pačnik L. 1998. Vpliv fotooksidantov na zmanjšanje rasti in nastanek listnih poškodb pri plazeči detelji (*Trifolium repens* L.). Diplomaska naloga, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana: 93 str.
- Pačnik L., Batič F., Šircelj H. 1999. Impact of ozone on appearance of leaf injuries and change in selected biochemical parameters of white clover (*Trifolium repens* L.) = Vpliv ozona na pojav listnih poškodb in spremembe izbranih biokemičnih parametrov pri plazeči detelji (*Trifolium repens* L.). Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, 1: 123-134
- Pačnik L., Bienelli-Kalpič A. 2001. Raziskava gozdnega ekosistema na vplivnem območju Termoelektrarne Trbovlje. Letno poročilo. DP 3/02/01. Velenje, ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave: 74 str.
- Pačnik L., Batič F., Kopušar N., Ribarič-Lasnik C. 2003. Determination of heavy metal deposition at selected sites in Slovenia by white clover clones (*Trifolium repens* 'Regal'). V: Jeran Z. (ur.). 3rd International Workshop on Biomonitoring of Atmospheric Pollution (with emphasis on trace elements), Slovenia, Bled, 21.-25. sept. 2003. Ljubljana, J. Stefan Institute: 13.
- Pardini R.S. 1995. Toxicity of oxygen from naturally occurring redox-active pro-oxidants. *Archives of insect biochemistry and physiology*, 29: 101-118
- Pfeifhofer H.W. 1989. On the pigment content of Norway spruce needles infected with *Chrysomyxa rhododendri* and the carotenoids of fungi aeciospores. *European Journal of Forest Pathology*, 19: 363-369
- Peñuelas J., Ribas A., Gimeno B.S., Filella I. 1999. Dependence of ozone biomonitoring on meteorological conditions of different sites in Catalonia (N.E. Spain). *Environmental Monitoring and Assessment*, 56: 221-224

- Pell E.J., Brennan E. 1973. Changes in respiration, photosynthesis, adenosine 5-triphosphate, and total adenylate content of ozonated pinto bean foliage as they relate to symptom expression. *Plant Physiology*, 51: 378-381
- Pell E.J., Schlaghaufer C.D., Arteca R.N. 1997. Ozone-induced oxidative stress: Mechanisms of action and reaction. *Physiologia plantarum*, 100: 264-273
- Perl-Treves R., Perl A. 2002. Oxidative Stress: An Introduction. V: Oxidative stress in Plants. Inzé D. in Van Montagu M. (eds.). London and New York, Taylor & Francis: 1-32
- Pihl Karlsson G., Sellden G., Skarby L., Pleijel H. 1995. Clover as an indicator plant for phytotoxic ozone concentration: visible injury in relation to species, leaf age and exposure dynamics. *New Phytologist*, 129: 355-365
- Piltaver A. 2001. Kakovost zraka v Ljubljani. *ELES*, 5: 97-99
- Planinšek A. 1997. Onesnaženost zraka v Sloveniji v letu 1996. Ljubljana, Ministrstvo za okolje in prostor, Hidrometeorološki zavod Republike Slovenije: 146 str.
- Planinšek A. 2003. Spreminjanje ozonske luknje. Na Krvavcu so izmerili največ nevarnega ozona. *Dnevnik, Zelena pika*, (4. okt. 2003): 26-27
- Planinšek A. 2007. Kazalci okolja v Sloveniji. Onesnaženost zraka z ozonom (30. jan. 2007).
http://kazalci.arso.gov.si/kazalci/index_html?Kaz_id=22&Kaz_naziv=Onesnaženost%20zraka%20z%20ozonom&Sku_id=3&Sku_naziv=ZRAK&tip_kaz=1#KAZALEC_TOP (18. jul. 2008)
- Pleijel H. 2000. Ground-level ozone. A problem largely ignored in southern Europe. *Air pollution and climate*, 12: 28 str.
- Posthumus A.C. 1982a. Biological indicators of air pollution. V: Effects of Gaseous Air Pollution in Agriculture and Horticulture. M.H. Unsworth, D.P. Ormrod (eds.). London, Butterworth Scientific: 27-42
- Posthumus A.C. 1982b. Morphological symptoms and yield alteration as criteria of evaluation in the monitoring of effects of air pollutants with plants V: Monitoring of air pollutants by plants. Steubing L., Jäger H.-J. (eds). The Hague, Dr. W. Junk Publishers: 73-77
- Pokorny B. 2003. Notranji organi in rogovje srnjadi (*Capreolus capreolus* L.) kot bioindikatorji onesnaženosti okolja z ioni težkih kovin : Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo in gozdarstvo: 193 str.
- Pokorny B. 2006. Retrospektivni biomonitoring onesnaženosti ekosistemov Šaleške doline s svincem in fluoridi z uporabo rogovja srnjakov = Historical biomonitoring of environmental pollution with lead and Fluorides in the Šalek valley with the aid of roe deer antlers. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 80: 65-80
- Pokorny B., Glinšek A., Ribarič-Lasnik, C. 2004. Roe deer antlers as a historical bioindicator of lead pollution in the Šalek Valley, Slovenia. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 1-3, 49: 175-189

- Pokorny B., Zaluberšek M., Poličnik H. 2007. Roe deer as a bioindicator of environmental pollution with heavy metals, fluorides and polycyclic aromatic hydrocarbons: a Slovenian experiences. V: 8. evropski kongres o srnjadi. Pokorny B. (ur.), Savinek K. (ur.), H. Poličnik (ur.). Velenje: 38
- Poličnik H. 2008. Ugotavljanje onesnaženosti zraka s kartiranjem epifitskih lišajev in z analizo akumulacije težkih kovin. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 135 str.
- Poličnik H., Simončič P., Batič F. 2008a. Monitoring air quality with lichens: A comparison between mapping in forest sites in open areas. *Environmental Pollution*, 2, 151: 395-400
- Poličnik H., Levanič T., Pokorn, B. 2008b. Drevesne branike kot retrospektivni bioindikator časovnih sprememb v onesnaževanju okolja: poročilo za leto 2007. Velenje, ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave: 39 str.
- Poročilo o stanju okolja v Sloveniji 1996. Zrak. Poročevalec državnega zbora RS, 25, 33: 67-87
- Pungartnik T., Fajmut-Štrucl S. 2008. Mežica. ... v objemu Pece. Zgibanka. Občina Mežica in Turistično društvo Mežica: 2 str.
[http://www.mezica.si/dokumenti/objave/zgibanka_mezica_slo_1.pdf\(4.7.2008\)](http://www.mezica.si/dokumenti/objave/zgibanka_mezica_slo_1.pdf(4.7.2008)) in
[http://www.mezica.si/dokumenti/objave/zgibanka_mezica_slo_2.pdf\(4.7.2008\)](http://www.mezica.si/dokumenti/objave/zgibanka_mezica_slo_2.pdf(4.7.2008))
- Pravilnik o normativih, analitskih postopkih in metodah ugotavljanja onesnaženosti tal in vegetacije ter pogojih za uporabo nekaterih snovi v kmetijstvu in gozdarstvu. 1990. Ur. l. SRS št. 7-362/90: 416
- Pravilnik o monitoringu kakovosti zunanjega zraka. Ur. l. RS št. 36/07: 5106-5118
- Problem težkih kovin v Zgornji Mežiški dolini. Zbornik referatov. 1999. Ribarič-Lasnik C. (ur.), Pokorny B. (ur.), Pačnik L. (ur.). Črna na Koroškem, 23.-24. okt. 1998. Velenje, ERICo Velenje: 134 str.
- Program sanacije zgornje Mežiške doline v obdobju 2007-2008. Ravne na Koroškem (maj, 2007).
[http://www.mezica.si/dokumenti/objave/PROGRAM_SANACIJE_ZGORNJE_MEZISKE_DOLINE.pdf\(4.jul.2008\)](http://www.mezica.si/dokumenti/objave/PROGRAM_SANACIJE_ZGORNJE_MEZISKE_DOLINE.pdf(4.jul.2008))
- Protokol o zmanjševanju zakisljevanja, eutrofikacije in prizemnega ozona h konvenciji iz leta 1979 o onesnaženju zraka na velike razdalje preko meja. 2003. Ur.l. EU 11/Zv. 47, L173/3: 174-228
- Reichenauer T.G., Bolhàr-Nordenkampf H.R. 1999. Does Ozone Exposure Protect from Photoinhibition? *Free Radicals Research*, 31: 193-198
- Reiner C., Faensen-Thiebes A., Meyer G. 1985. Einsatz von *Nicotiana tabacum* L. Bel W₃. *Staub-Reinhaltung der Luft* 45: 59-61
- Rennenberg H. 1982. Gluthathione metabolism and possible biological roles in higher plants. *Phytochemistry*, 21: 2771-2781

- Rentschler I. 1973. Die Bedeutung der Wachstumsstruktur auf den Blättern für die Empfindlichkeit der Pflanzen gegenüber Luftverunreinigungen. V: Proc. 3rd International Clean Air Congress, VDI, Düsseldorf: A139-A142
- Resolucija o Nacionalnem programu varstva okolja 2005-2012 (ReNPVO). Ur. l. RS št. 2/06
- LRTAP Convention. 2007. Review of the Gothenburg Protocol. Report of the Task Force on Integrated Assessment Modelling and the Centre for Integrated Assessment Modelling. CIAM Report I/2007: 21-33
- Ribarič Lasnik C. 1996: Ugotavljanje stresa pri smreki (*Picea abies* (L.) Karsten) na osnovi biokemičnih analiz iglic na vplivnem območju Termoelektrarne Šoštanj. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 179 str.
- Ribarič Lasnik C. 2001. Biomonitoring gozdnega ekosistema po zmanjšanju emisije SO₂ iz TEŠ. Poročilo za leto 2000. DP 13/02/01. Velenje, ERICo Velenje, Inštitut za ekološke raziskave: 47 str.
- Ribarič Lasnik C., Pačnik L., Savinek K., Bienelli Kalpič A., Plut D., Bole M., Kugonič N., Beričnik Vrbovšek J., Petkovšek S., Pokorny B., Glasenčnik E., Pavšek Z. 2001. Onesnaženost okolja in naravni viri kot dejavniki razvoja v Zasavski regiji - modelni pristop. Končno poročilo. Velenje, ERICo Velenje: 141 str.
- Ribarič Lasnik C., Eržen I., Kugonič N., Pokorny B., Končnik D., Svetina M., Justin B., Druks P., Bole M., Rošer-Drev A., Vetric M., Flis J., Kotnik K., Mavsar R., Pačnik L., Savinek K. 2002. Primerjalna študija onesnaženosti okolja v Zagornji Mežiški dolini med stanji v letih 1989 in 2001. Velenje, ERICo Velenje, DP 24/02/02: 720 str.
- Rich P.R., Bonner, W.D.Jr. 1978. The sites of superoxide anion generation in higher plant mitochondria. Archives of Biochemistry and Biophysics, 188: 206-213
- Richard B.L., Middleton J.T., Hewitt W.B. 1958. Air pollution with relation to agronomic crops. Oxidant stipple of grape. Agronomy Journal, 50: 559-561
- Ruprecht H. 2001. Epifitski lišaj *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. kot indikator vnosa onesnažil iz termoelektroenergetskih objektov v ekosisteme. Diplomsko naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 87 str.
- Saitanis C.J., Karandinos M.G. 2001. Instrumental recording and biomonitoring of ambient ozone in the Greek countryside. Chemosphere, 44: 813-821
- Sandermann H., Wellburn A.R., Heath R.L. 1997. Forest Decline and Ozone. A Comparison of Controlled Chamber and Field Experiments. V: Ecological Studies, Analysis and Synthesis. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 127: 400 str.
- Sane P.V., Yunus M., Tripathi R.D. 1996. Impact of Ozone on Carbon Metabolism in Plants V: Plant Response to Air Pollution. Yunus M., Iqbal M. (eds.). England, John Wiley & Sons: 295-318
- Sanz J., Bermejo V., Gimeno B. S., Elvira S., Alonso R. 2007. Ozone sensitivity of the Mediterranean terophyte *Trifolium striatum* is modulated by soil nitrogen content. Atmospheric Environment, 41, 39: 8952-8962

- Saxe H. 1996. Physiological and biochemical tools in diagnosis of forest decline and air pollution injury to plants. V: Plant Response to Air Pollution. Yunus M., Iqbal M. (eds.). England, John Wiley & Sons: 449-487
- Saxe H. 1991. Photosynthesis and stomatal responses to polluted air, and the use of physiological and biochemical responses for early detection and diagnostic tools. *Advances in Botanical Research*, 18: 1
- Scholl G., Rudolph H. 1972. Ein expositionsgefäß für höhere pflanzen zur biologischen indikation von luftverunreinigung. *Wasser, Luft und Betrieb*, 16, 3: 96-97
- Schraudner M., Langebartels C., Sandermann H. 1997. Changes in the biochemical status of plant cells induced by the environmental pollutant ozone. *Physiologia planetarium*, 100: 274-280
- Schubert R. 1985. Bioindikation in terrestrischen ökosystemen. Gustav Fischer Verlag: 327 str.
- Seljak G. 2003. Obvladovanje karantenskih listnih zavrtalk (*Liriomyza* spp.) v Sloveniji. V: 6. slovensko posvetovanja o varstvu rastlin. Izvlečki referatov. 4.-6. marec 2003, Zreče, Slovenija. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 100-101
- Sharma Y.K., Davis K.R. 1997. The effects of ozone on antioxidant responses in plants. *Free radical in biology and medicine*, 23/3: 480-488
- Shinohara T., Yamamoto Y., Kitano H., Fukada M. 1973. Effects of temperature on ozone injury to tobacco. *Nippon Sakumotsu Gakkai Kiji, Proceedings of the Crop Science Society of Japan*, 42: 418-421
- Singh H.B., Ludwig, F.L., Jahson W.B. 1978. Tropospheric Ozone: concentrations and variabilities in clean remote atmospheres. *Atmospheric Environment*, 12: 2185-2196
- Skelly J.M., Innes J.L., Savage J.E., Snyder K.R., Vanderheyden D., Zhang J., Sanz M.J. 1999. Observation and confirmation of foliar ozone symptoms on native plant species of Switzerland and southern Spain. *Water, Air & Soil Pollution*, 11: 227-234
- Sklep o določitvi območij in stopnji onesnaženosti zaradi žveplovega dioksida, dušikovih oksidov, delcev svinca, benzena, ogljikovega monoksida in ozona v zunanjem zraku. Ur. l. RS št. 72/03: 11045-11048
- Slovenija - pokrajine in ljudje. Atlas Slovenije v sliki in besedi. 1998. D. Perko, M. Orožen Adamič (gl. ur.), besedila B. Brelec in sod.; Založba Mladinska knjiga: 735 str.
- Stress responses in plants: Adaptation and acclimation mechanisms. 1990. Alscher R.G., Cumming J.R. (eds). New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, Wiley-Liss: 407 str.
- Špes M. 1999. Vpliv lokalnih virov emisij in čezmejnega prenašanja onesnaženega zraka na kakovost okolja v alpskem ekosistemu Slovenije. The impact of local emission sources and transborder transmission of polluted air on the environmental quality of the alpine ecosystem. V: Sonaravni razvoj v slovenskih Alpah in sosedstvu. Gosar A. (ur.), Kunaver J. (ur.). Ljubljana, Oddelek za geografijo Filozofske fakultete, Dela, 13: 135-149

- Stanners D., Bourdeau P. 1995: Europe's Environment. The Dobris Assessment. European Environment Agency Task Force (European Commission: DG XI and Phare), Copenhagen: 27-56
- StatSoft Inc., 1999. Statistica for Windows 5.5 ('99 Edition). Tulsa, StatSoft: CD ROM
- Steubing L. 1982. Problems of bioindication and the necessity of standardization V: Monitoring of air pollutants by plants. Steubing L., Jäger H.-J.: 19-25
- Suzuki N., Mittler R. 2006. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction. *Physiologia plantarum*, 126: 45-51
- Svetina M. 1998. Geokemična študija vnosa kadmija v tla v Šaleški dolini. Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, NTF, Oddelek za geologijo, Ljubljana, 1999: 164 str.
- Šalej M. 1999. Historično - geografski oris Šaleške doline in njenega obrobja. V: Velenje - Razprave o zgodovini mesta in okolice. Stropnik I. (gl. ur.). Mestna občina Velenje: 11-37
- Šircelj H. 2001. Ugotavljanje sušnega stresa pri jablani (*Malus domestica* Borkh.) z izbranimi biokemičnimi in fiziološkimi kazalci. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 164 str.
- Šircelj H. 2008. Karotenoidi v fotosinteznem aparatu in odziv na stres. *Acta agriculturae Slovenica*, 91 - 1: 271-282
- Šircelj H., Batič F., Štampar F. 1999. Effects of drought stress on pigment, ascorbic acid and free amino acids content in leaves of two apple tree cultivars. *Phyton*, 39: 97-100
- Šircelj H., Tausz M., Grill D., Batič F. 2005. Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. *Journal of Plant Physiology*, 162: 1308-1218
- Šircelj H., Tausz M., Grill D., Batič F. 2007. Detecting different levels of drought stress in apple tree (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. *Scientia Horticulturae*, 113: 362-369
- Šuput D., Kamarić L. 1998. Prosti radikali. V: Izbrana poglavja iz patološke fiziologije. Ribarič S. (ur.), Ljubljana: 23-43
- Šušteršič A., Sevšek I., Vedenik Novak M., Vengust M. 1997. Emisije slovenskih termoelektrarn dve leti po sprejetju uredbe o emisiji snovi v zrak in kurilnih naprav. V: Zbornik 1. mednarodnega simpozija Sanacija termoenergetskih objektov. B. Dejanovič, C. Ribarič Lasnik (ur.), Rogaška Slatina, 28. - 30. maj, Društvo energetikov Šoštanj: 308-318
- Tarman K. 1992. Osnove ekologije in ekologija živali. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 547 str.
- Tausz M., Kranner I., Grill D. 1996. Simultaneous determination of ascorbic acid and dehydroascorbic in plant materials by High-Performance Liquid Chromatography. *Phytochemical analysis*, 7: 1-5
- Treshow M. 1984. Diagnosis of air pollution effects and mimicking symptoms. V: *Air Pollution and Plant Life*, Treshow M. (ed.). New York, John Wiley & Sons: 97-113

- Turrens J.F., Freeman B.A., Crapo J.D. 1982. Hyperoxia increases H₂O₂ release by lung mitochondria and microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 217: 411-421
- UN/ECE 1999. Annual Status Report for the ICP Vegetation, September 1998 – August 1999. UK, Institute of Terrestrial Ecology-Bangor Research Unit: 119 str.
- UNECE. United Nations Economic Commission for Europe, 1999. Protocol to the 1979 Convention on Long-Range Transboundary Air Pollution to Abate Acidification, Eutrophication and Ground-Level Ozone, Geneva (Switzerland): 63 str.
- Uredba o emisiji snovi v zrak iz nepremičnih virov onesnaževanja. Ur. l. RS št. 31/07: 4308-4325
- Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh. Ur. l. RS št. 68/96: 5773-5774
- Uredba o ozonu v zunanjem zraku. Ur. l. RS št. 8/03: 533-535
- Uredba o nacionalnih zgornjih mejah emisij onesnaževal zunanjega zraka. Ur. l. RS št. 24/05: 2103-2105
- Uredba o spremembi in dopolnitvi Uredbe o nacionalnih zgornjih mejah emisij onesnaževal zunanjega zraka. Ur. l. RS št. 92/07: 12337
- VDI 3792/5. VDI-Guideline 3792. Part 5. Standardization of sampling of leaves and needles from trees at their natural site. 1991. Berlin, Beuth Verlag: 12 str.
- VDI 3957/1. VDI-Guideline 3957. Part 1. Biological measuring techniques for the determination and evaluation of effects of air pollutants on plants. – Fundamentals and aims. 1999. Berlin, Beuth Verlag: 27 str.
- VDI 3957/2. VDI-Guideline 3957. Part 2. Biological measuring techniques for the determination and evaluation of effects of air pollutants on plants (bioindication). Method of standardised grass exposure. 2003. Berlin, Beuth Verlag: 28 str.
- VDI 3957/3. VDI-Guideline 3957. Part 3. Biological measuring techniques for the determination and evaluation of effects of air pollutants on plants (bioindication). Standardised exposure of green cabbage. 2000. Berlin, Beuth Verlag: 25 str.
- VDI 3957/5. VDI-Guideline 3957. Part 5. Biological measuring techniques for the determination and evaluation of effects of air pollutants on plants (bioindication). Standardised exposure of spruce. 2007. Berlin, Beuth Verlag: 16 str.
- VDI 3957/6. VDI-Guideline 3957. Part 6. Biological measuring techniques for the determination und evaluation of the effects of air pollutants on plants (bioindication) - Determination and evaluation of the phytotoxic effect of photooxidants. Method of the standardised tobacco exposure. 2003. Berlin, Beuth Verlag: 28 str.
- VDI 3799/1. VDI-Guideline 3799. Part 1. Measurement of immission effects - Measurement and evaluation of the phytotoxic effects of ambient air pollutants (immissions) with lichens. Mapping of lichens for assessment of air quality. 1995, Berlin, Beuth Verlag: 24 str.
- VDI 3799/2. VDI-Guideline 3799. Part 2. Measurement of immission effects - Measurement and evaluation of the phytotoxic effects of ambient air pollutants

- (immissions) with lichens. Method for standardized lichen exposure. 2003. Berlin, Beuth Verlag: 14 str.
- Velissariou, D. 1999. Toxic effects and losses of commercial value of lettuce and other vegetables, due to agricultural air pollution in agricultural areas of Attica Greece. V: Fuhrer, J. & Achermann, B. (eds.) Critical Levels for Ozone - Level II. Swiss Agency for Environment, Forest and Landscape. Bern: 253-256
- Vergé X., Chapuis A., Delpoux M., 2002. Bioindicator reliability: the example of Bel W₃ tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Environmental Pollution, 118: 337-349
- Vidregar Gorjup N. 1998. Bioindikacija onesnaženosti zraka v Zasavju. Magistrsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 170 str.
- Vidregar Gorjup N., Batič F., 1999. Naravne danosti, onesnaževanje okolja in stanje vegetacije na območju Zasavja.- Gozdarski vestnik, 57: 80-91
- Vukovich F.M., Bach W.D.Jr., Crissman B.W., King W.J. 1977. On the relationship between high ozone in the rural surface layer and high pressure systems. Atmospheric Environment, 11: 967-983
- Wieser G., Hasler R., Gotz B., Koch W., Havranek W.M. 2000. Role of climate, crown position, tree age and altitude in calculated ozone flux into needles of *Picea abies* and *Pinus cembra*: a synthesis. Environmental Pollution, 109: 415-422
- Wieser G., Havranek W. 1994: Stomatal Control of Ozone Uptake in Norway Spruce. Federal Research Station for Agriculture, Series 16: 236-239
- Winston G.W., Cederbaum A.I. 1983. Oxyradical production by purified components of the liver microsomal mixed-function oxidase system I: Oxidation of hydroxyl radical scavenging agents. The Journal of biological Chemistry, 258: 1508-1513
- Witting R. 1993. General aspects of biomonitoring heavy metals by plants. V: Plants as Biomonitors. Indicators for heavy metals in terrestrial environment. Market B. (ed.). VCH, Weinheim: 1-27.
- Wulff A., Hänninen O., Tuomainen A., Kärenlampi L. 1992. A method for open-air exposure of plants to ozone. Annales botanici Fennici, 29: 253-262
- Young A., Britton G. 1990. Carotenoids and stress. V: Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms. R.G. Alscher, J.R. Cumming (eds.). New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore: 87 str.
- Yunus M., Iqbal M. 1996. Plant Response to Air Pollution. England, John Wiley & Sons: 267-283
- Zakon o spremembah in dopolnitvah Zakona o varstvu okolja (ZVO-1B). Ur. l. RS št. 70/08: 9570-9588
- Zakon o varstvu okolja (ZVO-1). Ur. l. RS št. 41/04: 4818-4853
- Zakon o varstvu okolja (uradno prečiščeno besedilo) (ZVO-1-UPB1). Ur. l. RS št. 39/06: 4151-4189
- Zakon o ratifikaciji Protokola h Konvenciji iz leta 1979 o onesnaževanju zraka na velike razdalje preko meja glede nadzora nad emisijami dušikovih oksidov ali njihovih čezmejnih tokov (MPKOZV). Ur. l. RS št. 108/2005: 1373-1389

Zakon o ratifikaciji Protokola o zmanjševanju zakisljevanja, evtrofikacije in prizemnega ozona h Konvenciji iz leta 1979 o onesnaževanju zraka na velike razdalje preko meja (MPZZE). Ur. l. RS št. 9/04: 3601-3633

ZAHVALA

Med raziskovalnim delom sta mi bila s svojo veliko zakladnico znanja in s strokovnimi nasveti v odlično oporo mentor prof. dr. Franc Batič in v programu mladih raziskovalcev mentor doc. dr. Boštjan Pokorny. Zahvaljujem se doc. dr. Cvetki Ribarič Lasnik, ki je sprva kot somentorica, kasneje pa tudi kot članica komisije za zagovor, s predlogi doprinesla k boljši izvedbi disertacije. K večji kakovosti dela so pomembno prispevali z nasveti tudi predsednica komisije, prof. dr. Lučka Kajfež Bogataj, in član komisije, prof. dr. Marjan Veber.

Brez finančnih sredstev Javne agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije (financiranje usposabljanja mladih raziskovalcev) in Termoelektrarne Šoštanj (TEŠ) izvedba doktorske disertacije ne bi bila mogoča. Zahvala mag. Marku Mavcu, direktorju Inštituta za ekološke raziskave ERICo Velenje, in še posebej vodjema oddelka za raziskovalno dejavnost, doc. dr. Cvetki Ribarič Lasnik in kasneje doc. dr. Boštjanu Pokornem za vsakoletno skrb pri zagotavljanju potrebnih finančnih sredstev.

Zaradi prostorske in časovne obsežnosti raziskovalnega dela so mi pri terenskem delu pomagali mnogi sodelavci z Inštituta za ekološke raziskave ERICo Velenje; še posebej sem hvaležna za pomoč Anastaziji Vrbovšek, Karin Savinek, Borisu Jakobu, Stanetu Vanovšku, Leopoldi Pačnik in Meti Zaluberšek. Za konstruktivne debate o izvedbi laboratorijskih analiz se zahvaljujem mag. Juliji Beričnik Vrbovšek (takrat vodja laboratorija ERICo Velenje), Milojki Bedek, Darji Dimec in Urški Polak. V nalogi so prikazani rezultati laboratorijskih analiz aktivnosti encima superoksid dizmutaze; najlepša hvala Mateji Venišnik, ki je pomagala uvesti novo metodo določevanja aktivnosti encima superoksid dizmutaze, in Mitju Brglezu, ki je s svojo inovativnostjo pripomogel k tehnični izboljšavi spektrofotometrične aparature.

Gabrijelu Leskovcu (Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Agronomija, Katedra za aplikativno botaniko in fiziologijo rastlin) hvala za poslana semena tobaka sorte Bel W₃. Nasveti doc. dr. Helene Šircelj (Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Agronomija, Katedra za aplikativno botaniko in fiziologijo rastlin) so mi bili v veliko pomoč pri rokovanju z vzorci rastlinskega materiala in pri laboratorijskih analizah.

V nalogi smo uporabili meritve koncentracij zračnih onesnažil in meritve temperature zraka in relativne zračne vlage. Za to smo pridobili soglasja lastnikov teh meritev (Termoelektrarna Šoštanj, Termoelektrarna Trbovlje, Termoelektrarna toplarna Ljubljana in MO Ljubljana). Polurne meritve smo nato dobili v elektronski obliki od Elektro inštituta Milan Vidmar Ljubljana in Hidrometeorološkega zavoda Ljubljana oziroma kasneje po letu 2003 direktno od lastnikov. Vsem najlepša hvala za večletno sodelovanje. Hvala tudi Borisu Klančniku in dr. Eriki Glasenčnik za pomoč pri obdelavi meritev. Zahvaljujemo se PUP Vrtnarstvu Velenje, ki nam je (dokler nismo imeli svojega rastlinjaka) dovolilo uporabo njihovega rastlinjaka za vzgojo tobakovih rastlin, Vrtnarstvu Bolnišnice Topolšica, ker nam je odstopilo prostor za postavitve enega stojala z rastlinami znotraj njihovega pridelovalnega prostora, in za isto stvar hvala tudi družinama Rutnik (poskusno mesto Šmartno ob Paki) in Kočivnik (poskusno mesto Lipje).

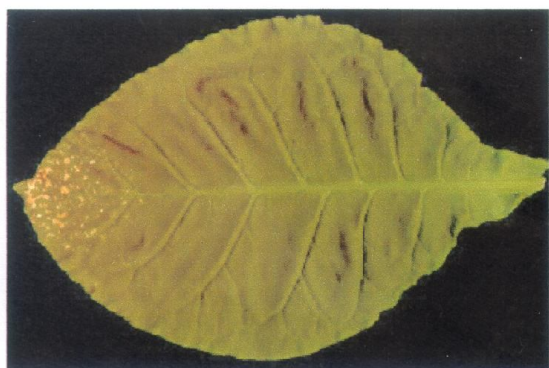
V okviru ICP Vegetation programa (International Cooperative Programme on Effects of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops) sem dobila vsako leto od matičnih rastlin stolone plazeče detelje sorta Regal, dveh na ozon različno odpornih klonov. Za priskrbljeni material sem hvaležna Gini Mills, Felicity Hayes in Harryju Harmensu (ICP Vegetation Koordinacijski center, Velika Britanija). Prof. dr. Andreasu Klumppu (Universität Hohenheim, Institut 320, Schloß Westflügel 70599, Stuttgart, Nemčija) se zahvaljujem za poslane protokole, ki so bili napisani za potrebe sodelujočih v okviru mednarodnega LIFE projekta »EuroBionet« in nasvete pri izvedbi poskusa s tobakom 'Bel W₃'.

Dijaka, Goran Stojaković in Anja Lampret, sta v času počitniškega dela v letu 2002 veliko pomagala pri terenskem in laboratorijskem delu, za njuno marljivost in zagnanost se jima toplo zahvaljujem. Za prijetno delovno druženje in vestno opravljeno delo v času opravljanja obvezne delovne prakse se zahvaljujem študentkama Biotehniške fakultete Ljubljana, smer Agronomija, Mateji Ročnik (v letu 2003) in Duški Tajnšek (v letu 2004). Hvaležna sem tudi vsem tistim drugim, ki so kakorkoli pripomogli k nastanku doktorske disertacije, pa sem jih morda pozabila omeniti in upam, da mi tega ne bodo zamerili.

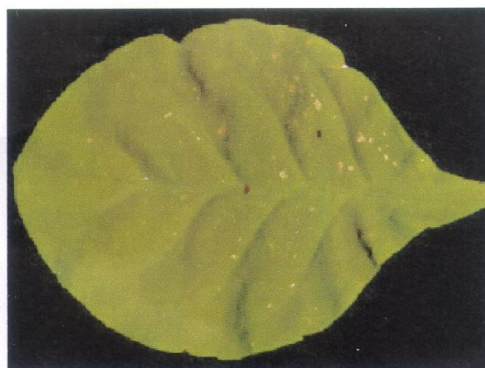
Iskrena hvala mojim in moževim staršem, ki so mnogokrat priskočili na pomoč pri varstvu otrok. Najtopleje pa se zahvaljujem za podporo svoji družini, možu Martinu in otrokom Nejcju, Timu in Tini.

PRILOGA A:

Ocenjevalni katalog ozonskih poškodb na listih tobaka sorte 'Bel W₃' (% - delež poškodovane listne površine).



2%



2%



5%



5%



7%



8%

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«



10%



10%



13%



15%



16%



17%

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«



19%



21%



24%



25%



28%



31%

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«



35%



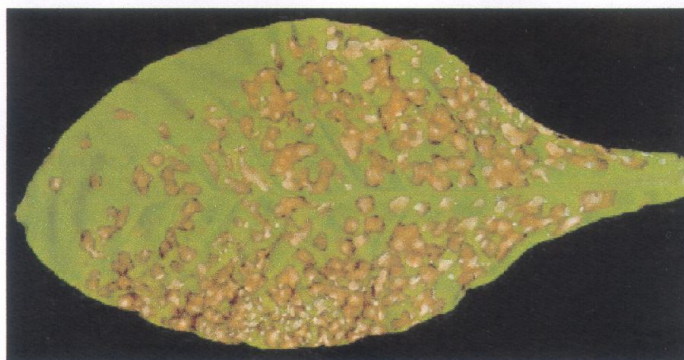
34%



37 %



44 %



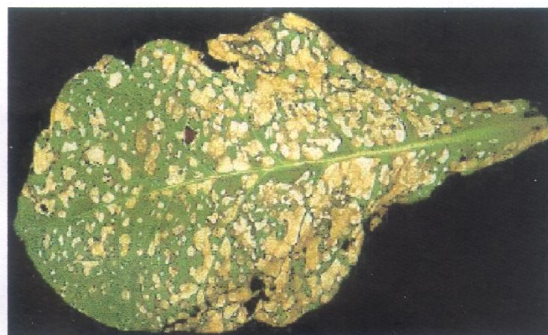
46%

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«



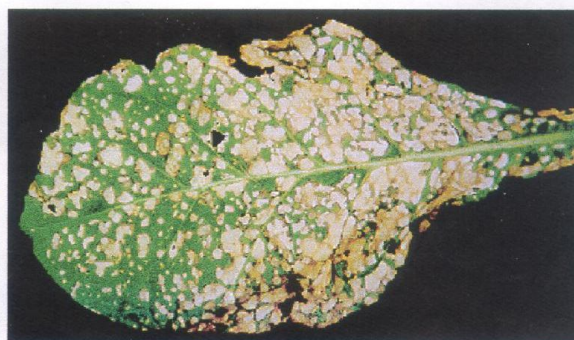
53 %



54%



60 %



61 %

PRILOGA B:

Obrazci za beleženje ozonskih poškodb na listih tobaka 'Bel W₃', plazeče detelje 'Milka' in nizkega fižola 'Berggold' izpostavljenih na stojalih ter za beleženje poškodb na listih tobaka 'Bel W₃' izpostavljenega v vkopanih loncih.

Popisal: KOPUŠAR N.
 Datum: 12.7.2002
 Zaporedna številka popisa: 1.

TOBAK (<i>Nicotiana tabacum</i> »Bel W ₃ «)					
Lokacija	Št. rastline	Številka lista			
		4.	5.	6.	7.
Zavodnje	1	50	5	0	0
	2	10	0	0	
	3	50	0	0	
	4	10	25		
	5	20	10		
	6	15	5	5	0
Šoštanj	1	15	5	0	0
	2	30	5	0	0
	3	5	0	0	
	4	25	5	5	0
	5	5	0	0	0
	6	5	0	0	
Topolšica	1	50	0	0	
	2	0	0	0	
	3	40	0	0	
	4	0	0	0	
	5	0	0		
	6	10	0	0	
Velenje-center	1	15	0	0	
	2	10	0	0	
	3	0	0	0	
	4	0	0	0	
	5	0	0	0	
	6	0	0	0	
Velenje-jezero	1	25	0	0	
	2	15	0	0	
	3	5	0	0	
	4	5	0	0	
	5	0	0	0	
	6	0	0	0	
Lipje	1	5	0	0	
	2	0	0	0	
	3	15	5	0	
	4	25	0	0	
	5	5	0	0	
	6	15	0	0	
Šmartno ob Paki	1	0	0	0	
	2	0	0	0	
	3	25	0	0	0
	4	50	5	0	0
	5	5	0	0	0
	6	50	0	0	0
Veliki vrh	1	5	0	0	
	2	20	0		
	3	80	15	0	
	4	50	25	0	
	5	25	0	0	
	6	50	0	0	
Graška gora	1	10	0	0	
	2	15	0	0	
	3	0	0	0	

»nadaljevanje«

	4	0	0	0	
	5	25	5	0	
	6	0	0	0	

Opis vzorčenja (način in za kakšen namen):

Na lokaciji Veliki Vrh so rastline manjše rasti,
domnevam zaradi nizkih temperatur in večji vetrovni
izpostavljenosti te lokacije.
Na lokaciji Soštanj je bilo potrebno rezervoar za
vodo ponovno napolniti.

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Popisal: KOPUŠAR N.
 Datum: 12.7.2002
 Zaporedna številka popisa: 1.

PLAZEČA DETELJA (<i>Trifolium repens</i> L.)								
Lokacija	Št. rastline	Razredi ozonskih poškodb						
		1 (0%)	2 (0-5%)	3 (5-15%)	4 (15-25%)	5 (25-50%)	6 (50-75%)	7 (75-100%)
Zavodnje	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
Šoštanj	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
Topolšica	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
Velenje-center	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
Velenje-jezero	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
Ligje	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
Šmartno ob Paki	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
Veliki vrh	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
Graška gora	1							
	2							

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

3							
4							
5							
6							

Opis vzorčenja (način in za kakšen namen):

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Popisal: KOPUŠAR N.
 Datum: 12.7.2002
 Zaporedna številka popisa: 1.

NIZEK FIŽOL (<i>Phaseolus vulgaris</i> L. »Rumenostročni Berggolde«)									
Lokacija	Št. rastline	Številka lista							
		1 (%)	2 (%)	3 (%)	4 (%)	5 (%)	6 (%)	7 (%)	8 (%)
Zavodnje	1	51	01	01	01				
	2	0	0	0	0				
	3	5	0	0	0				
	4	0	0	5	0				
	5	0	0	0	0	0			
	6	0	2	2	5	0			
Šoštanj	1	15	0	0	0				
	2	5	0	0	0				
	3	5	0	0	0				
	4	5	0	0	0				
	5	0	0	0	0				
	6	5	0	0	0				
Topolšica	1	50	0	10	5	0			
	2	50	0	5					
	3	30	5	5	0	0			
	4	50	10	25					
	5	30	0	0	0				
	6	50	10	0	5	0			
Velenje-center	1	5	2	0	0				
	2	80	10	5	0				
	3	0	0	0	0				
	4	5	0	0	0	0			
	5	0	0	0	0				
	6	20	0	0	0				
Velenje-jezero	1	10	5	0	0				
	2	25	<10	5	0	0			
	3	50	15	0	5	0			
	4	5	0	0	0				
	5	10	5	0	0	0			
	6	50	20	2	0	0			
Lipje	1	50	0	0	0				
	2	20	0	5	0				
	3	50	10	2	0				
	4	20	10	5	0	0			
	5	15	45	0	0				
	6	0	0	0	0				
Šmartno ob Paki	1	30	0	0	0				
	2	50	0	0	0				
	3	15	0	0	0				
	4	0	0	0	0				
	5	0	10	0	0				
	6	0	0	0	0				
Veliki vrh	1	5	30	0	0				
	2	5	0	0	0				
	3	15	5	0					
	4	5	0						
	5	7	5	0					
	6	30	5	0					
Graška gora	1	0	0	0					
	2	15	0	0					
	3	50	25	0					

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

	4	50	5	0					
	5	0	0	0					
	6	5	5	0					

Opis vzorčenja (način in za kakšen namen):

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Tobak v vkopanih loncih (ena rastlina)

Popisal: KOPUŠAR N.
 Datum: 24.7.2002 in 9.8.2002
 Zaporedna št. popisa: 1. in 3.

LOKACIJA	Številka lista	% ozonskih poškodb	
		24.7.2002	9.8.2002
LIPJE	1	75	90
	2	90	40
	3	25	25
	4	5	10
	5	0	0
	6	0	0
	7	0	0
	8	0	0
			0
			0
			0
			0
ZAVODNJE	1	75	80
	2	90	90
	3	5	30
	4	0	0
	5	0	0
			0
			0
			0
			0
ŠOŠTANJ	1	95	100
	2	90	90
	3	15	40
	4	5	20
	5	0	20
	6	0	5
	7	0	3
			0
			0
GRAŠKA GORA	1	0	100
	2	0	50
	3	0	10
	4	0	5
	5	0	0
	6	0	0
			0
			0

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

		21.1.2002	13.8.2002
TOPOLŠICA	1	0	} listi obarvani pošle od spodaj
	2	0	
	3	0	
	4	0	
	5	0	
	6	0	
	7	0	0
	8	0	0
	9	0	0
	10	0	0
	11	0	0
VELIKI VRH	1	0	50
	2	0	20
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
	6	0	0
	7	0	0
	8	0	0
ŠMARTNO OB PAKI	1	0	90
	2	0	90
	3	0	50
	4	0	50
	5	0	50
	6	0	0
	7	0	0
	8	0	0
	9	0	0
	10	0	0
VELENJE-center	1	0	ni listov
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
			0
			0
			0
			0
			0
			0

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

		24.1.2007	9.8.2007
VELENJE-jezero	1	0	celo rastline možna opojitev
	2	0	
	3	0	
	4	0	
	5	0	
	6	0	
	7	0	