

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Petra PLEŠA

**UČINKI POVEČANEGA UV-B SEVANJA NA IGLICE
SMREKE (*Picea abies*)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2007

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Petra PLEŠA

**UČINKI POVEČANEGA UV-B SEVANJA NA IGLICE
SMREKE (*Picea abies*)**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**THE EFFECTS OF ENHANCED UV-B RADIATION ON NEEDLES OF
NORWAY SPRUCE (*Picea abies*)**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2007

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija biologije. Opravljeno je bilo na Katedri za ekologijo in varstvo okolja Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani ter v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija dodiplomskega študija biologije je za mentorja diplomske naloge imenovala prof. dr. Alenko Gaberščik in za recenzenta prof. dr. Marino Dermastia.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: doc. dr. Barbara Vilhar
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
Članica: prof. dr. Marina Dermastia
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
Članica: prof. dr. Alenka Gaberščik
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora: 12. 1. 2007

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Petra PLEŠA

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)

ŠD Dn
DK 581.18:581.5:582.47(043.2)=863
KG iglavci/smreka (*Picea abies*)/UV-B sevanje/iglica/membrane/anatomija
AV PLEŠA, Petra
SA GABERŠČIK, Alenka (mentor)
KZ SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
LI 2007
IN UČINKI POVEČANEGA UV-B SEVANJA NA IGLICE SMREKE (*Picea abies*)
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP XI, 83 str., 25 sl., 8 pril., 80 vir.
IJ sl
JI sl/en

AI V nalogi smo ugotavljali učinke povečanega UV-B sevanja, ki je ustrezalo 17 % stanjšanju ozonske plasti, na štiriletne sejanke smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) pri različno starih iglicah. Rastline so bile izpostavljene dvema različnima nivojema UV-B_{BE} sevanja; povečani intenziteti UV-B dela spektra (UV-B+) in naravni intenziteti UV-B sevanja (UV-B). Z merjenjem sprememb v električni prevodnosti bidestilirane vode smo ocenili poškodovanost membran. Pri tem smo merili količino ionov, ki so izhajali iz celic s poškodovanimi membranami. Meritve smo opravili štirikrat; v decembra 2001 ter v marcu, maju in avgustu 2002. Merili smo tudi anatomske parametre iglice: višino in širino prečnega prereza iglice, premer centralnega cilindra, premer smolnih kanalov, debelino kutikule in povrhnjice, debelino sklerenhimskih celic, debelino mezofila, višino in širino celic povrhnjice in mezofilnih celic ter površinsko gostoto listnih rež. Rezultati raziskave povečanega UV-B sevanja kažejo trend večje poškodovanosti membran, vendar smo statistično značilne razlike izmerili le pri enoletnih iglicah v marcu in maju. Ugotovili smo, da so učinki povečanega UV-B sevanja na poškodovanost membran odvisni od starosti iglice in okoljskih razmer. Pri meritvah anatomskih parametrov iglic smo ugotovili, da je povečano UV-B sevanje statistično značilno učinkovalo na nekatere anatomske parametre pri posameznih starostnih razredih iglic, učinki na enoletne iglice pa so se razlikovali od učinkov na dveletne in triletno iglice. Najbolj očitne razlike so se pokazale pri mezofilu. Pri enoletnih iglicah smo opazili manjšo debelino mezofila in manjšo višino mezofilnih celic v primerjavi s kontrolo, medtem ko smo pri dveletnih in triletnih iglicah izmerili večjo debelino mezofila in večjo višino mezofilnih celic. Glede na izmerjene parametre sklepamo, da je možni vzrok manjšanje debeline enoletnih iglic v večji porabi ogljika za zaščitne mehanizme v povrhnjici, za ceno zmanjšanja fotosinteznega področja iglice. Večanje debeline dveletnih in triletnih iglic pa je lahko eden od možnih odgovorov na povečano jakost UV-B sevanja. Opazili pa smo tudi trend večje debeline sklerenhimskih celic, večjega premera centralnega cilindra, večje površinske gostote listnih rež pri vseh starostnih razredih iglic z UV-B+ obravnavanjem in večje debeline povrhnjice s kutikulo pri dveletnih in triletnih iglicah z UV-B+ obravnavanjem, vendar statistično značilnih razlik v primerjavi s kontrolo nismo izmerili. Rezultati štiriletne izpostavljenosti smreke povečanemu UV-B sevanju so pokazali, da je odpornost smreke odvisna od okoljskih razmer in razmer tekom ontogeneznega razvoja iglic. Kopičenja vplivov povečanega UV-B sevanja po štirih letih izpostavitve nismo zaznali.

KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)

DN Dn
DC 581.18:581.5:582.47(043.2)=863
CX conifers/Norway spruce (*Picea abies*)/UV-B radiation/needle/membranes/anatomy
AU PLEŠA, Petra
AA GABERŠČIK, Alenka (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Biology
PY 2007
TI THE EFFECTS OF ENCHANCED UV-B RADIATION ON NEEDLES OF
NORWAY SPRUCE (*Picea abies*)
DT Graduation Thesis (University studies)
NO XI, 83 p., 25 fig., 8 app., 80 ref.
LA sl
AL sl/en

AB In the present study we tried to define effects of increased UV-B radiation on the needles of different age classes of four-years old seedlings of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). Control plants were exposed to ambient daylight with natural level of UV-B radiation, whereas UV-B treated plants were grown at ambient daylight with additional UV-B radiation, corresponding to 17 % reduction of ozone layer. Examined parameters were injuries of needle cells' membranes and changes in needle anatomy. To estimate injuries of membranes the electrical conductivity of the distilled water with soaked needles was measured, assuming that the cells with damaged membranes would provide ion leak from the cells which would consequently increase the electrical conductivity of the distilled water. Measurements were taken in December 2001, March, May and August 2002. Beside the increased electrical conductivity of the distilled water with soaked needles, the anatomical parameters of the needles (height and width of cross-section of the needle, diameter of central cylinder, diameter of resin duct, thickness of epidermis and cuticle, thickness of hypodermis, thickness of mesophyll, height and width of epidermal and mesophyll cells and density of leaf stomata) were also measured. Despite the statistically significant differences were observed only in year old needles, measured in March and May, our results have shown the trend of frequently damaged membranes in all plants exposed to increased UV-B radiation. The results also suggest that the membrane injuries caused by increased UV-B radiation correlate with the age of needles and environmental conditions. The results of anatomical parameters revealed that increased UV-B radiation cause statistically significant influence on some of the parameters measured. However, the parameters vary in needles of different age classes. The most apparent differences were found in thickness of mesophyll. We noticed smaller thickness of mesophyll and smaller height of mesophyll cells in comparison with control group in one-year old needles, whereas in two- and three-years old needles, the mesophyll was thicker and the mesophyll cells were higher. It is also likely that the increase in thickness of two- and three-years old needles is one of possible reactions on increased UV-B radiation. We also noticed enlarged thickness of hypodermis, a larger diameter of central cylinder and enlarged density of leaf stomata in all age classes of needles, treated with UV-B+ radiation in comparison to the control group. According to results of four years exposure of Norway spruce to increased UV-B radiation, we conclude, that effects of UV-B radiation depend on co-occurring environmental circumstances during early developmental stages of needles, whereas the cumulative effects of UV-B radiation during four year of exposure were not proved.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key words documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo slik	VIII
Kazalo prilog	X
Okrajšave in simboli	XI
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 SPREMEMBE V ATMOSFERI	3
2.1.1 Atmosfera	3
2.1.2 Ozon	3
2.1.3 Sevanje v naravi in ultravijolično sevanje	4
2.1.4 Tanjšanje ozonske plasti v stratosferi in UV-B sevanje	5
2.1.5 Biološko aktivno UV sevanje	8
2.2 RASTLINE KOT TARČE UV-B SEVANJA	9
2.2.1 Prehajanje UV-B sevanja skozi rastlinsko tkivo	9
2.2.2 Učinki UV-B sevanja na celično zgradbo	10
2.2.3 Vpliv UV-B sevanja na procese v rastlini	13
2.2.4 Vpliv UV-B sevanja na morfološke in anatomske spremembe rastlin	15
2.2.5 Vpliv na rast in razvoj	16
2.3 UČINKI UV-B SEVANJA NA KOPENSKE EKOSISTEME	17
2.4 SKUPNO DELOVANJE UV-B SEVANJA IN DRUGIH STRESOV NA RASTLINE	18
2.4.1 Koncentracija atmosferskega CO₂	18
2.4.2 Vodni stres	19
2.4.3 Razpoložljivost nutrientov in mineralov	20
2.4.4 Težke kovine	20
2.4.5 Temperatura	20
2.4.6 Troposferski zračni polutanti	21
2.5 OBRAMBNI MEHANIZMI VIŠJIH RASTLIN PRED POŠKODBAMI ZARADI UV-B SEVANJA	21
2.5.1 Zaščitne strukture in notranja zgradba listov	22
2.5.2 UV-B absorbirajoče snovi	23
2.5.3 Fotosintezna barvila	23
2.5.4 Zaščitne snovi	23
2.5.5 Popravljanje poškodovane DNA	24

2.6	NAVADNA SMREKA (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.)	25
2.6.1	Taksonomska uvrstitev in botanični opis	25
2.6.2	Rastišče	26
2.6.3	Splošna razširjenost	26
2.6.4	Vloga v okolju	27
3	MATERIALI IN METODE	28
3.1	POSKUSNA RASTLINA	28
3.2	RASTNE RAZMERE PRI POSKUSU	28
3.3	MERITVE PREVODNOSTI	33
3.4	ANATOMSKE MERITVE	35
3.4.1	Na odtisih listne površine	35
3.4.2	Na preparatih	35
3.5	STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	38
4	REZULTATI	39
4.1	PREVODNOST	39
4.1.1	Rezultati meritev prevodnosti v decembru 2001	39
4.1.2	Rezultati meritev prevodnosti v marcu 2002	41
4.1.3	Rezultati meritev prevodnosti konec maja 2002	43
4.1.4	Rezultati meritev začetek avgusta 2002	45
4.1.5	Prevodnost raztopine po 10 minutah in 48 urah namakanja iglic	47
4.2	ANATOMSKE MERITVE	49
4.2.1	Premer iglice	49
4.2.2	Premer centralnega cilindra	50
4.2.3	Premer smolnega kanala	51
4.2.4	Debelina povrhnjice s kutikulo	52
4.2.5	Debelina sklerenhimskega hipoderma	53
4.2.6	Debelina mezofila	54
4.2.7	Velikost celic povrhnjice	55
4.2.8	Velikost mezofilnih celic	56
4.2.9	Površinska gostota listnih rež	59
5	RAZPRAVA	60
5.1	UČINKI RAZLIČNIH JAKOSTI UV-B SEVANJA NA POŠKODBE CELIČNIH MEMBRAN	60
5.2	UČINKI RAZLIČNIH JAKOSTI UV-B SEVANJA NA ANATOMIJO IGLIC	64
5.2.1	Mikroskopsko vidna notranja zgradba iglice navadne smreke	64
5.2.2	Mediani prečni prerez iglice	64
5.2.3	Premer centralnega cilindra	65
5.2.4	Premer smolnega kanala	66
5.2.5	Debelina povrhnjice s kutikulo	66
5.2.6	Debelina sklerenhimskega hipoderma	67
5.2.7	Debelina mezofila	67
5.2.8	Velikost celic povrhnjice	68
5.2.9	Velikost mezofilnih celic	68

5.2.10	Površinska gostota listnih rež	69
5.3	SKLEPI	70
6	POVZETEK	71
7	VIRI	74

ZAHVALA
PRILOGE

KAZALO SLIK

Slika 1:	Poskusne razmere z zmanjšanim (UV-B-), zunanjim (UV-B) in povečanim (UV-B+) obsevanjem UV-B v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani	30
Slika 2:	UV-B _{BE} sevanje v letu 1999	31
Slika 3:	UV-B _{BE} sevanje v letu 2000	31
Slika 4:	UV-B _{BE} sevanje v letu 2001	31
Slika 5:	UV-B _{BE} sevanje v letu 2002	32
Slika 6:	Povprečne mesečne temperature zraka, povprečne mesečne temperature tal, povprečne mesečne najvišje temperature zraka in povprečne mesečne najnižje temperature zraka v Ljubljani v letih med 1999 in 2003.	32
Slika 7:	Skupne mesečne količine padavin, povprečna mesečna relativna vlažnost zraka, mesečne vodne bilance in kumulativne vodne bilance v Ljubljani v letih med 1999 in 2003	33
Slika 8:	Prečni prerez iglice	37
Slika 9:	Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode konec decembra 2001 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.	40
Slika 10:	Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode konec marca 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.	42
Slika 11:	Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode konec maja 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.	44
Slika 12:	Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode začetek avgusta 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.	46
Slika 13:	Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode po 10 minutah namakanja enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglic smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja	48

Slika 14:	Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode po 48 urah namakanja enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglic smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.	48
Slika 15:	Višina in širina prečnega prereza iglic (mediano) pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja	49
Slika 16:	Premer centralnega cilindra pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.	50
Slika 17:	Premer smolnega kanala pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja	51
Slika 18:	Debelina povrhnjice s kutikulo pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja	52
Slika 19:	Debelina sklerenhimskega hipoderma pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja	53
Slika 20:	Debelina mezofila pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja	54
Slika 21:	Višina in širina celic povrhnjice pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja	55
Slika 22:	Višina in širina celic mezofila v prvi plasti pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja	56
Slika 23:	Višina in širina celic mezofila v drugi plasti pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja	57
Slika 24:	Višina in širina celic mezofila v tretji plasti pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja	58
Slika 25:	Površinska gostota listnih rež pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (<i>Picea abies</i>), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja	59

KAZALO PRILOG

- Priloga A: Preglednica rezultatov meritev spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode konec decembra 2001 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja .
- Priloga B: Preglednica rezultatov meritev spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode v marcu 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.
- Priloga C: Preglednica rezultatov meritev spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode v maju 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.
- Priloga D: Preglednica rezultatov meritev spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode v avgustu 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.
- Priloga E: Preglednica rezultatov meritev premera prečnega prereza iglic, smolnega kanala in centralnega cilindra pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.
- Priloga F: Preglednica rezultatov meritev debeline povrhnjice s kutikulo, sklerenhimskega hipoderma in mezofila ter površinske gostote listnih rež pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.
- Priloga G: Preglednica rezultatov meritev velikosti epidermalnih celic pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.
- Priloga H: Preglednica rezultatov meritev velikosti mezofilnih celic v prvi drugi in tretji plasti pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja.

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

c	current – tekoča vegetacijska doba
CFC	klorofluroogljiki
F - test	test analize variance
O ₃	ozon
PAR	fotosintezno aktivni del svetlobnega spektra (400-700 nm)
RAF	ojačitveni faktor sevanja (radiation amplification factor)
SD	standardna deviacija
t - test	dvosmerni Studentov T - test
UV	ultravijolični del svetlobnega spektra (200-400 nm)
UV-A	ultravijolični del svetlobnega spektra (320-400 nm)
UV-B	ultravijolični del svetlobnega spektra (280- 320 nm)
UV-B _{BE}	biološko učinkovito UV-B sevanje
UV-C	ultravijolični del svetlobnega spektra (200-280 nm)

1 UVOD

Za življenje na zemlji so poleg O₂, H₂O in sončne energije eksistenčno pomembni tudi atmosferski plini, ki so prisotni v neznatnih količinah in zato ob posegih človeka še bolj ranljivi. Med njimi je tudi ozon (O₃), ki v stratosferi tvori ozonsko plast ali ozonski ščit. Ta je zelo pomemben zaradi absorpcije organizmom nevarnega kratkovalovnega sončnega UV-sevanja in sodelovanja pri regulaciji temperatur zemeljske površine in atmosfere, saj O₃ absorbira del povratnega dolgovalovnega sevanja Zemlje. Nastanek ozonskega ščita je v evoluciji organizmov omogočil naseljevanje kopenskih življenjskih prostorov. V zadnjem desetletju je eden izmed okoljevarstvenih problemov o katerem največ govorimo tanjšanje ozonske plasti v stratosferi ter vse posledice, ki jih ta pojav povzroča v biosferi (Madronich in sod., 1998).

Problema zmanjševanja ozonske plasti v stratosferi smo se začeli zavedati šele pred približno 30 leti, potem ko smo v ozračje spustili že na milijone ton snovi, ki uničujejo ozonsko plast. Največji sovražniki ozona so klor-fluor-ogljikovodiki, bromove spojine in dušikovi oksidi (Björn, 1999).

Zemeljsko površje je izpostavljeno čedalje večjim intenzitetam UV-B sevanja, ki je posledica tanjšanja plasti ozona v stratosferi. UV sevanje vpliva na mnoge biološke in kemijske procese in je zelo škodljivo za organizme. Posebej zaskrbljujoče je naraščanje primerov kožnega raka, poškodbe oči, in drugih vplivov na zdravje ljudi in živali; poškodbe kopenske in morske vegetacije; spremembe v kemiji troposfere (npr. fotokemično nastajanje smoga) (Madronich in sod., 1998).

Primarni producenti so neposredno odvisni od sevanja kot vira energije in predstavljajo vir energije za druge organizme na zemeljski obli. Višje rastline so zaradi pritrjenega načina življenja zelo izpostavljene. Poškodbe na nivoju celice se pogosto izrazijo v spremenjeni rasti in razvoju organa ali organizma. Spremenjene lastnosti organizmov pomenijo spremenjena kompetitivna razmerja med vrstami, spremenjeno občutljivost rastlin za herbivore in patogene,

moteno dekompozicijo ter kroženje elementov. Vse skupaj vpliva na strukturo in funkcijo ekosistema. Tako se vpliv UV-B sevanja na celičnem nivoju odraža v kompleksnih spremembah na nivoju celotnega ekosistema (Gaberščik in Trošt, 2000).

Rastline se na povečano UV-B sevanje odzivajo specifično tako znotraj vrste kot med vrstami (de la Rosa in sod., 2003). Nekatere vrste so močno občutljive in se odzivajo z različnimi mehanizmi, ki blažijo možne škodljive učinke, druge so tolerantne, pri nekaterih pa ima povečano UV-B sevanje pozitiven vpliv. Dolgožive in počasi rastoče rastline, kakršna je smreka, lahko kopičijo negativne učinke sevanja, kar lahko negativno vpliva na lastnosti rastline (Sullivan in Teramura, 1992). Smreka je po podatkih iz leta 2001 skupaj z bukvijo naša najpogostejša drevesna vrsta. Z večjim ali manjšim deležem je prisotna v 83% naših gozdov (Brus, 2005). Poznavanje učinkov ultravijoličnega sevanja na smreko je zelo pomembno za predvidevanje morebitnih sprememb v gozdnih ekosistemih. Negativni učinek povečanega UV-B sevanja na smreko pa bi bil okoljsko precej bolj problematičen kot negativni učinek na manj razširjene rastlinske vrste.

V diplomski nalogi smo poskušali ugotoviti kakšni so učinki povečanega UV-B sevanja, ki ustreza 17% stanjšanju ozonske plasti, na iglice sejank navadne smreke, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju štiri leta.

Na podlagi dosedanjih raziskav smo postavili nekaj hipotez :

1. Povečano UV-B sevanje predstavlja stres za sejanke navadne smreke.
2. Pri večletnem obsevanju pri počasi rastočih rastlinah, kakršna je smreka, se negativni učinki kopičijo.
3. Odziv smreke na povečano UV-B sevanje bo povezano s stopnjo ontogeneznega razvoja iglice navadne smreke.
4. Povečano UV-B sevanje bo povzročilo spremembe v anatomiji iglice pri navadni smreki.
5. Povečano UV-B sevanje lahko poškoduje membrane celic iglic navadne smreke.

2 PREGLED OBJAV

2.1 SPREMEMBE V ATMOSFERI

2.1.1 Atmosfera

Atmosfera je plast plinov okrog zemlje. Sestavlja jo troposfera, stratosfera, mezosfera in termosfera (ionosfera). Ima pomemben vpliv na prodiranje sončnega sevanja do Zemljine površine. Troposfera je najnižja plast atmosfere, ki sega do višine 10 km nad tlemi in se zaključuje s tropopavzo. Naslednja plast je stratosfera do višine okoli 50 km nad tlemi, ki se zaključi s stratopavzo. Sledi ji mezosfera, ki sega od 50 do 85 km nad tlemi, ki se zopet zaključi z mezopavzo. Nad njo pa je termosfera do višine kakih 400 km (Rakovec in Vrhovec, 2000). Če celotno sevanje sonca predstavlja 100 %, se ga 25 % odbije od atmosfere, 25 % se ga absorbira v njej, 45 % ga preide do Zemlje in ga absorbira njena površina, 5 % pa sega odbije od površine.

2.1.2 Ozon

Je posebna alotropska oblika kisika. Molekula vsebuje tri atome kisika. Nastaja v troposferi in stratosferi (Batič in sod., 1999). Predstavlja le 0,000003 % vseh plinov zemeljskega ozračja. Stratosferski ozon predstavlja okoli 90 % celotnega O₃, preostalih 10 % pa je v spodnji, prizemeljski plasti atmosfere (Plut, 1998).

Izvor **troposferskega ozona** je lahko naraven in antropogen. Običajno se je nahajal v prizemni plasti v sledovih. V zadnjih 100 letih pa je njegova povprečna letna koncentracija zelo narasla. Povprečna letna koncentracija ozona v prizemnih plasteh troposfere narašča zaradi antropogenih vplivov, emisij snovi, iz katerih nastaja ozon (lahkohlapni ogljikovodiki, ogljikov oksid in dušikovi oksidi, ki izhajajo predvsem iz prometa in industrije...). Povišana koncentracija prizemnega ozona povzroča poškodbe na živih bitjih, ogroža njihovo zdravje in zmanjšuje prirastek kmetijskih in samoniklih rastlin (Batič in sod., 1999).

Stratosferski ozon je atmosferski plin. V stratosferi tvori ozonsko plast ali ozonski ščit, ki sega od 15 do 50 km nad površino Zemlje in dosega največjo koncentracijo 25 km nad Zemljo. Ta je zelo pomemben zaradi absorpcije organizmom nevarnega kratkovalovnega sončnega sevanja.

Nastanek ozonskega ščita je v evoluciji organizmov omogočil naseljevanje kopenskih življenjskih prostorov (Batič in sod., 1999). V ozonski plasti stratosfere je ena molekula ozona prisotna na 100 000 molekul kisika (O_2). Tako kot drugi plini je tudi O_3 v dinamičnem ravnovesju in se vedno znova vzpostavlja z različnimi cikličnimi procesi (Plut, 1998). Razporeditev ozona v ozračju je odvisna od nadmorske višine, zemljepisne širine in letnega časa. Na količino ozona pa vpliva tudi temperatura ozračja in plinov, ki sodelujejo v fotokemijskih reakcijah, pri katerih nastaja ali razpada ozon (Rode in sod. 2002). Naravno količino ozona v stratosferi in njeno spreminjanje med letom uravnava predvsem dva sklopa dogajanj; to so fotokemične reakcije z absorpcijo sevanja in vse kar je povezano z gibanjem zraka in s tem povezanim prenašanjem toplote in snovi iz kraja v kraj. V nekaterih plasteh ozračja je bolj pomembna ena, v drugih pa druga od obeh skupin mehanizmov (Rakovec, 2002). Če bi ves ozon v ozračju zbrali na morski gladini pri temperaturi 0 °C, bi dobili komaj 2-4 mm debelo plast, vendar pa ima za življenje na Zemlji pomembno vlogo, saj nas varuje pred nevarnim delom UV-sevanja (Rode in sod, 2002).

2.1.3 Sevanje v naravi in ultravijolično sevanje

Energija, ki ohranja življenje na zemlji, prihaja s sončnim sevanjem. Sončno sevanje je elektromagnetno valovanje različnih valovnih dolžin. Na površino zemlje pride svetloba valovnih dolžin od 290 nm do 3000 nm. Sončni spekter sestavljajo vidna svetloba (380-760 nm), gama žarki, rentgenski žarki, ultravijolično sevanje, infrardeči žarki, mikrovalovi in radijski valovi (Solomon in sod., 1993). Večina sončne energije je v vidnem (42,3 %) in infrardečem (49,4 %) delu spektra (Gibson, 1999). Količina sevanja, ki doseže zemeljsko površino, je odvisna od sestave atmosfere in dolžine poti sončnih žarkov skozi atmosfero, krajevno pa je količina sevanja odvisna od zemljepisne širine, nadmorske višine ter dnevnih in sezonskih časovnih nihanj. Na količino sevanja lahko v manjši meri vplivajo tudi oblaki, ki

navadno zmanjšujejo količino UV sevanja. Njihov učinek je odvisen od količine oblakov, pokritosti, sestave razporeditve in velikosti delcev v oblakih (Madronich, 1998).

Ultravijolično sevanje je del sončnega spektra z valovnimi dolžinami od 200 do 400 nm. UV del spektra razdelimo v več območij: UV-A sevanje (320-400 nm), UV-B sevanje (280-320 nm), UV-C sevanje (200-280 nm), daljno UV sevanje (120-200 nm) in ekstremno UV sevanje (10-120 nm) (Gibson, 1999). Ultravijolično sevanje nespremenjeno potuje od Sonca do vstopa v atmosfero, kjer se zaradi absorpcije in razpršitve na raznovrstnih molekulah plinov in prašnih delcev kvantitativno in kvalitativno spremeni. Ozon absorbira kratkovalovno sevanje, torej fotone, ki imajo veliko energijo in bi bili za organizme uničujoči (Nilsson, 1996). UV sevanje predstavlja manj kot 9 % celotne sončne energije. Od celotnega sončnega sevanja, ki pade na zemljo, lahko pripišemo 6,3 % UV-A delu in 0,5 % UV-B delu (Gibson, 1999), medtem ko se UV-C sevanje v celoti absorbira v stratosferi (Madronich, 1993).

Za absorpcijo v stratosferi je zelo pomembna ozonska plast, ki ščiti površino Zemlje pred premočnim UV sevanjem. Ozonska plast v stratosferi zadrži kar 2/3 UV-B sevanja, ki pride v stratosfero (Runeckles in Krupa 1994). Verjetno je prav ta plast omogočila življenje na Zemlji.

2.1.4 Tanjšanje ozonske plasti v stratosferi in UV-B sevanje

Spremembe količine skupnega ozona v ozračju so se dogajale že v prejšnjih obdobjih zemeljske zgodovine in so povsem naravne. Vendar se je pred pojavom nenaravnih ozonskih lukenj količina ozona letno spreminjala za približno ± 10 %. V zadnjih letih se količina ozona nad Antarktiko znižuje, vse večje pa so tudi letne spremembe; za približno ± 40 %. Tanjšanje ozonske plasti so opazili tudi nad Arktiko, ki pa je vsaj iz dveh razlogov manjše kot nad Antarktiko. Temperature so višje, zato je nastajanje polarnih stratosferskih oblakov manjše. Poleg tega je mešanje z ozonom bogatejšega zraka večje (Rakovec, 2002).

Zmanjšanje koncentracije ozona nad Antarktiko so opazili že leta 1975, vendar so podatke prvič objavili šele leta 1985, ko so ugotovili, da je bila oktobra in septembra koncentracija

ozona nad Antarktiko iz leta v leto manjša. Satelitske meritve so pokazale, da je območje izrazitega redčenja ostro omejeno, zato so pojav poimenovali ozonska luknja. Ta je najbolj izrazita nad Antarktiko, vendar se tudi nad severno poloblo ob koncu zime ozonska plast na zmernih širinah in više proti severu stanjša, a bistveno manj kot nad južnim polom. V Švici se po podatkih iz Arose ozonska plast vsakih deset let stanjša za 2,9 %, na območju ekvatorja pa koncentracija ozona upada zelo počasi ali sploh ne (Rode in sod, 2002). Za severno poloblo v zmernih geografskih širinah je bilo na osnovi satelitskih merjenj ugotovljeno, da je ozona najmanj ob koncu zime in zgodaj spomladi. Vendar pa je pot sončnih žarkov skozi atmosfero v tem času precej daljša kot poleti, zato je tako celotnega, kot tudi UV-B sevanja znatno manj (Rode in sod, 2002).

Znanstveniki že vrsto let ugotavljajo, da je tanjšanje ozonske plasti v stratosferi posledica škodljivega delovanja vrste snovi, predvsem pa plinov, ki se sicer nahajajo v opremi za hlajenje, klimatizacijo, sistemih za zaščito pred požari in gasilnih aparatih. Plini ob nenadzorovanem izpustu iz naprav in izdelkov potujejo do zgornjih plasti ozračja in se potem tam zadržujejo tudi po več desetletij. Ker vsebujejo klorove in bromove atome, le-ti reagirajo z molekulami ozona in jih s tem uničujejo. Vse snovi niso v enaki meri škodljive ozonu, njihov učinek na tanjšanje ozonske plasti merimo z dejavnikom škodljivosti, ki določen za vsako posamezno snov. Zato kljub intenzivnem opuščanju snovi, v prvi vrsti tistih z najvišjim dejavnikom škodljivosti, kot jih imajo klorofluorogljikovodiki (CFC) in haloni, predvidevajo, da si stratosferska plast ozona ne bo opomogla do leta 2050 (Rode in sod, 2002). Količina snovi, ki zmanjšujejo ozonsko plast v stratosferi naj bi dosegla višek okoli leta 2000. To pomeni, da je količina ozona blizu najnižje vrednosti odkar so se začele meritve, medtem ko je stopnja UV-B sevanja na zemeljski površini blizu maksimuma (Madronich, 1998). Za zaščito ozonske plasti je bil 16. septembra 1987 sprejet **Montrealski protokol** o snoveh, ki uničujejo ozonsko plast v stratosferi. V sporazumu so se dogovorili o omejitvah proizvodnje in uporabe kemikalij, ki škodujejo ozonski plasti, to so predvsem CFC-ji, brom vsebujoči halogenirani ogljikovodiki in dušikovi oksidi. Ob sprejetju ga je podpisalo 24 držav in EU, do leta 1997 pa ga je ratificiralo več kot 150 držav (French in sod., 1997). Države podpisnice so v tem

sporazumu določile, da do leta 2002 umaknejo iz proizvodnje in uporabe brom klor metan, do leta 2005 metil bromid, do leta 2030 halogenirane CFC-je. Svetovni dan ozonske plasti je 16. septembra (Brooks in sod., 2002).

Količino ozona v plasti zraka nad celotnim zemeljskim površjem merijo s sateliti (TOMS, TOVS), redne meritve opravljajo tudi na nekaterih mestih na zemeljski površini. Količino ozona merimo v Dobsonovih enotah (DU). 1 DU pomeni 0,01 mm visok stolpec ozona pri 0 °C in 1000 mb. Na voljo so dnevni podatki o količini ozona po celem svetu, ki jih dobimo s pomočjo satelitov (Kastelec, 2000). V Sloveniji se meritve koncentracije ozona v višjih plasteh ozračja oziroma njegove skupne količine v stolpcu zraka ne izvajajo, izvajajo pa se meritve UV-B dela sončnega sevanja. Količina UV sevanja je pozimi na naši geografski širini v povprečju 10-krat manjša kot poleti (Rode in sod, 2002).

Agencija RS za okolje že nekaj let od aprila do septembra dnevno objavlja napoved UV indeksa. UV indeks je mednarodno sprejeta in enotna mera za moč sončnega UV sevanja, ki povezuje energijski tok sončnega UV sevanja z občutljivostjo kože. Junija in v začetku julija UV indeks ob jasnem vremenu sredi dneva doseže najvišje vrednosti. V gorah je višji kot v nižinah, saj moč UV žarkov z nadmorsko višino narašča precej hitreje kot moč preostalega dela sončnega sevanja. V povprečju je na višini 2000 m 15 % več UV-B sevanja kot na morski obali (Rode in sod, 2002).

Za predvidevane **stopnje UV-B sevanja v prihodnosti** uporabljamo različne časovne lestvice. Za kratko časovno obdobje (nekaj dni ali tednov) so napovedi podobne napovedim vremena, kot količina pa se uporablja UV indeks. Pri predvidevanju za daljši čas (leta, desetletja, ali več) pa gre za ugibanja, zato so uporabna le v statističnem smislu. Kljub temu obstaja mnogo ugibanj o stanju ozonske plasti v prihodnosti. V najboljšem primeru bi se stopnja ozona obnovila na začetno stopnjo (leto 1985) v naslednjih 50 letih. Maksimalno zmanjšanje ozonske plasti in s tem maksimalna količina UV-B sevanja na zemeljski površini naj bi bila v tekočem desetletju (2000 – 2010), ozonska plast pa naj bi bila v najbolj ranljivem stanju še

naslednje stoletje. Maksimalno zmanjšanje in faza obnove ozonske plasti v stratosferi pa se zaradi interakcij z drugimi dolgoročnimi atmosferskimi spremembami, kot je npr. povečanje koncentracije toplogrednih plinov, lahko podaljša za desetletja. Zato je potrebno pri napovedih upoštevati dolgoročne spremembe v velikosti in sestavi ekosistemov, spremembe vzorcev obnašanja ljudi, migracije in demografske spremembe, spremembe pri globalnem onesnaževanju planeta, delovanju naravnih sil (veliki vulkanski izbruhi) in globalne spremembe klime ipd. (Madronich, 1998).

2.1.5 Biološko aktivno UV sevanje

Povečano UV-B sevanje ima na večino organizmov negativen vpliv, le pri redkih vrstah nima učinka ali pa je ta celo pozitiven. (Tosserams in Rozema, 1995). Merjenje intenzitete UV-B sevanja namreč ne zadošča za neposredno sklepanje na posledice za organizme, ker različne valovne dolžine različno vplivajo na strukturo in procese v celicah. Obseg delovanja UV-B sevanja na organizme ovrednotimo z akcijskimi spektri. UV-B akcijski spekter predstavimo s krivuljo, ki izraža relativno učinkovitost posamezne valovne dolžine pri proženju določenega biološkega odgovora. Če utežimo akcijski spekter s krivuljo UV-B spektra, ki doseže površino Zemlje, dobimo uteženi spekter sevanja (Diffey, 1991; Caldwell in Flint, 1997). Z integracijo vseh akcijskih spektrov dobimo krivuljo skupne biološke učinkovitosti sevanja UV-B ($UV-B_{BE}$). Velik fotobiološki vpliv UV-B sevanja na rastline in živali je posledica absorpcije v pomembnih bioloških molekulah, kot so proteini in nukleinske kisline (Jansen in sod., 1998). Krivulje biološke učinkovitosti sevanja UV-B, dobljene v raznolikih poskusnih razmerah, se med seboj nekoliko razlikujejo, ker je učinek UV-B sevanja na organizem odvisen tudi od razmer v okolju. Najpogosteje uporabljena je Thimijanova krivulja biološke učinkovitosti (Gaberščik in Trošt, 2000). UV-B krajših valovnih dolžin pušča na organizmih veliko večje posledice kot UV-B daljših valovnih dolžin. Tanjšanje ozona ima za posledico naraščanje količine UV-B sevanja (Caldwell in sod. 1982), sončni UV-B spekter pa se premakne v kratkovalovni del, zato naj bi $UV-B_{BE}$ močno narasel. Ta odvisnost biološko učinkovitega UV-B sevanja opišemo s faktorjem ojačanja (RAF – »radiation amplification factor«). Ta faktor nam pove, za koliko se poveča delež $UV-B_{BE}$, če se plast ozona stanjša za 1 % in je različen za

različne procese. Visoka vrednost faktorja RAF pomeni visoko občutljivost določenega procesa na spremembe debeline ozona (Madronich in sod. 1998; Björn, 1999).

Učinki UV-B sevanja se razlikujejo med vrstami, kot tudi med različicami znotraj vrste, ob istočasnem pojavljanju drugih stresnih faktorjev (npr. suša ali pomanjkanje hranilnih snovi) se lahko tudi spremenijo (Tosserams in Rozema 1995).

2.2 RASTLINE KOT TARČE UV-B SEVANJA

UV-B sevanje je za rastline stres, ki je lahko občasen ali dolgotrajen. V poskusih so sevalne razmere navadno drugačne kot v naravi. Večina raziskav o vplivu UV-B sevanja je bila kratkotrajnih, narejenih v nadzorovanih razmerah v laboratorijih, rastlinjakih in rastnih komorah, kjer je bilo UV-B sevanje zelo močno, UV-A sevanje in PAR pa prešibko. Občutljivost na UV-B sevanje je odvisna od intenzivnosti fotosintetskega aktivnega sevanja (PAR), pomembno pa je tudi razmerje PAR / UV-B / UV-A sevanja. Rastline so bolj občutljive na UV-B sevanje ob prisotnosti nižjega deleža UV-A in PAR. Izkazalo se je, da je pri poskusih pomembno vzpostaviti realistično razmerje med različnimi deli spektra, saj imata UV-A in vidni del spektra pri poškodbah rastlin zaradi UV-B sevanja blažilne učinke (Caldwell in sod., 1998).

2.2.1 Prehajanje UV-B sevanja skozi rastlinsko tkivo

UV-B sevanje v tkivu sestavlja direktni, razpršeni in odbiti del. Deleži so različni glede na anatomijo tkiva in vsebnost UV absorbirajočih snovi (Bornman & Vogelmann 1988). Strukturne in biokemijske spremembe, ki nastanejo pod vplivom povečanega UV-B sevanja, vplivajo na prehajanje UV-B sevanja v rastlinsko tkivo. Prehajanje UV-B sevanja pri različnih rastlinskih vrstah poteka različno, kar vpliva na različno občutljivost vrst. Prodiranje UV-B sevanja skozi rastlinsko tkivo je v primerjavi z lesnatimi dvokaličnicami in iglavci intenzivnejše pri zelnatih dvokaličnicah (Day in sod., 1992).

Listna epidermida predstavlja prvi filter za sevanje in predvsem učinkovito absorbira UV-B del spektra, vendar pa prepušča večji del fotosintezno aktivnega dela sevanja (PAR). Meritve pri različnih vrstah rastlin so pokazale, da mezofil doseže od 0 do 40% UV-B sevanja. Prehajanje UV-B sevanja se spreminja s starostjo lista. Epidermida odraslih listov zadrži več UV-B sevanja kot epidermida razvijajočih se listov, kar je povezano z večjo vsebnostjo UV-B absorbirajočih snovi pri popolnoma razvitih listih (Day in sod., 1996; Gaberščik in Trošt, 2000). Prepustnost lista za UV sevanje je odvisna tudi od okolja, v katerem se razvija. Listi, ki se razvijajo v senci, prepuščajo več UV-B kot sončni listi, kar je povezano z različno vsebnostjo UV-B absorbirajočih snovi in z debelino epidermide (Day in sod., 1996; Gaberščik in Trošt, 2000).

2.2.2 Učinki UV-B sevanja na celično zgradbo

Učinki so neposredni zaradi absorpcije UV-B fotonov ali posredni zaradi nastanka prostih radikalov. Na celičnem nivoju se odražajo v strukturi in funkciji organizmov in ekosistemov.

Škodljivo delovanje UV-B sevanja na **nukleinske kisline** je neposredno, fotokemično in posredno preko prostih radikalov, ki nastanejo zaradi absorpcije fotonov (Mackerness in sod., 1999). Poškodbe nukleinskih kislin se izražajo v motnjah pri podvojevanju DNA, prepisovanju RNA, ter zmanjšani izgradnji proteinov, kar posredno vpliva na spremembe biokemijskih in fizioloških procesov rastline. Manj pogosto pa spremembe DNA privedejo do mutacij (Björn, 1998).

Proteini imajo močno absorpcijo pri valovni dolžini 280 nm, prav tako kakor pri višjih valovnih dolžinah UV-B sevanja (Hollósy, 2002). Vpliv povečanega UV-B sevanja je neposreden, fotokemičen ali posreden preko poškodb molekul DNA. Neposredno delovanje je posledica absorpcije UV-B sevanja v aromatskih aminokislinah (Gaberščik in Trošt, 2000). Aminokisline fenilalanin, triptofan, tirozin, histidin, cistein in cistin so zato lahko direktne tarče UV sevanja (Hollósy, 2002). UV sevanje ne povzroča samo sprememb ali uničenja aminokislin, ampak lahko vodi tudi do inaktivacije celih proteinov ali encimov (Hollósy,

2002). Inaktivacija proteinov in encimov je lahko povzročena direktno z UV fotolizo aromatskih aminokislin ali disulfidnih skupin, če so prizadeti deli vključeni v aktivni predel. UV sevanje lahko vpliva na nižji nivo ali inaktivacijo hormona indol očetne kisline (IAA) in povzroča poškodbe encima RuBisCO, s tem pa posledično na njegovo zmanjšano aktivnost v fotosintetskem aparatu. Vpliva tudi na fotodegradacijo proteinov D1 in D2 (Gaberšček in Trošt, 2000).

Celice rastlin in živali so dobesedno napolnjene z **membranami**. Plazmalema, ki obkroža celoten protoplast, ne zadostuje za opravljanje vseh nalog glede na velikost celice. To nezadostnost pa kompenzirajo dodatne membrane, ki so na plazmalemo pripete ali vključene v organele. Dodatne membrane oblikujejo tudi oddelke, ki vzdržujejo različna okolja v celici. Membrane imajo strukturo modela tekočega mozaika, kjer so proteini mozaično vdani v tekoči fosfolipidni dvosloj. Fosfolipidi so orientirani s polarnimi – hidrofilnimi deli proti površinama membrane, z nepolarnimi – hidrofobnimi repi pa v notranjost, skrito pred okolno vodo. Taka struktura, osnovana na hidrofobno/hidrofilnih interakcijah, naj bi bila zelo stabilna in elastična. Membranski proteini so tudi delno hidrofobni in delno hidrofilni. V lipidno strukturo so zasidrani s hidrofobnimi aminokislinami. Membrane pa so izredno tanke - okoli 10 nm in asimetrične, kar pomeni, da se ena stran razlikuje od druge. Ta razlika izhaja predvsem iz ogljikovih hidratov, ki so pripeti na proteine na zunanji površini membrane (glikoproteini). Membrane nadzorujejo ali preprečujejo prehod nekaterih molekul, zato so različno izbirno ali selektivno prepustne. Večino funkcij membran nadzorujejo proteini. V plazmalemi je več kot 50 različnih proteinov in prav toliko v membranah organelov. Ta različnost proteinov se odraža v ogromnem številu dejavnosti, povezanih z membranami (Dermastia, 2006). Negativen vpliv UV-B sevanja je viden na celičnih in organelnih membranah (Farooq in sod., 2000). Poškodbe nastanejo zaradi foto-absorpcije v membrani, peroksidacije nenasičenih maščobnih kislin in spremenjenih struktur lipidov (Rozema in sod., 1997). Fosfolipidi in glikolipidi, ki so bistvene komponente rastlinskih celičnih membran, vsebujejo nenasičene maščobne kisline, ki jih UV-B sevanje poškoduje ob prisotnosti kisika. Oksidativna poškodba se lahko kaže kot lipidna peroksidacija. Peroksidacija membranskih lipidov vodi do uničenja

njihove strukture in funkcije (Hollósy, 2002). Pri kloroplastih lahko pride do dilatacije tilakoidnih membran, kar delno prispeva k zmanjšanju fotosintetske aktivnosti. Sestava membranskih lipidov v kloroplastih, kot so monogalaktosildigliceridi (MGDG) in digalaktosildigliceridi (DGDG), se lahko spremeni zaradi UV-B sevanja. Visoka stopnja nenasičenosti MGDG je pomembna za stabilnost membranske strukture v kloroplastih. Zmanjšanje razmerja MGDG / DGDG z UV-B sevanjem pa lahko vpliva na to stabilnost (Hollósy, 2002). Poveča se tudi prepustnost celične membrane za vodo in ione, predvsem za K^+ . Pri tem lahko pride do sprememb v prehajanju K^+ v celice zapiralke, zaradi česar se listne reže zaprejo (Gaberščik in Trošt, 2000). Izguba K^+ v celicah zapiralkah, kot posledica UV-B sevanja, je lahko vzrok za izgubo stomatarne prevodnosti, ki je bila opažena pri obsevanih rastlinah (Hollósy, 2002). UV-B vpliva tudi na spremembe v membranski fluidnosti, ker se ob povečanem UV-B sevanju delež nasičenih maščobnih kislin poveča, delež nenasičenih maščobnih kislin pa se zmanjša (Kramer in sod., 1991).

Tudi proteinske komponente rastlinskega **citoskeleta** so možne tarče UV sevanja (Hollósy, 2002). Rastlinski citoskelet je sestavljen iz filamentozne mreže. Sestavljajo jo mikrotuboli, aktinski filamenti in vmesni filamenti (Bornman in Teramura, 1993). Vpliv povečanega UV-sevanja, se kaže v spremenjeni organizaciji mikrotubulov, ter v podaljšanju nekaterih faz celičnega cikla (Gaberščik in Trošt, 2000). Tubulin, ki ima maksimum absorpcije pri 280 nm (Bornman in Teramura, 1993), je lahko še posebej občutljiv na UV-B sevanje, predvsem ker ima visoko vsebnost aminokislin s stranskimi aromatskimi verigami (Hollósy, 2002).

V notranjosti vsakega membranskega organela celica vzdržuje značilne kemične in fizikalne razmere, ki omogočajo izvajanje za organel specifičnih biokemijskih reakcij. V rastlinski celici so membranski organeli jedro, mitohondriji, plastidi, vakuole, endoplazemski retikel, Golgijev aparat in mikrotelesca. Med ostale celične strukture, ki ne vsebujejo membran, pa uvrščamo ribosome, citoskelet in celično steno (Vilhar, 2005). Povečano UV-B sevanje povzroči, da se poveča prepustnost membrane za vodo. Posledica tega je zmanjšana

viskoznost citoplazme in spremembe njenega gibanja. Lahko pride do spremenjene zgradbe **celičnih organelov** (Lichtscheidl–Schultz, 1985).

2.2.3 Vpliv UV-B sevanja na procese v rastlini

UV-B sevanje sproži regulatorne procese, na osnovi katerih se razvijejo fotomorfogenetske prilagoditve, ali pa pripeljejo do motenj v genski aktivnosti, fotosintezi, dihanju, sekundarnem metabolizmu, delitvi celic in elongaciji celic (Gaberščik in Trošt, 2000).

Vpliv na neto **fotosintezo** je različen, kar je posledica številnih dejavnikov, kot so odpornost rastline na UV sevanje, ontogenetska stopnja razvoja rastline in interakcije UV sevanja z drugimi dejavniki okolja (Bornman in Teramura, 1993). Ne glede na raznolikost področij, občutljivih na UV sevanje, naj bi bil fotosintetski aparat med najbolj pomembnimi tarčami UV-B sevanja v rastlinah. Njegove poškodbe predstavljajo velik in pomemben del celotne poškodovanosti, ki nastanejo zaradi UV-B sevanja.

Neposredni učinki na fotosintezo pri občutljivih rastlinah zaradi povečanega UV-B sevanja:

- oslabitev fotosistema II (PS II) in manjši obseg fotosistema I (PS I),
- manjša aktivnost encima RuBisCO,
- upadanje fiksacije CO₂ in sprostitve O₂,
- zmanjšanje suhe teže, vsebnosti škroba in vsebnosti klorofila (Hollósy, 2002).

Možni posredni učinki na fotosintezo pri občutljivih rastlinah zaradi povečanega UV-B sevanja pa so:

- povzročitev zapiranja listnih rež lahko zmanjša učinkovitost plinske izmenjave,
- spremembe v debelini in anatomiji lista lahko spremenijo svetlobno okolje znotraj lista,
- spremembe v morfologiji listne odeje lahko prav tako posredno učinkujejo na celo rastlinsko fotosintezo (Hollósy, 2002).

Na celično **dihanje** UV-B sevanje lahko deluje stimulatивно ali pa nanj nima vpliva. To potrjuje, da rastlina potrebuje v stresnih razmerah potrebuje več energije, ki si jo za celični metabolizem zagotovi z respiracijo v obliki ATP in NADH (Lukaszek in Poskuta, 1996). Rastlinam, ki so izpostavljene različnim stresnim dejavnikom, se poveča dihalni potencial. Z metodo ETS (aktivnosti elektronskega transportnega sistema) lahko na zanesljiv način ugotovljamo nivo dihalnega metabolnega potenciala pri rastlinah. Raziskave na modelnih rastlinah kot sta močvirska spominčica in lasastolistna vodna zlatica kažejo, da je aktivnost ETS v razmerah dodanega UV-B sevanja v srednjem in poznem poletju največja v razmerah povečanega UV-B sevanja. Rastlinam s povečanim odmerkom UV-B sevanja se je povečal dihalni potencial. Na ta način dobijo več energije, ki je nujno potrebna tako za povečano izgradnjo UV zaščitnih snovi, kot za blaženje učinkov. Izgradnja UV zaščitnih snovi je energetsko zahteven proces, večja zaloga energije pa je potrebna tudi za popravljalne mehanizme, ki učinkovito blažijo škodo, nastalo zaradi UV-B sevanja (Germ in Gaberščik, 2003).

Rastline se na povečano UV-B sevanje odzovejo različno. Nekatere rastline hitro rastejo in se izognejo močnemu sevanju zaradi samoosenčenja, druge izgrajujejo UV-B zaščitne snovi. Ne glede na način obrambe pa rabijo povečano količino energije, ki jim jo zagotavlja povečan dihalni potencial (Germ in Gaberščik, 2003).

Pri smrekah so na povečano UV-B sevanje najbolj občutljive mlade iglice v prvih tednih razvoja, ko UV-B absorbirajoče snovi in drugi zaščitni mehanizmi še niso popolnoma razviti. Pri starejših iglicah povečano sevanje ne povzroči značilnih razlik v fotosintezni aktivnosti, fotokemični učinkovitosti fotosistema II, v dihalnem potencialu, v vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi in fotosinteznih barvil v eni vegetacijski sezoni (Trošt in Gaberščik, 2001). Značilne razlike pa se pojavijo pri smrekah, ki rastejo v visokogorju, kjer so izpostavljene velikim odmerkom UV-B sevanja in drugim stresnim dejavnikom (Trošt, 2000).

2.2.4 Vpliv UV-B sevanja na morfološke in anatomske spremembe rastlin

Vpliv UV sevanja se kaže v morfoloških spremembah rastline, kot so velikost rastline, listna površina, debelina listov, razrast in fenologija. Te spremembe pa vodijo do sprememb strukture in funkcije ekosistemov (Rozema in sod., 1997). Makroskopski znaki škodljivega vpliva UV-B sevanja se kažejo pri občutljivih vrstah kot kloroze, ki ob trajanju izpostavljenosti povečanemu UV sevanju preidejo v nekroze, rjavenje listov in splošno zaostajanje v rasti (Smith in sod., 2000)

Pri povečanem UV-B sevanju se listna površina ter suha masa celotne rastline se zmanjša (Tevini in Teramura, 1989). Pri najbolj občutljivih vrstah se ob nizkem PAR listna površina zmanjša tudi za 60-70 % (Teramura in sod., 1983). Pri normalni intenziteti PAR pa odzivi niso tako veliki in se pri različnih vrstah razlikujejo. Povečano UV-B sevanje lahko tudi nima vpliva na listno površino ali pa se ta celo nekoliko poveča. Na zmanjšanje listne površine se mnoge rastline odzovejo s povečanjem debeline listov, zaradi česar se poveča specifična listna masa. Rastline so na UV-B sevanje najbolj občutljive v času prehoda med vegetativnim in reprodukcijskim obdobjem (Tevini in Teramura, 1989). Kakani in sodelavci (2003) so pri bombažu opazili povečano število palisadnih plasti pod povečanim UV-B sevanjem. Ob povečanju števila celic pride do povečanja površine celičnih sten, ki omejuje vstop UV sevanja do fotosintezno aktivnega mezofila.

Pogosto se pod vplivom UV-B sevanja totalna suha masa zmanjša (Brandle in sod., 1977, cit. po Teramura in sod., 1983). Čeprav obstajajo med vrstami velike razlike, je zmanjšanje biomase pogosto povezano s spremembami porazdelitve biomase po posameznih rastlinskih organih. Tako naj bi se pri dvokaličnicah pod vplivom UV-B povečal delež celotne biomase v listih (kljub zmanjšanju listne površine) in zmanjšal v steblih in koreninah. Kot pri raziskavah ostalih parametrov, so tudi za biomaso največje vplive UV-B opazili pri nizkih intenzitetah PAR v rastnih komorah ali zasenčenih rastlinjakih. V razmerah z naravno intenziteto PAR UV-B sevanje pogosto sploh ni imelo vpliva na totalno biomaso rastlin (Teramura, 1980).

Skupno število listnih rež se zaradi manjše površine lista zmanjša. Lahko pride do povečanega nalaganja epikutikularnih voskov ali pa se spremeni njihova kemijska sestava (Gonzales in sod., 1996).

2.2.5 Vpliv na rast in razvoj

UV sevanje različno učinkuje na rast in razvoj rastline, kar je odvisno od zaščitnih mehanizmov, ontogenetskega razvoja rastline in interakcij UV-B sevanja z drugimi dejavniki okolja (Bornman in Teramura, 1993). Razlike v rasti rastlin zaradi UV-B sevanja se torej pojavljajo zaradi različne občutljivosti vrst, v kombinaciji z mnogimi okoljskimi in biološkimi dejavniki, kot so mikroklima, škodljivci in kompeticija. Ti parametri se sezonsko spreminjajo, zato prihaja do različnih učinkov UV-B sevanja na rastline preko leta (Teramura in Sullivan, 1994). Rastline izpostavljene UV-B sevanju (simulacija 15 % zmanjšanja ozona), dosežejo manjšo višino. Elongacija stebela je najbolj občutljiv rastni parameter za UV-B sevanje. Ob povečanem UV-B sevanju se zmanjša suha masa stebel ter dolžina internodijev (Gaberščik in Trošt, 2000).

Spremembe pri nukleinskih kislinah in/ali **rastlinskih rastnih hormonih**, ki nastanejo zaradi UV sevanja, so verjetno glavni molekularni vzroki za spremembe v rasti, razvoju in cvetenju rastlin. Spreminjanje koncentracij rastlinskih rastnih hormonov vpliva na procese, ki so odvisni od njih. Pri sejankah sončnic je bila dokazana fotolitična degradacija IAA. Zmanjšana koncentracija hormona IAA je lahko vzrok, da je rast hipokotila zavirna. Fitohormon ABA (abscizinska kislina) v območju UV-B sevanja močno absorbira in se tako lahko inaktivira s fotolizo. Rast pa je lahko spodbujena z giberelini pri rastlinah, ki so bile obsevane z UV sevanjem. (Hollósy, 2002). UV-B sevanje pa povečuje tudi količino rastlinskega hormona etilena, ki stimulira radialno rast ter zavira podaljševanje poganjkov pri nekaterih vrstah (Caldwell in sod., 1998).

Pri proučevanju povečanega UV-B sevanja na rast in mitotsko aktivnost celic koreninskega meristema smrek so ugotovili, da se je po 3,5 letih obsevanja značilno zmanjšala mitotska

aktivnost, rast poganjka in iglic, pojavile pa so se tudi nekroze in kloroze iglic (Bavcon in sod., 1999).

2.3 UČINKI UV-B SEVANJA NA KOPENSKE EKOSISTEME

Povečano UV-B sevanje lahko vpliva na zgradbo in delovanje kopenskih ekosistemov posredno ali neposredno (Rozema in sod., 1997). Različni ekosistemi imajo različno občutljivost glede na heterogenost in odprtost (Gaberščik in sod., 2000).

Vpliv UV-B sevanja je viden v spremembi rastlinske morfogeneze in v sekundarnem metabolizmu rastlin. Na celotno primarno produkcijo v posameznih ekosistemih ni večjega vpliva, čeprav je rast nekaterih rastlinskih vrst zaradi povečanega UV-B sevanja zmanjšana. Zaradi raznolikosti vplivov UV-B sevanja na rast različnih rastlinskih vrst obstaja velika verjetnost, da bo prišlo do spremembe kompetitivnih odnosov. Zmanjšana rast občutljivejših vrst bo verjetno vodila v večjo zastopanost UV-B tolerantnih rastlin, ker bodo le-te imele na voljo več virov iz okolja. V ekosistemih pa zaradi spremenjenih kompeticijskih razmerij lahko pride do sprememb v vrstni sestavi organizmov (Caldwell in sod., 1998).

UV-B sevanje lahko zaradi fotokemičnih reakcij, kot je fotodegradacija odmrlega rastlinskega in živalskega materiala, pospeši razgradnjo rastlinskega materiala. Lahko pa razgradnjo zaradi negativnega vpliva na aktivnost mikrobov tudi zavre, poleg tega pa so rastlinski ostanki zaradi sprememb v kemijski sestavi bolj odporni (Björn, 1999). UV-B sevanje namreč lahko spremeni sekundarni metabolizem rastlin in s tem poveča vsebnost težje razgradljivih snovi v stelji, kar ima za posledico počasnejšo dekompozicijo (Rozema in sod., 1997) in spremembe v biogeokemičnih ciklih (Caldwell in sod., 1998).

UV-B sevanje vpliva tudi na število cvetov in čas cvetenja pri posameznih vrstah (Caldwell in sod., 1998). Povečano UV-B sevanje lahko prestavi čas cvetenja (odvisno od vrste) na

zgodnejše oz. kasnejše obdobje, zaradi česar pa rastlinske vrste ne bodo imele dovolj ustreznih opraševalcev v novem času cvetenja, tako zaradi odsotnosti žuželk kot zato, ker bodo druge vrste uspešnejše privabile opraševalce. Povečano UV-B sevanje lahko prestavi tudi čas dormance in celo senescence, ki je pomemben ne le za posamezne rastline, ampak tudi zato, v kakšnem odnosu so te rastline z drugimi rastlinami in živalmi (Rozema in sod., 1997; Caldwell in sod., 1998).

UV-B sevanje posredno vpliva tudi na rastlinojedce, saj lahko postanejo rastline zaradi povečane vsebnosti fenolnih substanc manj okusne. Rastlinojedci lahko spremenijo prehrabene navade, kar tudi vodi v spremembo vrstne sestave rastlin (Germ 2003, Johanson, 1997).

2.4 SKUPNO DELOVANJE UV-B SEVANJA IN DRUGIH STRESOV NA RASTLINE

Na rastline in druge organizme navadno vpliva več stresnih dejavnikov hkrati. Poleg povišanega UV-B sevanja se rastline sočasno odzivajo tudi na druge parametre. Kompleksno delovanje stresnih dejavnikov je bolj vidno na ekstremnih rastiščih, tudi v visokogorju. Rastline se tako odzivajo na več dejavnikov skupaj, kot so povečan atmosferski CO₂, vodni stres, razpoložljivost nutrientov in mineralov, težke kovine, temperatura in troposferski zračni polutanti. Vpliv UV-B sevanja je zaradi teh dejavnikov lahko močno povečan ali pa zmanjšan (Caldwell in sod., 1998).

2.4.1 Koncentracija atmosferskega CO₂

Vpliv UV-B sevanja na rastline je večji v kombinaciji s povečano koncentracijo CO₂ v zraku (Bornman in Teramura, 1993). Sočasno s povečano koncentracijo CO₂ v zraku smo pričali tudi povečani zračni temperaturi. Prvo študijo, ki je vključevala poleg povečanega UV-B sevanja še povečano koncentracijo CO₂ je opravil Teramura s sodelavci (1990, cit. po Caldwell in sod., 1998). Ugotovili so, da povečano UV-B sevanje v kombinaciji s povečano koncentracijo

CO₂ negativno vpliva na C₄ rastline, pri C₃ pa pridelek in biomasa ostaneta nespremenjena. CO₂ je namreč omejujoč faktor za C₃ rastline. Ob povečani koncentraciji CO₂ pride pri C₃ rastlinah do povečane fotosinteze in tako do povečane biomase, toda v kombinaciji s povečanim UV-B sevanjem ostane biomasa nespremenjena. Toda ob močno povečanem UV-B sevanju blažilni učinki povečanih koncentracij CO₂ izginejo. Sullivan in Teramura (1994b) sta ugotavljala interakcijo med UV-B in CO₂ pri boru (*Pinus taeda L.*). Sejanci so rasli pod povečanim UV-B sevanjem v kombinaciji s povečano koncentracijo CO₂. Po 22 tednih se je pokazalo, da visoka doza UV-B pri obeh koncentracijah CO₂ (350 in 650 µmol/mol) zmanjša celotno biomaso za približno 12 %. Pri 350 µmol/mol CO₂ prevladuje suha teža poganjka, medtem ko pri 650 µmol/mol CO₂ prevladuje suha teža korenine glede na celotno rastlino.

2.4.2 Vodni stres

Pridobivanje odpornosti rastlin na sušo zaradi povečanega UV-B sevanja je razvidno iz številnih člankov. Mehanizem medsebojnega vpliva suše in UV-B sevanja še ni pojasnjen. Pri soji UV-B sevanje vpliva preko razvoja rež ali izmenjave plinov na učinkovitejšo izrabo vode (Gitz in sod., 2005). V sušnih razmerah, kot tudi ob pomanjkanju nutrientov, so vplivi UV-B sevanja prikriti, po drugi strani pa lahko UV-B sevanje s spremembami v anatomiji povrhnjice ali nalaganjem voskov, z zmanjševanjem listne površine in z naraščanjem stomatalnih omejitev za fotosintezo deloma omili stres zaradi suše (Gitz in sod., 2005).

Zaznavanje UV-B sevanja (z UV-B receptorji v mezofilu) sproži fotomorfogetske odzive, ki predstavljajo adaptivne prednosti v sušnih razmerah. Spremembe v stomatalni prevodnosti brez zmanjšane asimilacije povečajo učinkovitost izrabe vode in zagotavljajo odpornost na sušo (Gitz in sod., 2005). UV-B sevanje je močnejši stresni dejavnik, ki - kot suša - vpliva na fotosintezo in rast, toda ko povečano UV-B sevanje nastopa v sušnih razmerah, so njegovi učinki neizraziti v primerjavi z dobro zalitimi rastlinami (Kakani in sod., 2003).

2.4.3 Razpoložljivost nutrientov in mineralov

Rastline za normalno rast in razvoj potrebujejo 16 esencialnih elementov, ki so udeleženi v različnih fizioloških procesih. Pomanjkanje posameznega elementa zaviralno deluje na določene procese, kar se izraža v ovirani rasti in razvoju rastline. Nekatere rastline, ki so pod stresom zaradi pomanjkanja mineralov, so bolj občutljive na UV-B sevanje, druge pa manj (Caldwell in sod., 1998). UV-B sevanje se odraža v spremenjenih koncentracijah fosforja, magnezija, železa in cinka v rastlinah. Pri žitu se koncentracija fosforja v listih in steblih zmanjša, poveča pa se v klasju in zrnju (Yue in sod., 1998). Povečanje UV-B sevanja lahko spremeni sprejem in transport mineralnih snovi po rastlini. Razpoložljivost mineralnih snovi v rastlini pa lahko vpliva na občutljivost rastline na UV-B sevanje. Koncentracija dušika se ob povečanem UV-B sevanju lahko poveča, kar pa je povezano z manjšo herbivorijo s strani žuželk (Caldwell in sod., 1998).

2.4.4 Težke kovine

Težke kovine, kot so kadmij, nikelj, baker in svinec, ki se zaradi človekovega delovanja kopičijo v visokih koncentracijah, so za rastline toksične. Pri rastlinah, ki rastejo v zemlji onesnaženi s kadmijem, povečano UV-B sevanje zmanjša vsebnost klorofila, fotosintezo, biomaso in pridelek (Shukla in sod., 2002).

2.4.5 Temperatura

Sočasno s povečano koncentracijo CO₂ v zraku se povišuje tudi zračna temperatura. Le-ta ob istočasnem povečanem UV-B sevanju lahko na rastline vpliva pozitivno. Znani pa so tudi podatki o negativnem vplivu povečane temperature na encimske procese (Teramura in Sullivan, 1994).

2.4.6 Troposferski zračni polutanti

Raziskave o vplivu povečanega UV-B sevanja na organizme v kombinaciji s povečano koncentracijo CO₂ ter antropogeno nastalimi plini kot so CFCs, N₂O in CH₄ in večjo temperaturo v ozračju, so v današnjem času nujne. Naraščanje troposferskega ozona je ravno tako ena od resnih težav za rastline. V mnogih primerih je rezultat onesnaženja. Povečana vsebnost ozona v troposferi zmanjša prodiranje UV žarkov, vendar je kompenzacijski učinek verjetno minimalen. Rastline so izmenoma izpostavljene stresu povečane vsebnosti ozona v ozračju in povečanemu UV-B sevanju (Teramura in Sullivan, 1994).

2.5 OBRAMBNI MEHANIZMI VIŠJIH RASTLIN PRED POŠKODBAMI ZARADI UV-B SEVANJA

Nastanek ozonske plasti, ki deluje kot zunanji zaščitni filter v stratosferi, je z absorpcijo škodljivega UV-C in delno absorpcijo škodljivega UV-B dela sončnega spektra omogočil evolucijo kopenskih rastlin. Vsi fotosintezni organizmi, ki so v naravnih habitatih sočasno izpostavljeni stalnim virom vidnega in UV sevanja, so razvili mehanizme zaščite, ki preprečujejo nastanek škodljivih učinkov UV sevanja (Sinha in Häder, 2002). Rastline so skozi evolucijo razvile različne obrambne mehanizme, ki jim pomagajo preživeti v stresnih razmerah. Na povečano UV-B sevanje se odzivajo na dva načina. UV-B občutljive rastline se škodljivim učinkom UV-B sevanja izognejo z zaščito, UV-B tolerantne rastline pa imajo poleg zaščitnih tudi učinkovite popravljalne mehanizme (Rozema in sod., 1995). Vendar v številnih primerih ni jasno, ali ima odgovor rastline zaščitno vlogo, ali pa gre le za posledico poškodbe zaradi stresa. Prepoznavanje zaščitnih odgovorov, ki se razvijejo pod vplivom UV-B sevanja, je zapleteno zaradi kompleksnega delovanja različnih dejavnikov okolja (Gaberščik in Trošt, 2000).

2.5.1 Zaščitne strukture in notranja zgradba listov

UV-B sevanje mora prodreti v rastlino do občutljivih področij in se absorbirati v kromatoforih, da je lahko učinkovito pri spreminjanju rastlinske biokemije, fiziologije ali produkcije. Ker je povrhnjica prva celična plast, ki prestreže sevanje, ima možnost spremeniti kvaliteto in kvantiteto vpadne svetlobe (Hollósy, 2002), zato predstavlja pomembno zaščitno pregrado proti škodljivim učinkom UV sevanja (Tevini in sod., 1991). Povrhnjica vsebuje UV absorbirajoče snovi in tako lahko igra zaščitno vlogo proti UV sevanju (Hollósy, 2002). Specializirane celice povrhnjice so tudi laske (trihomi). To so eno ali večcelične, enostavne ali razvejane strukture z različnimi nalogami. Mrtvi laske na površini odbijajo svetlobo in zmanjšujejo segrevanje listov in oddajanje vode (Dolenc Koce, 2004). Mladi, razvijajoči se listi so poraščeni (kosmati) na obeh straneh lista, odrasli pa na adaksialni strani trihome povsem izgubijo, medtem ko se na aksialni strani lista število trihomov zmanjša (Hollósy, 2002).

Epikutikularni voski, zmes visoko nepolarnih lipidov, prispevajo k večjemu odboju sevanja. Ekološki pomen imajo predvsem pri rastlinah visokih nadmorskih višin, kjer je intenziteta sevanja velika. Voščena plast odbije 10-20 % UV sevanja, ki pade na list. UV-B sevanje vrstno specifično vpliva na debelino in na kemijsko zgradbo voskaste prevleke. Poskusi na iglavcih niso pokazali povečane sinteze voskov, pač pa spremenjeno kemijsko sestavo (Gordon in sod., 1998). Poleg UV in vidnega sevanja, na izgradnjo epikutikularnih voskov vplivajo še drugi dejavniki, kot so temperatura in relativna zračna vlaga (Gaberščik in Trošt, 2000).

Do zmanjšanja prodiranja UV-B sevanja do tarčnih mest lahko pride tudi zaradi povečanja **specifične mase listov** (Teramura in Sullivan, 1994) ali **debeline lista**, ki poveča pot žarkov do občutljivih mest v listu (Bornman in Teramura, 1993). Podaljšanje in povečanje števila celic v notranjosti lista vodi v strukturne spremembe palisadnega in gobastega tkiva, kar lahko spremeni prodiranje in spektralno porazdelitev UV sevanja v listu (Caldwell in sod., 1995).

2.5.2 UV-B absorbirajoče snovi

Ključno vlogo pri evoluciji kopenskih rastlin je imel razvoj metabolizma fenolnih polimerov, ki ga delno inducira tudi UV sevanje. Skozi evolucijo, pri prehodu rastlin iz vode na kopno, je prišlo do postopnega razvoja vse bolj kompleksnih UV absorbirajočih snovi, ki so predstavljale organizmom notranji filter, ki jim je omogočil premagovati UV stres. S svojo vedno večjo kompleksnostjo pri višjih rastlinah (npr. polifenoli, kot so flavonoidi, tanini in lignini), so te snovi prevzele tudi mnoge druge funkcije: nastopajo kot hormoni, kot obramba pred mikroorganizmi in herbivori, kot pomoč pri alelopatiji, podpora rigidnosti tkivom,... (Rozema in sod., 2002).

UV-B absorbirajoče snovi najdemo v listih, kličnih listih, stebelu in deblu (Bornman in Teramura, 1993). Pri višjih rastlinah izmerimo največje vsebnosti flavonoidov v celicah povrhnjice in zgornjem mezofilu (Tevini in sod., 1991). V celici se nahajajo predvsem v vakuoli, lahko pa so tudi vezani v celični steni ali kloroplastih. Flavonoidi, ki so kovalentno vezani v celični steni in se z alkoholi ne ekstrahirajo, so pomembne UV-B absorbirajoče snovi pri iglavcih, pri zelnatih rastlinah pa je njihov delež zanemarljiv. Zelnote rastline pred UV sevanjem ščitijo topni flavonoidi v vakuoli (Day in sod., 1992).

2.5.3 Fotosintezna barvila

Fotosintezna barvila, kot so karotenoidi, z oddajanjem presežne energije sevanja v obliki toplote ščitijo fotosintezni aparat pred ireverzibilnimi poškodbami. Med vsebnostjo karotenoidov in fotosintezno aktivnostjo rastline obstaja neposredna pozitivna zveza. Poleg UV-B sevanja sodelujeta pri sintezi karotenoidov in klorofilov tudi UV-A in modra svetloba (Gaberščik in Trošt, 2000).

2.5.4 Zaščitne snovi

Antioksidanti varujejo rastlino pred poškodbami s prostimi radikali in aktivnimi oblikami kisika, ki nastajajo pod vplivom UV-B sevanja. Radikali, ki nastajajo pri absorpciji UV-B

fotonov, se odstranjujejo s pomočjo superoksid dismutaz (SOD) in katalaz. Tudi flavonoidi so vključeni v nevtralizacijo radikalov (Rozema in sod., 1997).

Ob izpostavljenosti rastline UV-B sevanju se poveča tudi vsebnost poliaminov. **Poliamini** lahko omilijo poškodbe na membranah, ki so nastale zaradi UV-B sevanja, varujejo lipide pred peroksidacijo in tako prispevajo k obrambi rastlin pred škodljivimi učinki sevanja (Bornman in Teramura, 1993).

2.5.5 Popravljanje poškodovane DNA

Poškodbe DNA organizmi popravljajo na dva načina, preko fotoreaktivacije ali s pomočjo ekscizije (Häder in Sinha, 2005). Fotoreaktivacija je od svetlobe odvisen proces in poteka s pomočjo fotoliaznih encimov. Da lahko pride do monomerizacije dimerov, ki nastanejo zaradi absorpcije fotonov sevanja UV-B spektra s strani molekule DNA, je potrebna absorpcija UV-A ali modre svetlobe. Fotoliazne encime najdemo pri številnih vodnih in kopenskih prokariotskih in evkariotskih organizmih, od bakterij do vretenčarjev (Häder in Sinha, 2005). Fotoliazne encime potrebujejo za svoje delovanje poleg svetlobe tudi primerno temperaturo, da lahko učinkovito popravijo večino poškodb, nastalih zaradi prevelikega sevanja (Rozema in sod., 1997). Organizmi, ki živijo v hladnih podnebjih, kjer je že tako prisotno največje zmanjšanje ozonske plasti, so slabše zaščiteni, ker nizka temperatura lahko upočasni delovanje fotoliaz (Madronich in sod., 1998). Ekscizija okvarjenih mest na molekuli DNA je počasnejša in kompleksnejša od fotoreaktivacije. Izrezovanje poškodovanih sekvenc DNA in nadomeščanje z novimi (na osnovi informacije na komplementarni verigi DNA) poteka tudi pri nizki svetlobni intenziteti in zahteva celično energijo. Pri tem popravljanju so vključeni encimi DNA glikozilaze, DNA polimeraze in DNA ligaze, ki prepoznajo napake DNA, jih izrežejo in na novo sintetizirajo, da zapolnijo vrzel (Häder in Sinha, 2005).

2.6 NAVADNA SMREKA (*Picea abies* (L.) Karst.)

2.6.1 Taksonomska uvrstitev in botanični opis

Navadna smreka (*Picea abies*), ki jo uvrščamo v družino borovk (*Pinaceae*), je vednozeleno iglasto drevo, visoko do 40 m, s preko 1 m debelim deblom (Martinčič in sod., 1999). Ima stožčasto krošnjo in plitev koreninski sistem z razvito ektotrofno mikorizo, pri čemer je mikoriznih gliv več kot 100 vrst. Globina koreninskega sistema je odvisna od vrste tal. Na plitvih ali zelo mokrih, zbitih tleh so korenine povsem na površini ali le do nekaj decimetrov globoko in čeprav pokrivajo veliko površino, drevesu ne omogočajo dobre stabilnosti. Na globokih in rahlih tleh so korenine običajno globlje in včasih segajo do globine 3m. Deblo je ravno, gladko in polnolesno, veje izraščajo v izrazitih vejnih vencih (Brus, 2005). Skorja na deblu je tanka (Martinčič in sod., 1999), pri mladih drevesih rjavkaste do rdeče barve, razpokana v majhne luske, pri starejših rastlinah pa je sive barve in razpokana v okrogle ploščice. (Brus in Kotar, 1999). Brsti so jajčasto zašiljeni, rjavkasti in niso pokriti s smolo. Iglice so dolge 1 - 2,5 cm, široke do 1 mm, v prečnem prerezu štiriroke (rombaste) in so spiralasto razmeščene na poganjkih. Iz vejice izraščajo na značilnih nastavkih in na drevesu ostanejo 5 do 7 let (Brus, 2005). Ko iglica odpade, ostane spodnji del peclja na poganjku, zato je poganjek raskav. "Cvetovi" so enospolni in enodomni (Martinčič in sod., 1999). Moški cvetovi so dolgi do 2 cm, sprva rdečkasti in pozneje rumenorjavi (Brus, 2005), sestavljajo jih številni, na skupni osi spiralasto razvrščeni prašniki, vsak z dvema prašnima vrečkama (Martinčič in sod., 1999). Ženski "cvetovi" so združeni v socvetje (storžek). Vsak ženski "cvet" tvorita krovna in plodna luska, na slednji sta nameščeni dve semenski zasnovi. Iz storžkov se razvijejo oleseneli storži (Jogan, 2001). Vidne so samo plodne luske, krovne luske so zakrnele. Storži so dolgi 10 do 16 cm in debeli 3 do 4 cm. Dozorijo oktobra, odpirati se začnejo februarja naslednje leto in odpadejo poleti. Pod vsako plodno lusko sta dve do 4 mm dolgi krilati semeni (Brus, 2005).

Navadna smreka je enodomna in vetrocvetna vrsta, ki cveti aprila in maja. Večinoma se razmnožuje s semenom, za potrebe žlahtnjenja pa uporabljajo tudi vegetativno razmnoževanje s potaknjenci, za vzgojo okrasnih sort pa cepljenje. Na prostem prične cveteti med 20. in 40.

letom, v sestoji še 20 do 30 let pozneje. Polni obrod pa je vsaka 3 do 4 leta, na hladnih rastiščih redkeje, tudi na 4 do 8 let (Brus, 2005).

2.6.2 Rastišče

Navadna smreka je zelo prilagodljiva vrsta s široko ekološko amplitudo. To je eden od razlogov, da je v preteklosti med vsemi vrstami pri nas prav smreka doživela največje povečanje areala in uspešno gojenje tudi zunaj svojih naravnih rastišč. Najraje ima sveža in zračna tla na vseh podlagah in nima velikih potreb po hranilnih snoveh, prenese tudi kislila tla. Potrebuje visoko zračno vlago in skozi vse leto enakomerno porazdeljene padavine. Nižinske lege zanjo niso ustrezne, ker so pretople, zlasti v čistih nižinskih sestojih ji moker sneg in žled pogosto lomita vrhove. Suše in vročine ne prenaša, občutljiva pa je tudi za onesnažen zrak. Je značilna vrsta hladnih rastišč z zelo majhnimi potrebami po poletni toploti. Zadovolji se z zelo kratkim dvomesečnim vegetacijskim obdobjem in je odporna je proti mrazu in nizki zimski temperaturi. V nižjih toplejših legah je sencozadržna, enako velja za odrasla drevesa, če imajo le osvetljene vrhove. V višjih legah, na bolj suhih tleh ali v mladosti, pa potrebuje več svetlobe in je polsvetloljubna vrsta. Zaradi slabe zakoreninjenosti so predvsem čisti smrekovi sestoji močno občutljivi za močan veter. Smreka precej močno vpliva na rastišče. Goste krošnje preprečujejo dostop svetlobi, toploti in vodi do tal, zaradi česar se proces razkrajanja drevesnega odpada upočasni, posledica tega pa je tvorba surovega humusa in zakisovanje (Brus, 2005).

2.6.3 Splošna razširjenost

Navadna smreka je borealno-alpska vrsta. V severni Evropi raste predvsem v nižinah, v srednji in južni Evropi pa je gorska vrsta in raste predvsem v Alpah, Krpatih in Dinarskem gorovju, kjer uspeva do 2200 m n. v. (Brus, 2004). Naravna rastišča navadne smreke v Sloveniji so le v gorskih predelih (Alpe, Karavanke, Pohorje), v zelo hladnih dolinah nižjih leg in v visokokraških mraziščih (v Trnovskem gozdu, okrog Snežnika in na Kočevskem) (Brus, 2004). V nižinah je sajena. Najdemo jo v iglastih in mešanih gozdovih od nižine do subalpinskega pasu po vsej Sloveniji (Martinčič in sod., 1999).

2.6.4 Vloga v okolju

V visokogorskem svetu je navadna smreka marsikje graditeljica varovalnih gozdov na strmih rastiščih na območju gozdne meje, na nekaterih rastiščih je pionirska vrsta. V nižjih predelih včasih raste v ekološko nestabilnih monokulturah (Brus, 2004).

3 MATERIALI IN METODE

3.1 POSKUSNA RASTLINA

Učinke povečanega UV-B sevanja na iglice smo proučevali pri navadni smreki (*Picea abies* (L.) Karst.).

3.2 RASTNE RAZMERE PRI POSKUSU

Semena poskusnih rastlin navadne smreke izvirajo iz semenskega sestojka Hrušica, nabrano je bilo v semenskem letu 1996. Naključno izbrano seme, namenjeno vzgoji rastlin, je bilo posejano leta 1997 v rastlinjaku, kjer so sejanke rasle do razvitja prvih iglic. Sejanke so v prvem letu rasle v kontroliranih razmerah, brez UV-B sevanja. Enoletne rastline smo jeseni 1998 presadili na prosto v Botanični vrt Univerze v Ljubljani, ki leži na jugozahodnem robu mesta Ljubljane v Ljubljanski kotlini, na nadmorski višini 320 m, na 46° 35' zemljepisne širine in 14° 55' zemljepisne dolžine.

Smreke smo posadili v treh paralelkah. Po petdeset sejanek smreke za posamezno obravnavanje smo posadili v pet plastičnih zaboječkov (62 x 21 x 19 cm), v mešanico komposta in šote (1:2). Zaboječke smo zakopali v zemljo, da smo zmanjšali nihanja temperature tal ter izsuševanje.

Meritve smo opravljali od decembra 2001 do septembra 2002. Rastline smo gojili tri leta v svetlobnih razmerah, ki so bile uravnavane po modelu, ki sta ga opisala Björn in Teramura (1993). Rastline so rasle pri treh različnih nivojih sevanja:

UV-B-: Na prvi poskusni ploskvi so bile rastline izpostavljene zunanjemu (naravnemu) sevanju, vendar pretežno brez UV-B dela spektra sevanja. UV-B del spektra sevanja smo prestregli s pomočjo poliestrskega filtra, ki smo ga postavili 80 cm nad površino, kjer so rasle

rastline. Filter (folija Mylar) prepušča le valovne dolžine večje od 320 nm. Kljub filtru je nekaj UV-B sevanja, predvsem v popoldanskem času prišlo do rastlin.

UV-B (kontrola): Na drugi poskusni ploskvi so bile rastline izpostavljene naravni intenziteti UV-B in PAR ter povečani intenziteti UV-A sevanja, ki je po jakosti ustrezal 17 % stanjšanju ozonske plasti. To smo dosegli s postavitvijo fluorescentnih luči (Q-Panel 313) en meter nad tlemi. Ker te luči oddajajo UV-A, UV-B, UV-C sevanje, smo jih ovili v poliesterski filter, da je do rastlin prišlo le dodano UV-A sevanje.

UV-B+: Na tretji poskusni ploskvi so bile rastline izpostavljene naravni intenziteti PAR in povečani intenziteti UV-B in UV-A sevanja. To smo dosegli s postavitvijo fluorescentnih luči (Q-Panel 313) en meter nad tlemi. Luči smo ovili s celulozno-diacetatnim filtrom, ki ne prepušča valovnih dolžin, ki so krajše od 280 nm.

Dodano UV-A in UV-B sevanje je ustrezalo 17 % zmanjšanju ozonske plasti, na znani lokaliteti v Botaničnem vrtu (nadmorska višina in zemljepisna širina) ob določenem letnem času, kar predstavlja od 35 do 58 % povečanje biološko aktivnega UV-B_{BE} sevanja, oziroma odmerke med 0,27 in 2,16 kJ m⁻² d⁻¹ (Björn in Murphy, 1993). Sevanje smo dodajali v opoldanskem času, ko je tudi sicer največje, odmerke dodanega sevanja pa smo sproti prilagajali pričakovani jakosti naravnega sevanja.

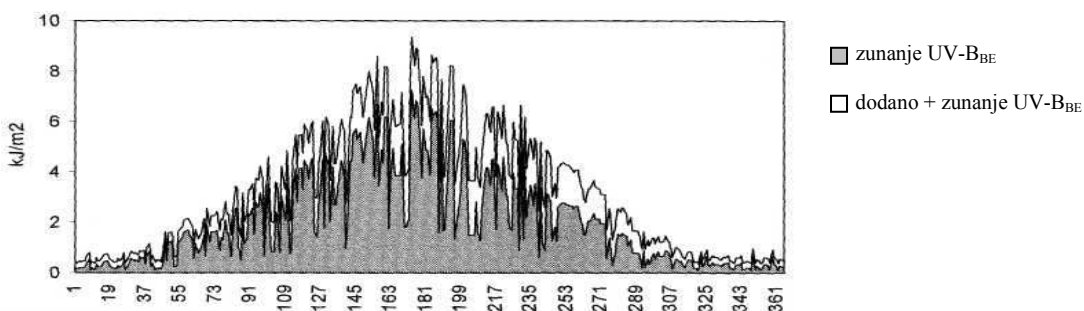
Na prvi poskusni ploskvi z zmanjšanim UV-B sevanjem so bile mikroklimatske razmere drugačne kot na drugi in tretji ploskvi. Pri tem obravnavanju (UV-B-) je nameščen filter oviral dostop padavinske vode, zato so bile rastline izpostavljene zmanjšani relativni zračni vlagi, ter povečani temperaturi. Teh rezultatov nismo vključili v grafe, saj niso primerljivi. Vendar pa so vsi rezultati, tudi UV-B- obravnavanja, tabelarično predstavljeni v prilogah.



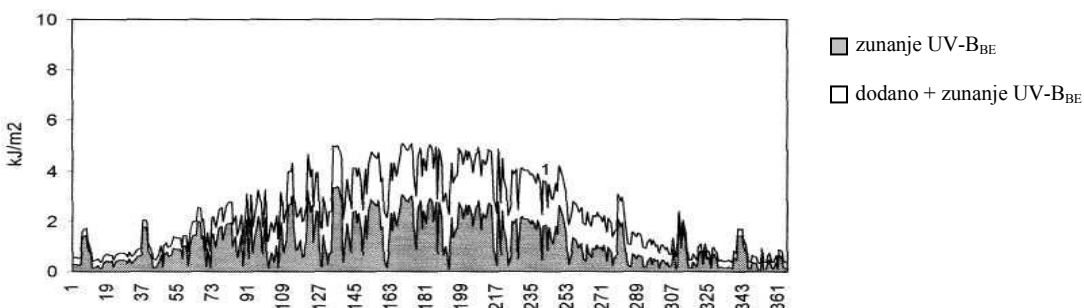
Slika 1: Poskusne razmere z zmanjšanim (UV-B-), zunanjim (UV-B) in povečanim (UV-B+) obsevanjem UV-B v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani

Zunanje (naravno) UV-B, UV-A, in PAR sevanje smo merili z dozimetrom (Eldonet), nameščenim na strehi Biološkega središča v Ljubljani. Dodano biološko učinkovito UV-B sevanje (UV-B_{BE}) je glede na število luči in njihovo oddaljenost od poskusnih rastlin izračunal prof. dr. Lars Olof Björn (slike 2-4).

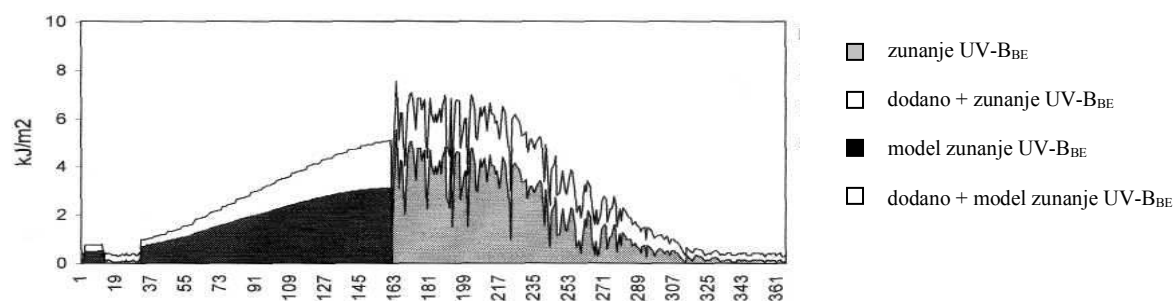
Skupna količina biološko učinkovitega sevanja (naravno in dodano biološko učinkovito UV-B sevanje (UV-B_{BE}), ki je delovalo na rastline v razmerah s povečanim UV-B sevanjem v času trajanja raziskave, je prikazano na slikah 2-5.



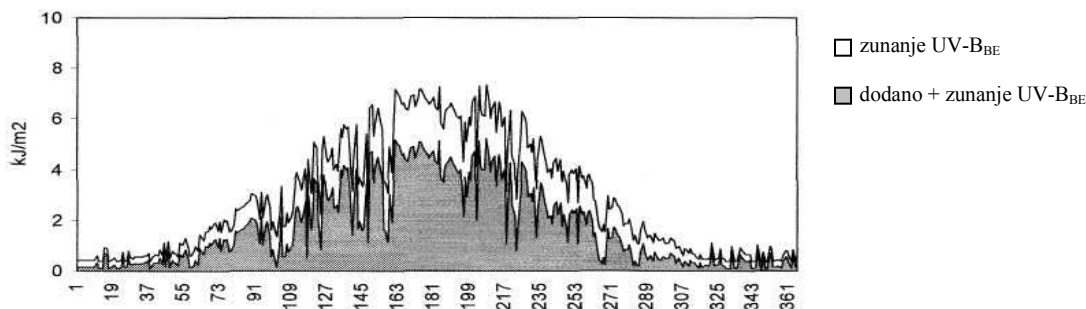
Slika 2: UV-B_{BE} sevanje v letu 1999. Zunanje UV-B sevanje smo merili z dozimetrom Eldonet, ki je nameščen na strehi Biološkega središča v Ljubljani. Dodano biološko učinkovito UV-B sevanje (UV-B_{BE}) je glede na število luči in njihovo oddaljenost od poskusnih rastlin izračunal prof. dr. Lars Olof Björn.



Slika 3: UV-B_{BE} sevanje v letu 2000. Zunanje UV-B sevanje smo merili z dozimetrom Eldonet, ki je nameščen na strehi Biološkega središča v Ljubljani. Dodano biološko učinkovito UV-B sevanje (UV-B_{BE}) je glede na število luči in njihovo oddaljenost od poskusnih rastlin izračunal prof. dr. Lars Olof Björn.

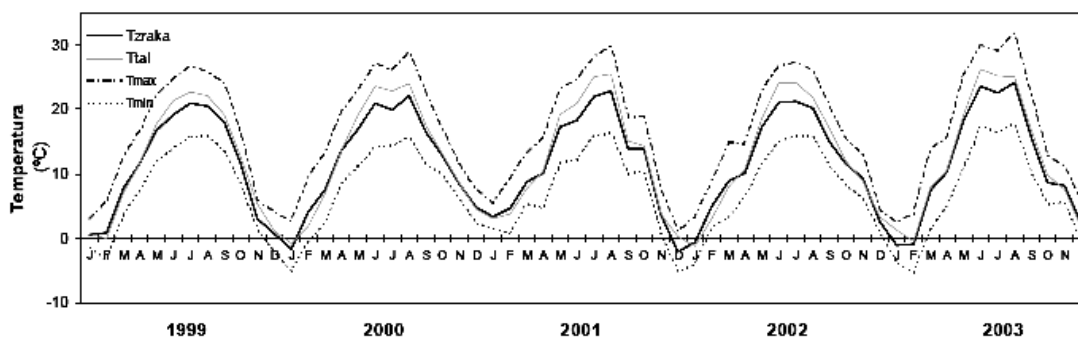


Slika 4: UV-B_{BE} sevanje v letu 2001. Zunanje UV-B sevanje smo merili z dozimetrom Eldonet, ki je nameščen na strehi Biološkega središča v Ljubljani. Dodano biološko učinkovito UV-B sevanje (UV-B_{BE}) je glede na število luči in njihovo oddaljenost od poskusnih rastlin izračunal prof. dr. Lars Olof Björn. Zaradi manjkajočih podatkov iz prve polovice leta, je del UV-B_{BE} sevanja ponazorjen z modelom, ki je teoretičen in upošteva zemljepisno širino in nadmorsko višino, ne upošteva pa vremenskih razmer. Izračunal ga je prof. dr. Lars Olof Björn (Björn in Murphy, 1993).

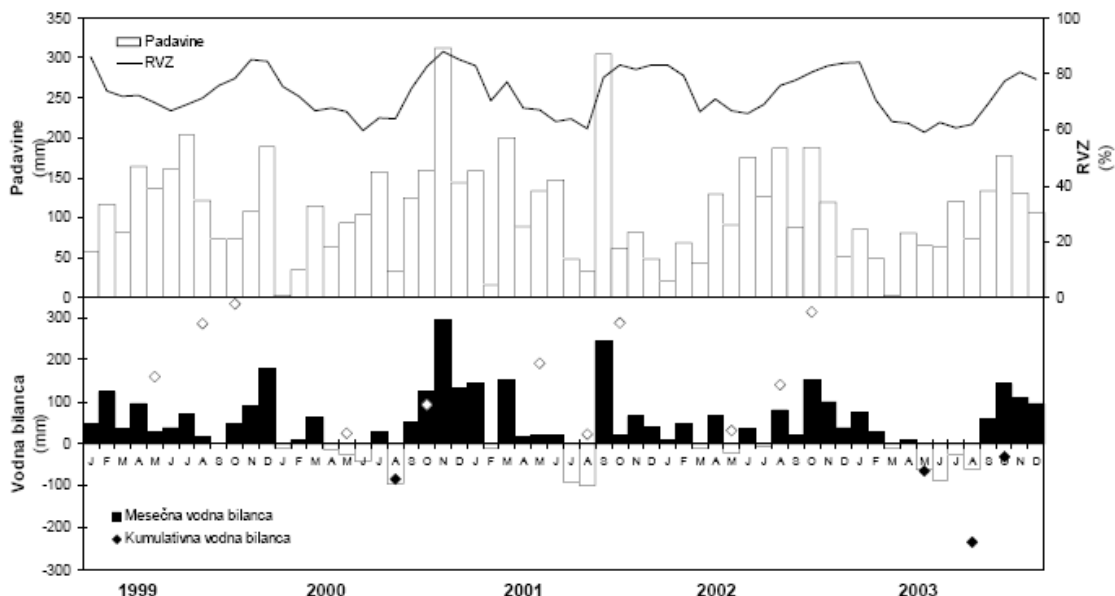


Slika 5: UV-B_{BE} sevanje v letu 2002. Zunanje UV-B sevanje smo merili z dozimetrom Eldonet, ki je nameščen na strehi Biološkega središča v Ljubljani. Dodano biološko učinkovito UV-B sevanje (UV-B_{BE}) je glede na število luči in njihovo oddaljenost od poskusnih rastlin izračunal prof. dr. Lars Olof Björn.

Drugi vremenski podatki: povprečne mesečne temperature zraka (T_{zraka}), povprečne mesečne najvišje temperature zraka (T_{max}), povprečne mesečne najnižje temperature zraka (T_{min}), povprečne mesečne temperature tal (T_{tal}), povprečne mesečne relativne vlažnosti zraka (RVZ), skupne mesečne količine padavin, pa so bili posredovani iz Agencije republike Slovenije za okolje, Urada za meteorologijo.



Slika 6: Povprečne mesečne temperature zraka (T_{zraka}), povprečne mesečne temperature tal (T_{tal}), povprečne mesečne najvišje temperature zrake (T_{max}) in povprečne mesečne najnižje temperature zraka (T_{min}) v Ljubljani v letih med 1999 in 2003 (Trošt, 2005: 28).



Slika 7: Skupne mesečne količine padavin (Padavine), povprečna mesečna relativna vlažnost zraka (RVZ), mesečne vodne bilance (Mesečna vodna bilanca) in kumulativne vodne bilance (Kumulativna vodna bilanca) v Ljubljani v letih med 1999 in 2003 (Trošt, 2005: 28).

3.3 MERITVE PREVODNOSTI

Prevodnost je sposobnost vode, da prevaja električni tok. Odvisna je od temperature raztopine in koncentracije ionov v raztopini ter njihovih značilnosti (stopnje disociiranosti snovi v ione, električnega naboja posameznih ionov, mobilnosti ionov). Izražena je v mikrosiemensih na centimeter ($\mu\text{S}/\text{cm}$). Večja je koncentracija ionov v raztopini, višja je prevodnost.

Zanimalo nas je, ali povečano UV-B sevanje statistično značilno vpliva na poškodbe membran celic iglice navadne smreke. Poškodbe membran ocenimo z merjenjem spremembe v prevodnosti raztopine v kateri namakamo tkivo. Pri tem merimo količino ionov, ki izhajajo iz celic s poškodovanimi membranami. Metoda je povzeta po Garty in sod. (1997).

Poskus smo opravili v štirih različnih časovnih obdobjih, pozimi (decembra 2001), začetek pomladi (marec 2002), konec pomladi (maj 2002) in poleti (avgusta 2002).

Naključno smo izbrali po pet drevesc iz posameznega obravnavanja z UV-B sevanjem (UV-B-, UV-B, UV-B+), s katerih smo nabrali vzorce enoletnih, dveletnih in triletnih iglic. Vsak vzorec je vseboval 10 iglic. Prevodnost smo merili časovno ločeno na enoletnih, dveletnih in triletnih iglicah.

Za označitev starosti iglic smo uporabili oznako c (current), ki označuje tekočo vegetacijsko dobo. Oznake torej pomenijo :

- C... enoletne iglice, predstavljajo prirastek zadnje delujoče vegetacijske dobe v času meritev,
- C+1... dveletne iglice, ki predstavljajo prirastek predzadnje delujoče vegetacijske dobe v času meritev,
- C+2... triletne iglice.

Vzorci iglic smo najprej oprali v destilirani vodi. Nato smo jih 10 minut stresali v 30 ml bidestilirane vode in nato izmerili prevodnost raztopine s konduktometrom. Raztopine z vzorci smo pustili pri sobni temperaturi 2 uri in jih nato spet stresali 10 minut in izmerili njihovo prevodnost. To smo ponovili še po 4, 8, 24 in 48 urah. Po vsaki meritvi smo vzorce pokrili s folijo, da ni prišlo do onesnaženja raztopine. Vzorce iglic smo nato vzeli iz raztopin in jih 72 ur sušili pri temperaturi 105°C v sušilniku Sterimatic ST-06. Posušene vzorce smo nato stehali z miligramsko tehtnico Sartorius.

Vse vrednosti prevodnosti, ki smo jih prikazali, predstavljajo razliko med prevodnostjo posameznega vzorca in prevodnostjo čiste bidestilirane vode izpostavljene istemu tretmaju, preračunano glede na suho maso vzorca.

3.4 ANATOMSKE MERITVE

Naključno smo izbrali 5 rastlin posameznega obravnavanja z UV-B sevanjem, s katerih smo nabrali po 10 iglic posameznega starostnega razreda (enoletnih (c), dveletnih (c+1) in triletnih (c+2)). Iz vzorca 10 iglic smo 5 iglic uporabili za replike epidermide (ocenitev površinska gostote listnih rež) in 5 iglic za pripravo preparatov (prečnih rezov iglice).

Za označitev starosti iglic smo uporabili oznako c (current), ki označuje tekočo vegetacijsko dobo. Oznake torej pomenijo:

- C... enoletne iglice, ki predstavljajo prirastek v vegetacijski dobi leta 2001,
- C+1... dveletne iglice, ki predstavljajo prirastek v vegetacijski dobi leta 2000,
- C+2... triletne iglice, ki predstavljajo prirastek v vegetacijski dobi leta 1999.

3.4.1 Na odtisih listne površine

Površinska gostota listnih rež (mm^{-2}) na c, c+1 in c+2 iglicah

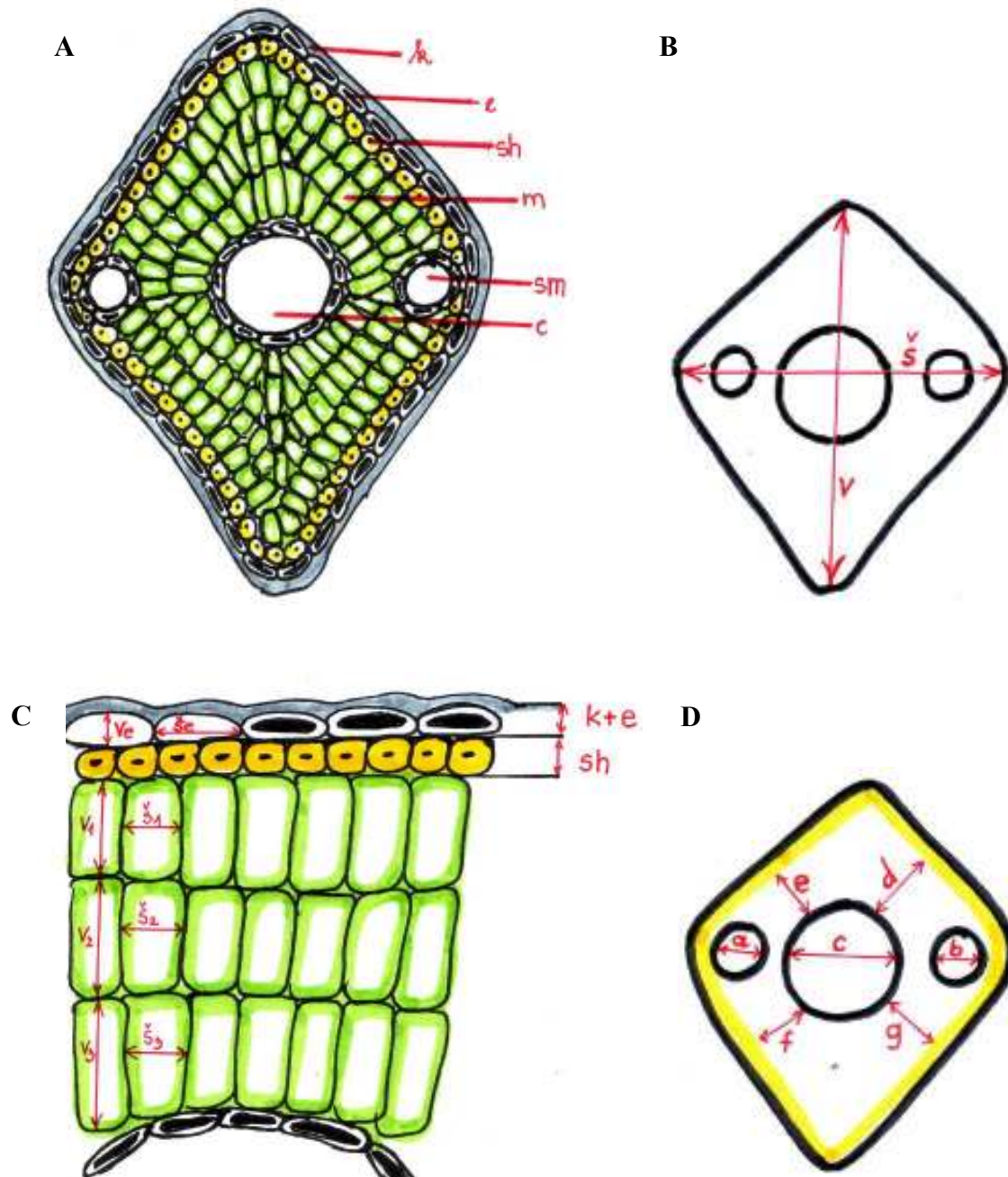
Na reprezentativnem vzorcu smo na zgornji in spodnji povrhnjici s pomočjo laka za nohte naredili odtise listne površine (5 iglic posameznega starostnega razreda posameznega obravnavanja x 5 rastlin – skupaj 225 odtisov). Na odtisu smo si pod mikroskopom pri 100x povečavi prešteli listne reže (upoštevali smo robno napako). Iz dobljenih podatkov smo izračunali površinsko gostoto listnih rež (mm^{-2}).

3.4.2 Na preparatih

Pripravili smo poltrajne preparate v glicerolu, ki izpodrine vodo iz celic. Iz vzorca iglic smo odrezali po 5 mediano prečnih rezov posamezne iglice (5 iglic posameznega starostnega razreda, posameznega obravnavanja z UV-B x 5 rastlin – skupaj 225 preparatov).

Na preparatih smo z okularnim merilcem izmerili:

- premer iglice (višino in širino prečnega prereza iglice),
- debelino kutikule in povrhnjice (na vseh štirih straneh preparata iglice),
- debelina sklerenhimskega hipoderma (na vseh štirih straneh preparata iglice),
- višino in širino celic povrhnjice (3 celice x 4 strani-skupaj 12 celic na preparat iglice),
- debelino mezofila (na vseh štirih straneh preparata iglice),
- višino in širino mezofilnih celic (3 celice x 3 plasti x 4 strani- skupaj 36 celic na preparat iglice),
- premer centralnega cilindra,
- premer smolnega kanala.



Slika 8: Prečni prerezi iglice z merjenimi anatomskimi parametri **A**: **k**–kutikula, **e**–povrhnjica, **sh**–sklerenhimski hipoderm, **m**–mezofil, **sm**–smolni kanal, **c**–centralni cilindri, **B**: **v**–višina prečnega prereza, **š**–širina prečnega prereza; **C**: Izsek prečnega prereza iglice: **k+e**–debelina kutikule in povrhnjice, **sh**–debelina sklerenhimskega hipoderma, **v_e**–višina c. (celice) povrhnjice, **š_e**–širina c. povrhnjice, **v₁**–višina mezofilne c. v prvi pl. (plasti), **š₁**–širina mezofilne c. v prvi pl., **v₂**–višina mezofilne c. v drugi pl., **š₂**–širina mezofilne c. v drugi pl., **v₃**–višina mezofilne c. v tretji pl., **š₃**–širina mezofilne c. v tretji pl.; **D**: **a**–premer smolnega kanala, **b**–premer smolnega kanala, **c**–premer centralnega cilindra; **d**, **e**, **f**, **g**–debelina mezofila na vseh štirih straneh prečnega prereza.

3.5 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Iz izmerjenih vrednosti smo izračunali povprečne vrednosti parametrov in standardne odklone vzorcev (STDEV) ter jih predstavili tudi v grafih. Rezultate, dobljene pri povečani stopnji UV-B sevanja (UV-B+) smo primerjali z rezultati, dobljenimi pri zunanji (naravni) intenziteti UV-B sevanja (UV-B). Za analizo rezultatov smo uporabili dvosmerni Studentov T test za enako oziroma neenako varianco. Značilne razlike med variancami vzorcev nam je podal F test pri stopnji tveganja 0,05. Studentov T test smo opravili pri stopnjah tveganja 0,05, 0,01 in 0,001. Rezultate preiskovanega parametra v razmerah z naravnim UV-B sevanjem, ki so se značilno razlikovali od rezultatov, dobljenih v razmerah s povečanim UV-B sevanjem, smo na grafih označili:

- z znakom *, če je bilo tveganje manjše od 0.05 ($p \leq 0,05$),
- z znakom **, če je bilo tveganje manjše od 0.01 ($p \leq 0,01$)
- in z znakom ***, če je bilo tveganje manjše od 0.001 ($p \leq 0,001$).

4 REZULTATI

4.1 PREVODNOST

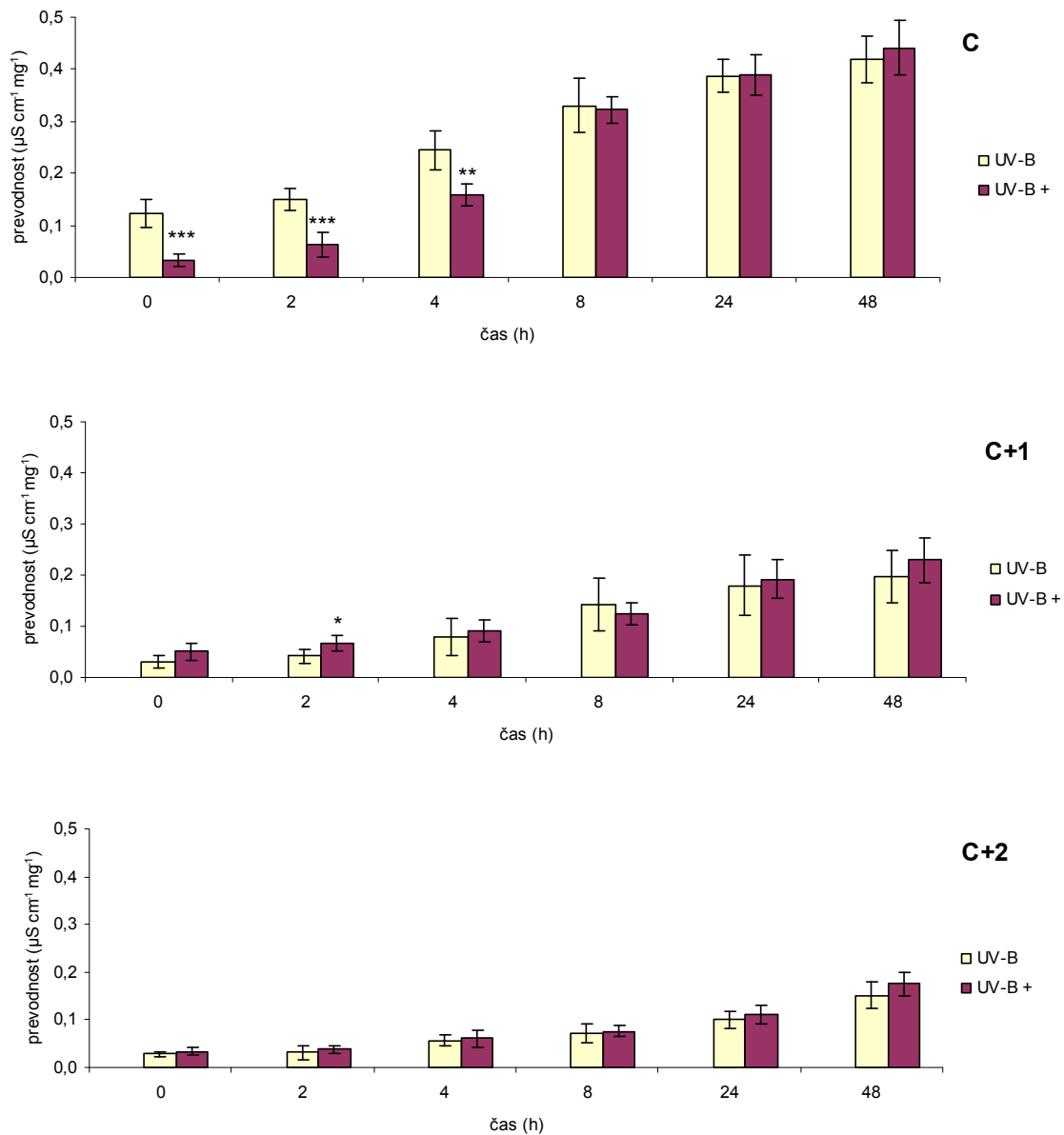
4.1.1 Rezultati meritev prevodnosti v decembru 2001

V decembru 2001 je prevodnost raztopine v kateri smo namakali iglice pri vseh obravnavanjih z UV-B sevanjem in pri vseh treh starostnih razredih iglic naraščala s časom namakanja iglic.

Pri enoletnih iglicah smo po 10 minutah ter 2 in 4 urah namakanja izmerili statistično značilno manjšo prevodnost raztopine iglic, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju. Po 8 urah je prevodnost še vedno večja pri iglicah kontrole, vendar razlika ni več statistično značilna. Pri iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, pa smo izmerili nekoliko večjo prevodnost v primerjavi s kontrolo šele po 24 in 48 urah, vendar razlika ni statistično značilna.

Pri dveletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, je prevodnost pri vseh časovnih merjenjih večja od iglic kontrole, razen pri merjenju po 8 urnem namakanju. Statistično značilno razliko med iglicami z UV-B+ obravnavanjem in kontrolo smo izmerili le po dveh urah namakanja iglic v raztopini.

Pri triletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, smo izmerili večjo prevodnost v vseh časovnih intervalih merjenja v primerjavi z iglicami kontrole, vendar pa statistično značilnih razlik nismo dobili.



Slika 9: Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode konec decembra 2001 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine (preračunane na mg suhe teže vzorca) in standardne odklone (SD), $n = 5$. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

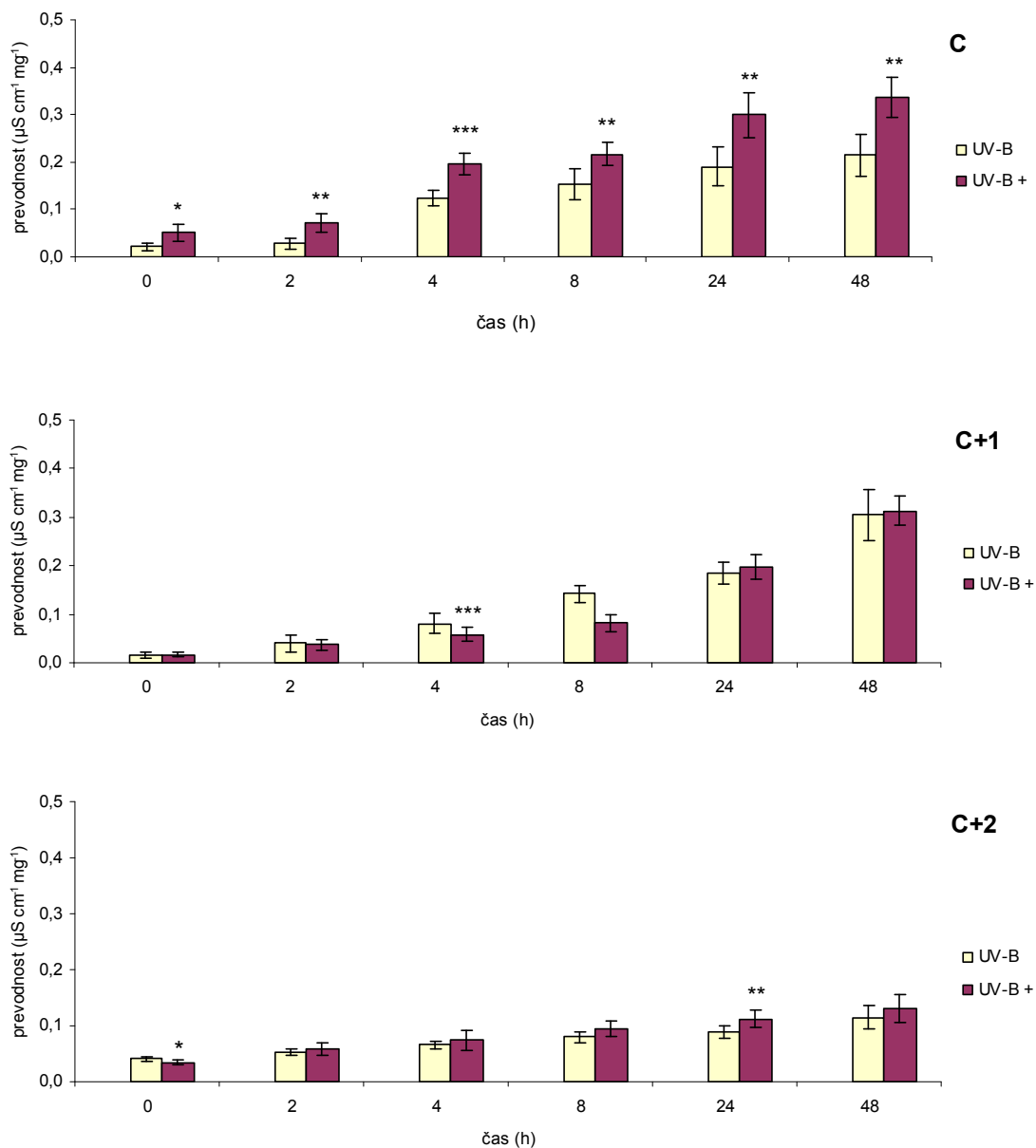
4.1.2 Rezultati meritev prevodnosti v marcu 2002

Pri meritvah v marcu 2002 je prevodnost raztopine, v kateri smo namakali iglice pri vseh obravnavanih z UV-B sevanjem in pri vseh treh starostnih razredih iglic naraščala s časom namakanja iglic.

Pri enoletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, je prevodnost raztopine v vseh časovnih intervalih posameznega merjenja večja od iglic kontrole, razlike so statistično značilne.

Pri dveletnih iglicah je v prvih 8 urah namakanja prevodnost raztopine večja pri iglicah kontrole, razlika je statistično značilna po 4 urah namakanja. Po 24 in 48 urah namakanja pa je prevodnost raztopine večja pri iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, vendar razlike niso statistično značilne.

Pri triletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, smo izmerili po 2, 4, 8, 24 in 48 urah večjo prevodnost raztopine kot pri kontrolnih iglicah, vendar je statistično značilna razlika le pri 24 urnem namakanju. Po 10 minutah namakanja pa je prevodnost raztopine statistično značilno večja pri kontrolni skupini iglic.



Slika 10: Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode konec marca 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine (preračunane na mg suhe teže vzorca) in standardne odklone (SD), n = 5. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001.

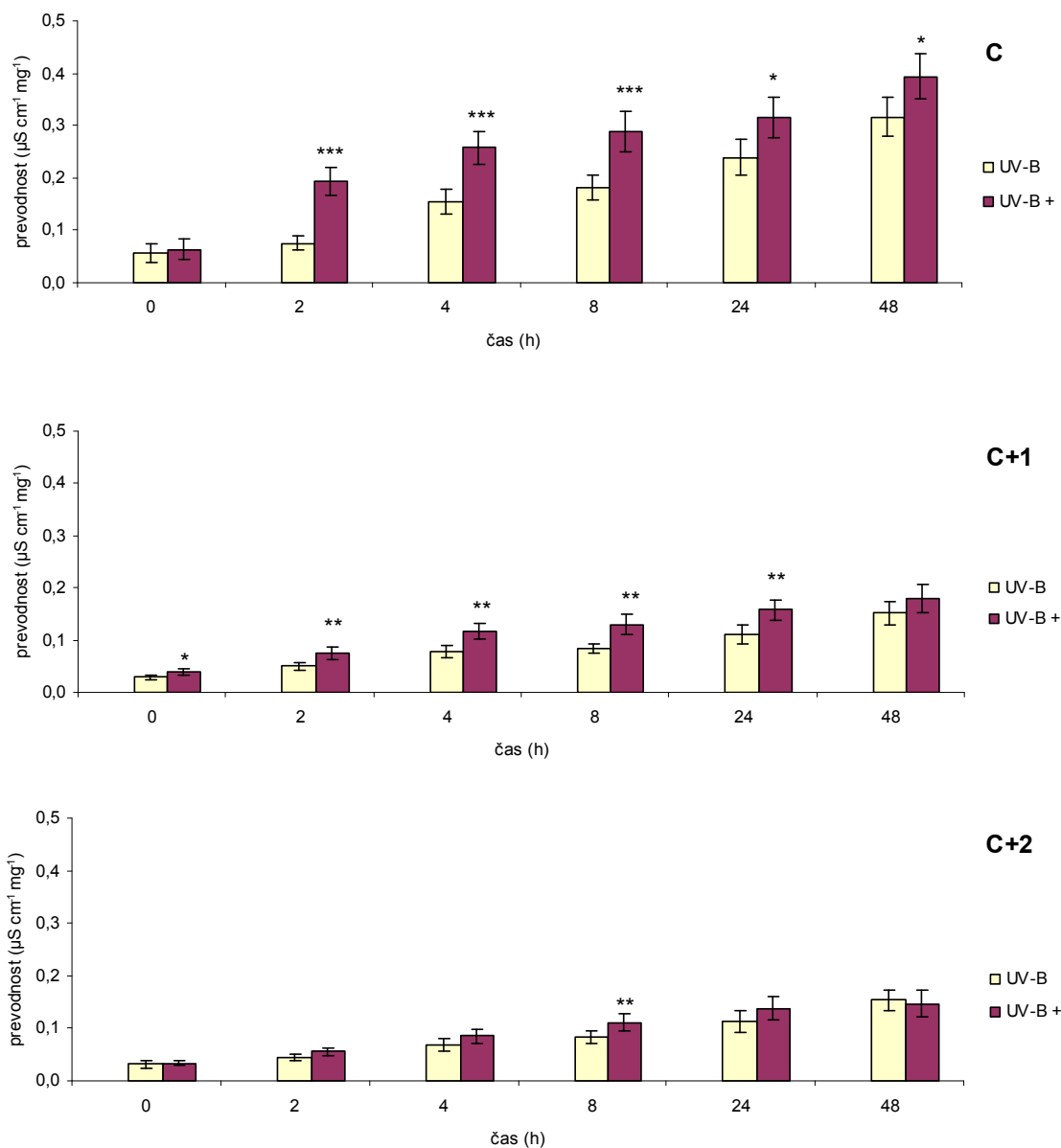
4.1.3 Rezultati meritev prevodnosti konec maja 2002

Pri meritvah konec maja 2002 je prevodnost raztopine, v kateri smo namakali iglice pri vseh obravnavanjih z UV-B sevanjem in pri vseh treh starostnih razredih iglic naraščala s časom namakanja iglic.

Pri enoletnih iglicah je prevodnost raztopine, v kateri smo namakali iglice, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, večja od iglic kontrole po vseh časovnih intervalih merjenja. Izmerjene razlike so statistično značilne, razen po 10 minutah merjenja.

Naše meritve so pri dveletnih iglicah pri vseh časovnih intervalih merjenja pokazale večjo prevodnost raztopine iglic, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju v primerjavi s kontrolo. Razlike so statistično značilne, razen po 48 urah namakanja.

Pri triletnih iglicah je prevodnost raztopine iglic, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, večja kot pri iglicah kontrole po 10 minutah, 2, 4, 8, 24 urah, vendar je razlika statistično značilna le po 8 urah. Po 48 urah namakanja pa smo izmerili večjo prevodnost raztopine pri iglicah kontrole.



Slika 11: Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode konec maja 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine (preračunane na mg suhe teže vzorca) in standardne odklone (SD), n = 5. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01, *** p ≤ 0.001.

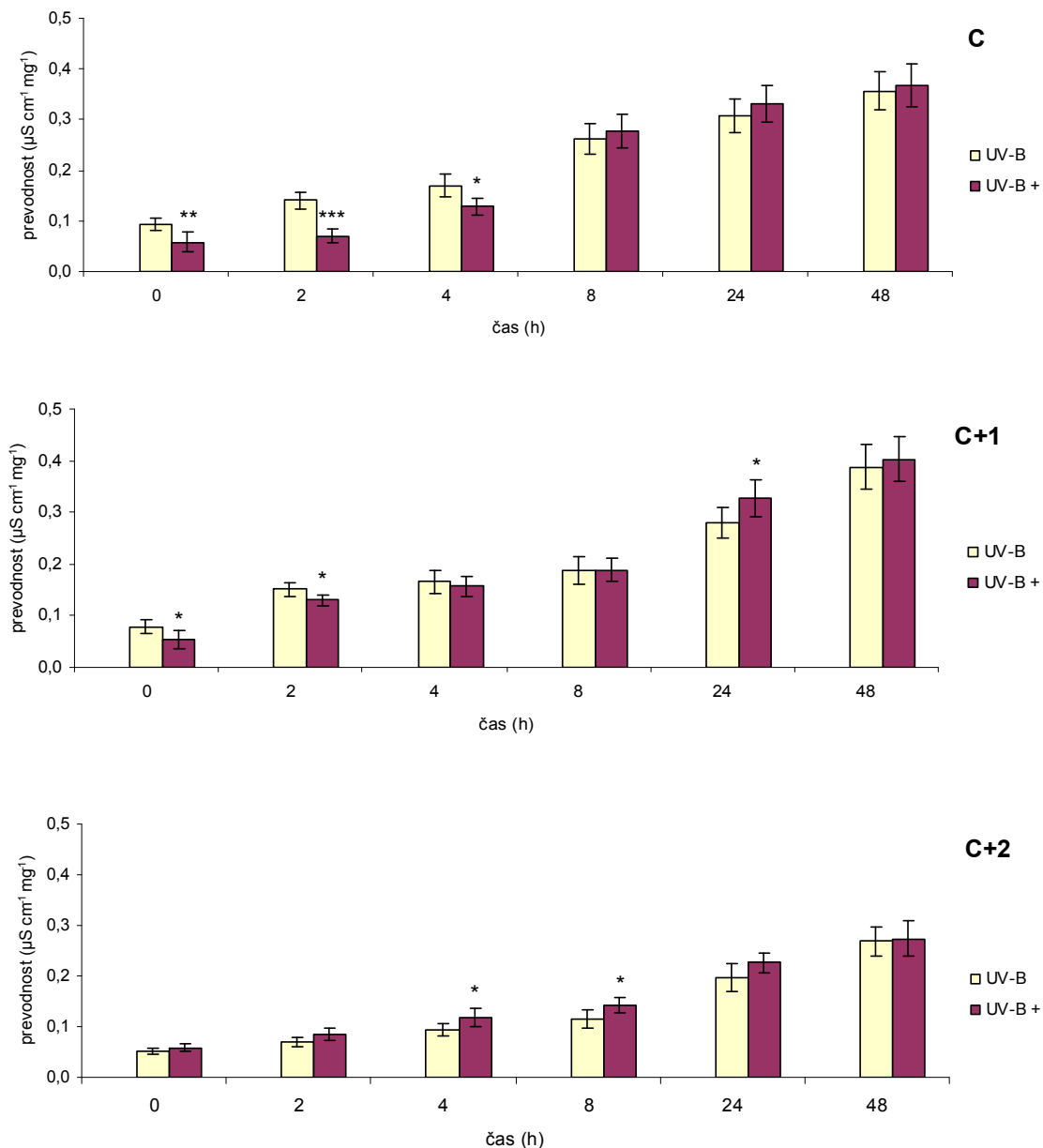
4.1.4 Rezultati meritev začetek avgusta 2002

Pri meritvah v začetku avgusta 2002, je prevodnost raztopine, v kateri smo namakali iglice pri vseh obravnavanjih z UV-B sevanjem in pri vseh treh starostnih razredih iglic naraščala s časom namakanja iglic.

Pri enoletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, je prevodnost raztopine po 8, 24 in 48 urah večja kot pri iglicah kontrole, vendar razlike niso statistično značilne. Po 10 minutah, 2 in 4 urah pa je prevodnost raztopine iglic kontrole statistično značilno večja.

Prevodnost raztopine dveletnih iglic, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju je večja od prevodnosti kontrole po 24 in 48 urnem namakanju iglic, statistično večjo razliko pa smo izmerili le po 24 urnem namakanju iglic. Po 10 minutnem, 2 in 4 urnem namakanju pa je prevodnost raztopine pri iglicah kontrole statistično značilno večja po 10 minutah in 2 urah namakanja.

Pri triletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, je prevodnost raztopine večja v primerjavi s kontrolo pri vseh časovnih intervalih meritev. Po 4 in 8 urah pa so razlike tudi statistično značilno različne.

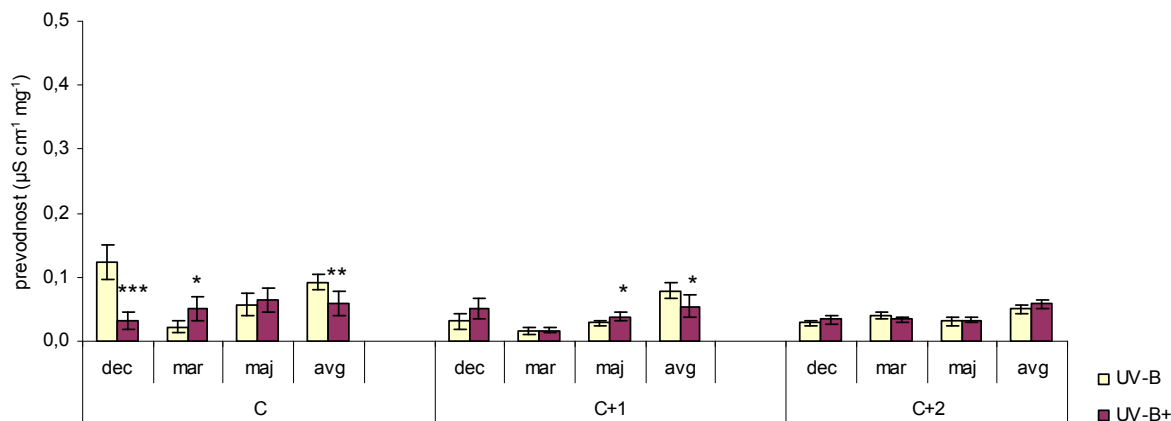


Slika 12: Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode začetek avgusta 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine (preračunane na mg suhe teže vzorca) in standardne odklone (SD), $n = 5$. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

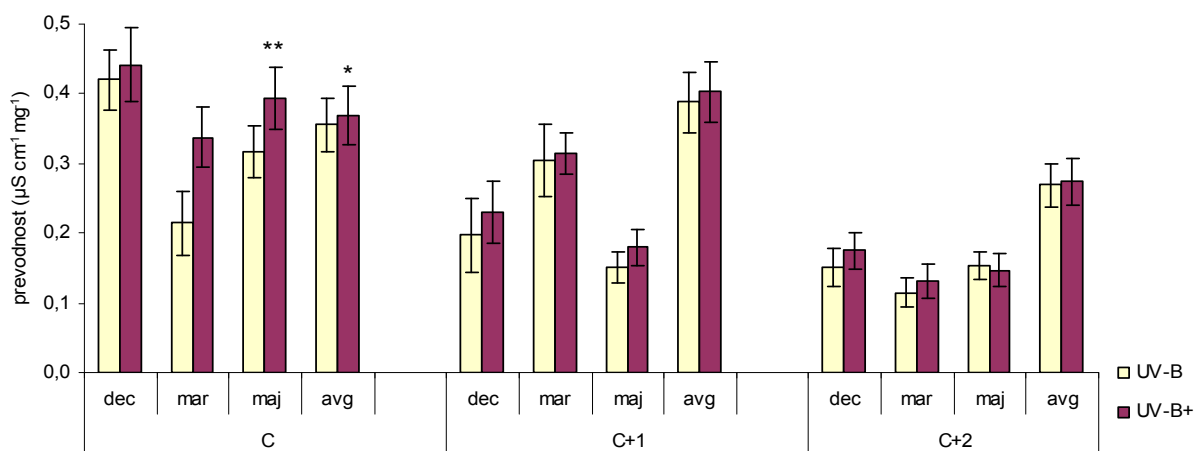
4.1.5 Prevodnost raztopine po 10 minutah in 48 urah namakanja iglic

Po 10 minutah namakanja iglic v bidestilirani vodi je prevodnost raztopine, v kateri smo namakali iglice, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, v primerjavi s kontrolo statistično značilno večja le v marcu pri enoletnih iglicah in v maju pri dveletnih iglicah. V drugih mesecih in pri različnih starostnih razredih iglic pa je prevodnost statistično neznačilno večja, statistično značilno manjša ali statistično neznačilno manjša od kontrole.

Po 48 urah namakanja iglic, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, pa je prevodnost raztopine večja od prevodnosti raztopine kontrolnih iglic pri vseh starostnih razredih in mesecih meritev, razen pri triletnih iglicah v mesecu maju. Statistično značilne razlike pa smo dobili le pri enoletnih iglicah v marcu in maju.



Slika 13: Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode po 10 minutah namakanja enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglic smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine (preračunane na mg suhe teže vzorca) in standardne odklone (SD), n = 5. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

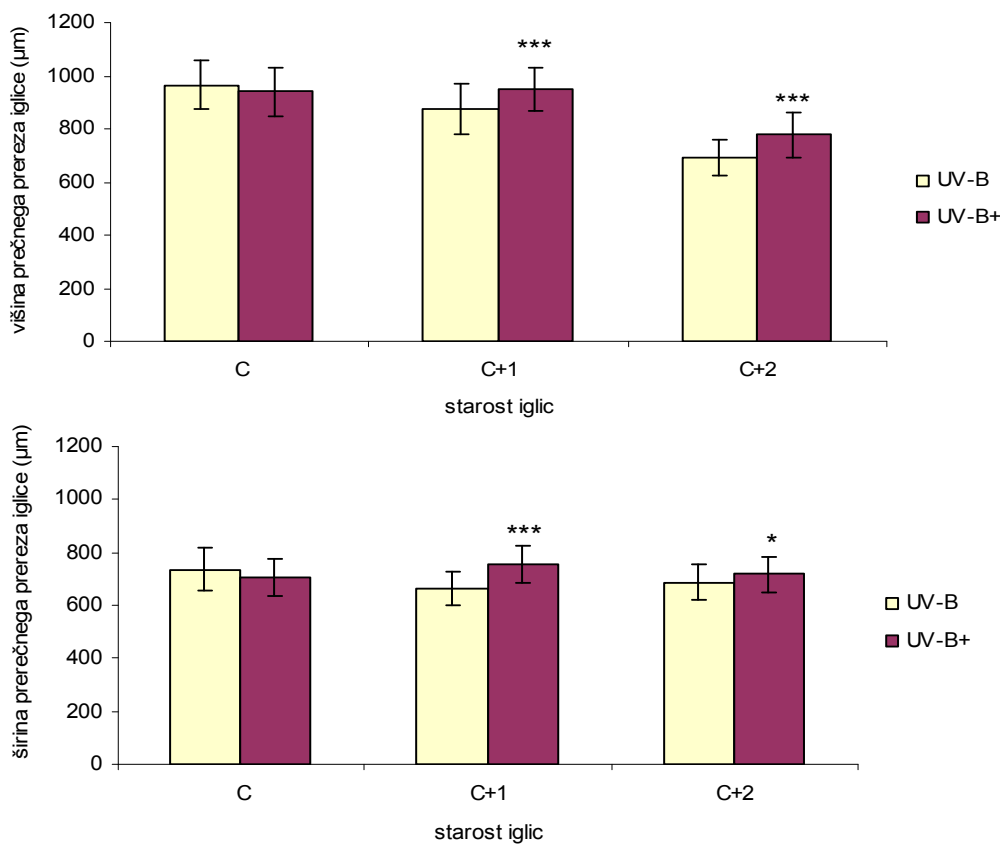


Slika 14: Spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode po 48 urah namakanja enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglic smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine (preračunane na mg suhe teže vzorca) in standardne odklone (SD), n = 5. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

4.2 ANATOMSKE MERITVE

4.2.1 Premer iglice

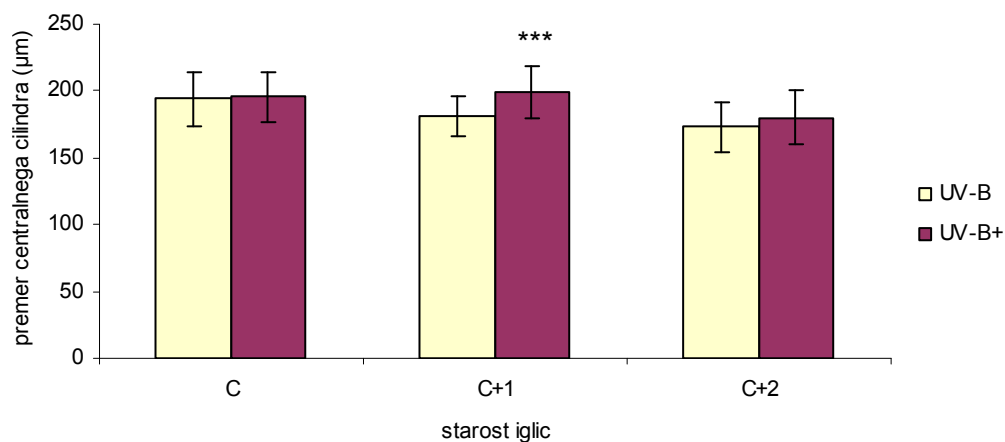
Višina prečnega prereza iglice je manjša pri enoletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju in statistično značilno večja pri dveletnih in triletnih iglicah v primerjavi s kontrolo. Širina prečnega prereza iglice je manjša pri enoletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju in statistično značilno večja pri dveletnih in triletnih iglicah v primerjavi s kontrolo.



Slika 15: Višina in širina prečnega prereza iglic (mediano) pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B - kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

4.2.2 Premer centralnega cilindra

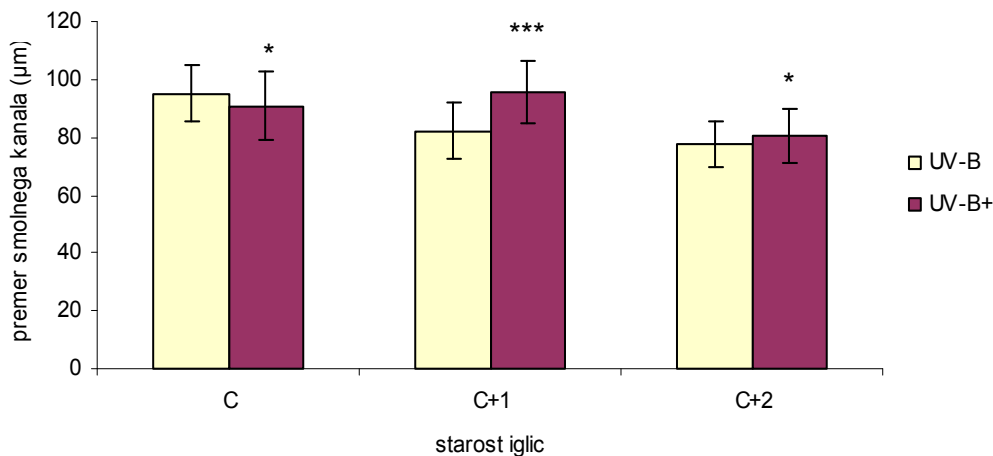
Pri naših meritvah smo izmerili večji premer centralnega cilindra pri iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju v primerjavi s kontrolo pri vseh starostnih razredih, statistično značilno večji premer pa le pri dveletnih iglicah.



Slika 16: Premer centralnega cilindra pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B - kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

4.2.3 Premer smolnega kanala

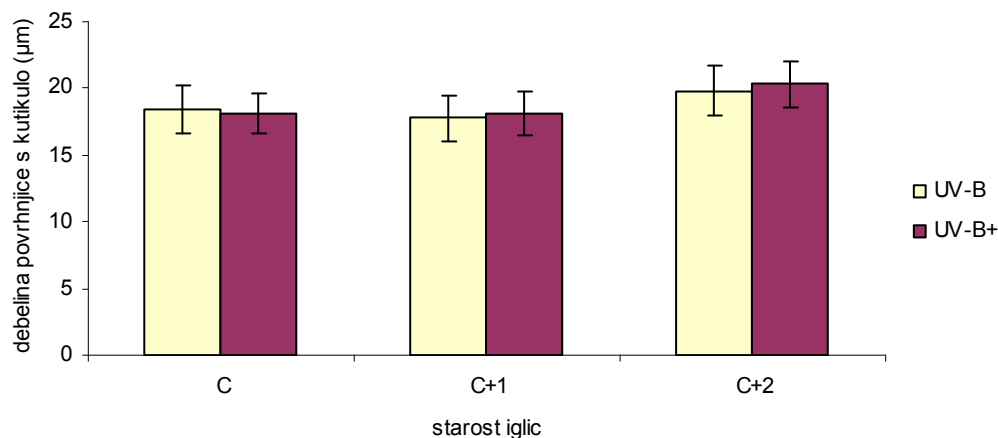
Pri UV-B+ obravnavanju je premer smolnega kanala statistično značilno večji v primerjavi s kontrolo pri dveletnih in triletnih iglicah, pri enoletnih iglicah pa je statistično značilno manjši.



Slika 17: Premer smolnega kanala pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

4.2.4 Debelina povrhnjice s kutikulo

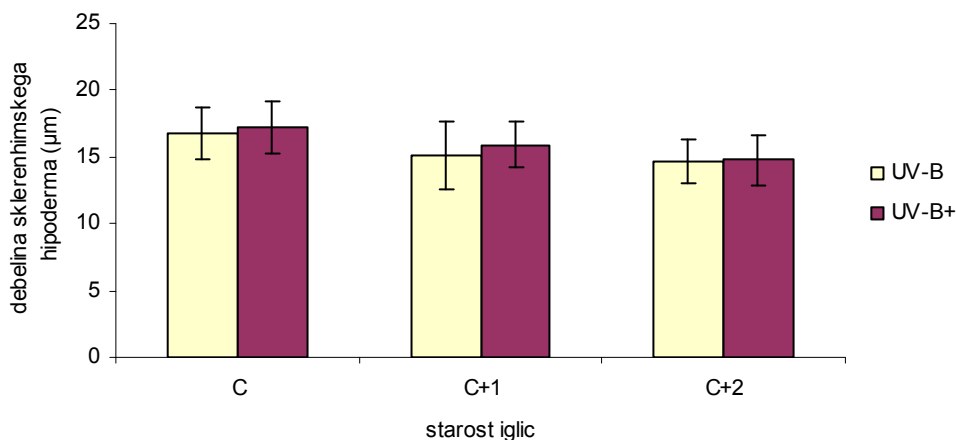
Statistično značilnih razlik v debelini povrhnjice s kutikulo nismo dobili.



Slika 18: Debelina povrhnjice s kutikulo pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

4.2.5 Debelina sklerenhimskega hipoderma

Pri naših meritvah smo dobili večjo debelino sklerenhimskega hipoderma pri vseh starostnih razredih iglic z UV-B+ obravnavanjem v primerjavi s kontrolo, vendar razlike niso statistično značilne.

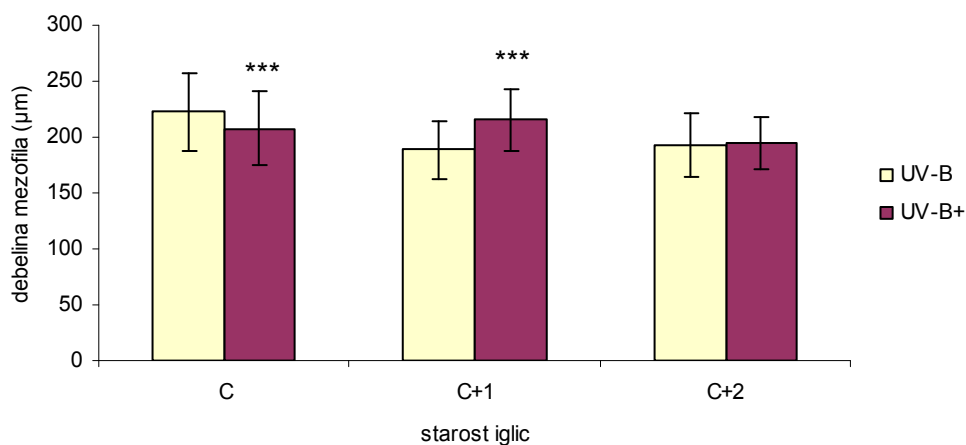


Slika 19: Debelina sklerenhimskega hipoderma pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5.

Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

4.2.6 Debelina mezofila

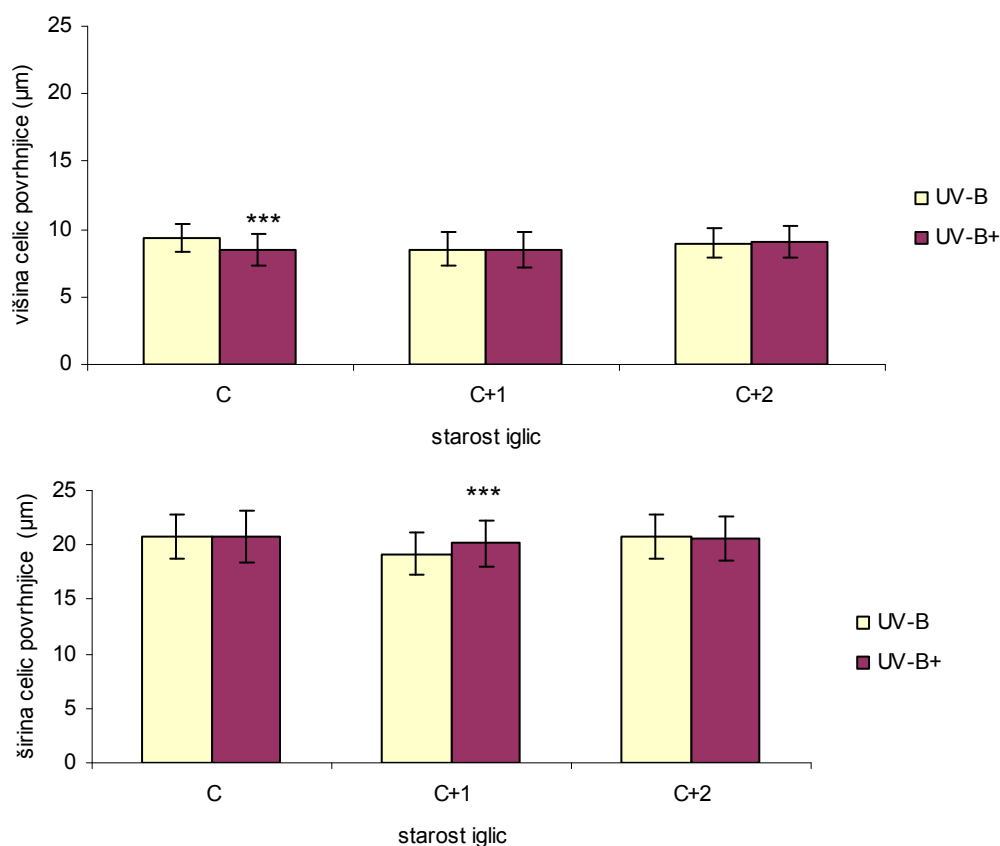
Pri naših meritvah smo pri enoletnih iglicah z UV-B+ obravnavanjem izmerili statistično značilno manjšo debelino mezofila v primerjavi s kontrolo. Pri dveletnih iglicah z UV-B+ obravnavanjem smo izmerili statistično značilno večjo debelino mezofila v primerjavi s kontrolo. Pri triletnih iglicah z UV-B+ obravnavanjem pa je debelina mezofila večja v primerjavi s kontrolo, vendar razlika ni statistično značilna..



Slika 20: Debelina mezofila pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

4.2.7 Velikost celic povrhnjice

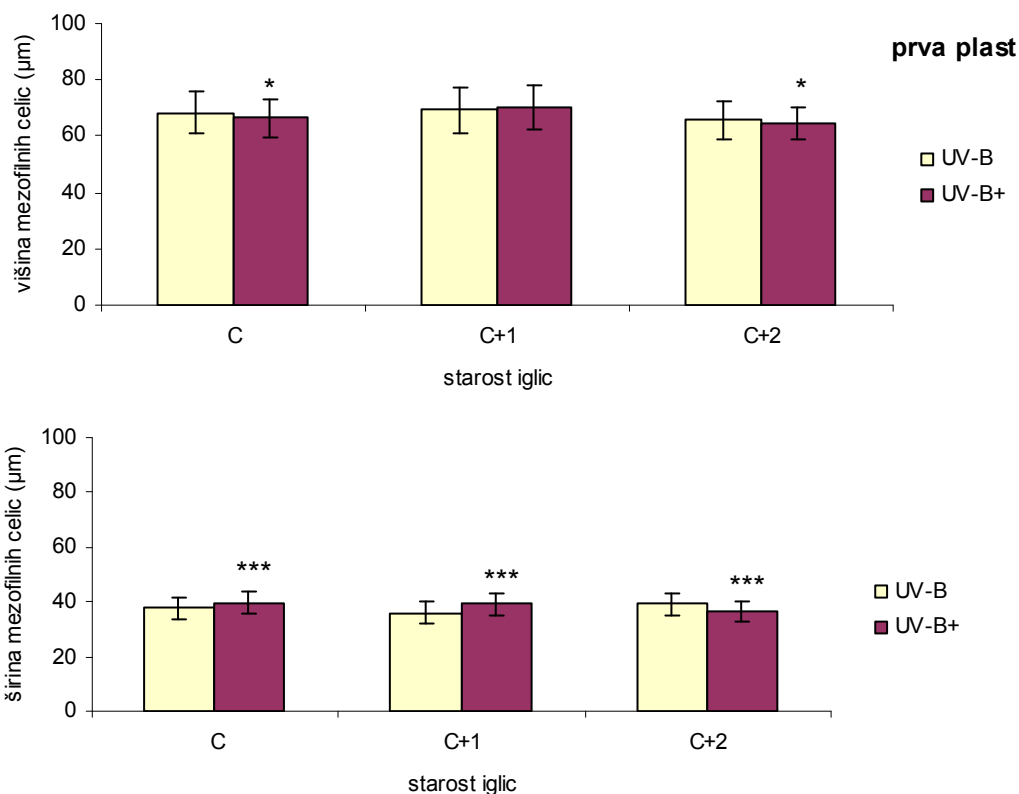
Višina celic povrhnjice je statistično značilno manjša pri enoletnih iglicah in nekoliko večja pri dveletnih in triletne iglicah z UV-B+ obravnavanjem v primerjavi s kontrolo, vendar razlika ni statistično značilna. Širina celic povrhnjice pri iglicah z UV-B+ obravnavanjem v primerjavi s kontrolo je večja pri enoletnih iglicah in statistično značilno večja pri dveletnih iglicah ter manjša pri triletne iglicah.



Slika 21: Višina in širina celic povrhnjice pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletne (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanjje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

4.2.8 Velikost mezofilnih celic

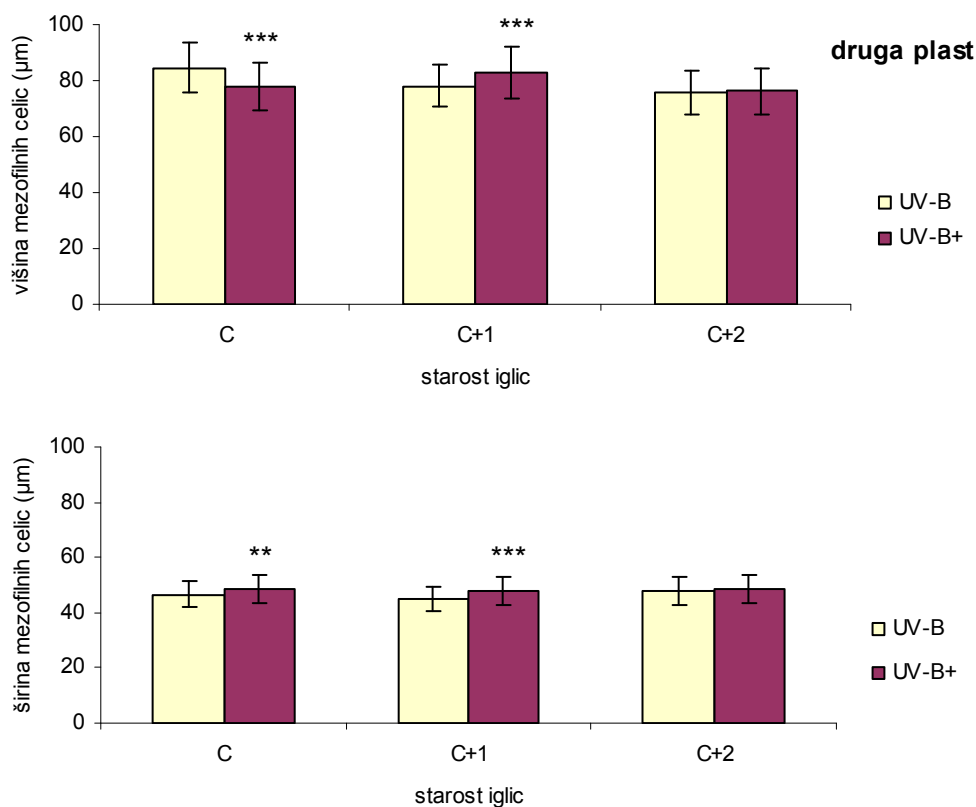
V **prvi plasti** smo izmerili statistično značilno manjšo višino mezofilnih celic pri enoletnih in triletnih iglicah z UV-B+ obravnavanjem v primerjavi s kontrolo. Pri dveletnih iglicah pa je bila višina mezofilnih celic nekoliko večja, vendar ne statistično značilna. Širina mezofilnih celic je bila statistično značilno večja pri enoletnih in dveletnih iglicah z UV-B+ obravnavanjem v primerjavi s kontrolo, in statistično značilno manjša pri triletnih iglicah z UV-B+ obravnavanjem.



Slika 22: Višina in širina celic mezofila v prvi plasti pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5.

Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

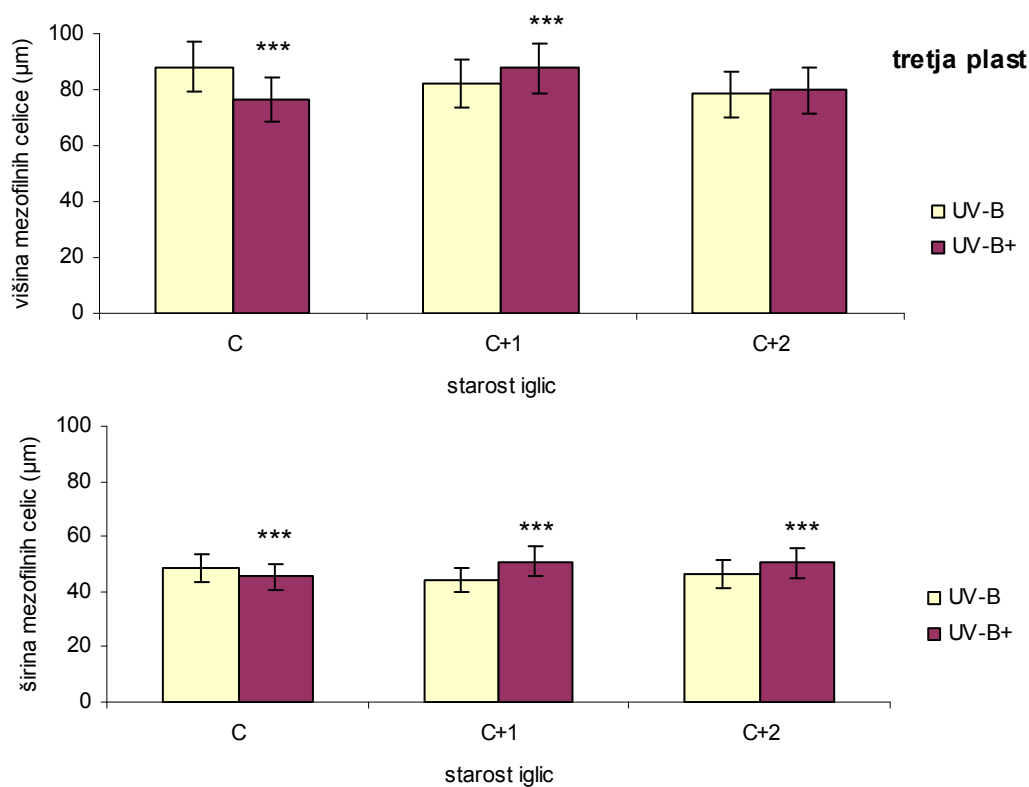
V **drugi plasti** smo pri enoletnih iglicah z UV-B+ obravnavanjem izmerili statistično značilno manjšo višino mezofilnih celic in pri dveletnih iglicah statistično značilno večjo višino mezofilnih celic v primerjavi s kontrolo. Širina mezofilnih celic pa je pri vseh starostnih razredih iglic z UV-B+ obravnavanjem večja kot pri kontroli, vendar statistično značilno le pri enoletnih in dveletnih iglicah.



Slika 23: Višina in širina celic mezofila v drugi plasti pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5.

Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

V **tretji plasti** je višina mezofilnih celic statistično značilno večja pri dveletnih iglicah z UV-B+ obravnavanjem in statistično neznačilno višja pri triletnih iglicah v primerjavi s kontrolo. Statistično značilno pa je v primerjavi s kontrolo manjša višina mezofilnih celic pri enoletnih iglicah. Širina mezofilnih celic pa je statistično značilno večja pri dveletnih in triletnih iglicah z UV-B obravnavanjem in statistično značilno manjša pri enoletnih iglicah v primerjavi s kontrolo.

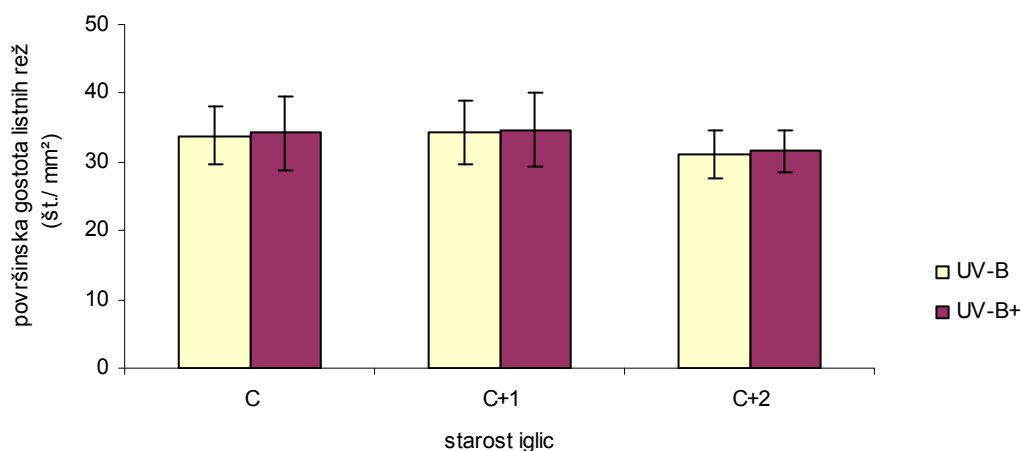


Slika 24: Višina in širina celic mezofila v tretji plasti pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5.

Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

4.2.9 Površinska gostota listnih rež

Pri naših meritvah smo izmerili večjo površinsko gostoto listnih rež pri vseh starostnih razredih iglic, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju v primerjavi s kontrolo, vendar pa statistično značilnih razlik nismo dobili.



Slika 25: Površinska gostota listnih rež pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), $n = 5$. Dvosmerni Studentov T test med UV-B+ in UV-B (kontrola); neznačilna razlika: brez oznake, značilna razlika: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

5 RAZPRAVA

Rastline so različno občutljive na UV sevanje. Nekatere so zelo občutljive, medtem ko so druge odpornejše, odvisno od zaščitnih sposobnosti in učinkovitosti popravljalnih mehanizmov posamezne rastlinske vrste (Rozema, in sod., 1995). Občutljivost na UV-B sevanje, ki se kaže v relativni spremembi rasti, morfologiji ali dejanski fotokemični učinkovitosti, je odvisna od vrste rastline, gojenja, razvojne stopnje in eksperimentalnih pogojev (Laakso in Huttunen, 1998). Eksperimentalno delo kaže, da so vrste in populacije, ki izvirajo iz območja z naravno visokim UV-B sevanjem (velike nadmorske višine, majhne zemljepisne širine) manj občutljive na povečano UV-B sevanje kot vrste in populacije iz območij z naravno nizkim UV-B sevanjem (manjše nadmorske višine in večje zemljepisne širine) (van de Staaij, 1995).

5.1 UČINKI RAZLIČNIH JAKOSTI UV-B SEVANJA NA POŠKODBE CELIČNIH MEMBRAN

Vse membrane v celici imajo podobno zgradbo in delujejo kot povezan membranski sistem, ki vključuje tako plazmalemo kot različne membranske organele. Sestavljene so iz dvojnega sloja fosfolipidov, ki so impregnirani s proteini. Vsaka membrana nadzoruje koliko in katere snovi bodo šle skozi. To pomeni, da ima vsaka membrana drugačno membransko selektivnost, ki je odvisna od strukture membrane. Sestava in fizikalne lastnosti membran se tekom celičnega razvoja lahko spreminjajo (Dermastia, 2006). Negativni vpliv povečanega UV-B sevanja je viden na celičnih in organelnih membranah (Farooq in sod., 2000).

Poškodbe membran smo ocenjevali z merjenjem sprememb v električni prevodnosti bidestilirane vode v katero smo dali iglice. S tem smo merili količino ionov, ki prehajajo iz celic iglic s poškodovanimi membranami. Spremembe v prevodnosti membran vodijo v izgubo elektrolitov in topnih ogljikovodikov. Prepuščanje elektrolitov iz celic zaradi poškodovanih membran se navadno pojavi pred spremembami respiracije in fotosinteze

(Silberstein, 1996a). Prevodnost raztopine je pri vseh meritvah in pri vseh starostnih razredih iglic z različnim obravnavanjem z UV-B naraščala s časom namakanja iglic v raztopini.

Po kratkotrajnem namakanju opazimo velike razlike med rezultati. Pri nekateri vzorcih iglic, ki so bili izpostavljeni povečanemu UV-B sevanju, so njihove prevodnosti raztopin pri zgodnjih meritvah podobne ali pa celo statistično značilno manjše v primerjavi z vzorci iglic kontrole. Ioni, ki so prisotni v bidestilirani vodi po kratkotrajnem namakanju lahko izvirajo iz samih celic, kot posledica močne poškodovanosti membran, obstaja pa tudi možnost, da izvirajo iz različnih nečistoč na iglicah, kljub temu, da smo jih prej očistili v destilirani vodi. Zaradi velike variabilnosti rezultatov pri kratkotrajnem namakanju vzorcev iglic sklepamo, da so za ocenitev poškodovanosti membran pomembni predvsem rezultati, ki jih dobimo z merjenjem prevodnosti raztopine po daljšem namakanju iglic.

Pri iglicah (izjema so bile le triletne iglice pri meritvah v mesecu maju), ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, smo po maksimalnem času namakanja (48 ur), pri vseh starostnih razredih (c, c+1, c+2) in pri vseh časovnih obdobjih meritev (december, marec, maj in avgust) opazili večjo poškodovanost membran v primerjavi z iglicami kontrole. Vendar pa smo statistično značilne razlike dobili le pri enoletnih iglicah pri meritvah v mesecu marcu in maju.

Tudi An s sodelavci (2003) so kot mero za ocenitev poškodovanosti membran listov sejank navadne kumare (*Cucumis sativus*) uporabili metodo merjenja prevodnosti raztopine, v kateri so 16 ur namakali liste sejank, ki so bile predhodno izpostavljene dvema različnima dodanima biološko učinkovitima UV-B sevanjema (UV-B_{BE}) (dnevno 8.82 kJ/m² in 12.6 kJ/m²). Njihovi rezultati so ravno tako pokazali večjo prevodnost raztopine v kateri so namakali kumarične liste, ki so bili izpostavljeni večji količini dodanega UV-B sevanja. Na podlagi tega so si razlagali, da večja količina dodanega UV-B sevanja povzroči večjo poškodovanost membran in hkrati tudi celic listov navadne kumare.

Glede na naše rezultate smo opazili, da povečano UV-B sevanje negativno vpliva na membrane iglic. Statistično značilno večjo poškodovanost membran pa povzroča le pri nekaterih mladih iglicah, ki so v času razvoja najbolj občutljive.

Učinek povečanega UV-B sevanja na poškodbe celičnih membran je bil največji pri enoletnih iglicah, manjši pri dveletnih iglicah in najmanjši pri triletnih iglicah. Epitekularna voskasta prevleka je v prvih mesecih razvoja iglic smreke zelo tanka (Cape in Percy, 1993), zato so mlade iglice bolj kot odrasle iglice izpostavljene temperaturnemu, vodnemu in sevalnemu stresu ter vplivu zračnega onesnaževanja (Gordon in sod. 1998). Manjši učinek sevanja pri starejših iglicah pripisujemo tudi manjšim odmerkom UV-B sevanja zaradi zasenčenosti ter nepopolno razvitim zaščitnim mehanizmom pri enoletnih iglicah, ki so v obdobju intenzivne rasti in razvoja (Flint in Caldwell, 1984). Predvidevamo, da se poškodbe in prilagoditve, ki nastanejo v času zgodnjega razvoja iglic, izražajo še pri odraslih iglicah. Fiziološki in biokemijski odzivi rastline se spreminjajo s staranjem iglice, glede na okoljske razmere, ki so jim bile rastline tekom ontogeneznega razvoja izpostavljene.

Pri enoletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, smo opazili največjo poškodovanost membran po maksimalnem času namakanja iglic (48ur) pri meritvah konec meseca decembra 2001, vendar pa razlika v primerjavi s kontrolo ni bila statistično značilna. V mesecu decembru so prevladovale zelo nizke temperature zraka, skoraj ves čas pod 0°C.

Večina iglavcev, med njimi tudi navadna smreka, kažejo visoko odpornost na nizke temperature. Stres zaradi nizkih temperatur (pod 0°C) lahko povzroči poškodbe celičnih membran, spremembe v premeabilnosti membrane in spremembe metabolnih procesov (Borsos-Matovina, 1997). Obstaja možnost, da je prišlo do sinergističnega delovanja nizkih temperatur, fiziološke suše in UV-B sevanja, kar pa je povzročilo največjo poškodovanost membran pri enoletnih iglicah, ki so najbolj občutljive. Nizke temperature zaviralno delujejo na encimsko aktivnost, zato se upočasnijo popravljalni procesi. Tudi Bavcon in sodelavci

(1996) so opazili povečano občutljivost smreke za ultravijolično sevanje ob sočasnem delovanju nizkih temperatur.

Statistično značilno večjo poškodovanost membran enoletnih iglic, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju v primerjavi s kontrolo, smo po maksimalnem času namakanja (48 ur) opazili pri meritvah v mesecu marcu in mesecu maju.

Za mesec marec predvidevamo, da so naši rezultati posledica predhodnega skupnega delovanja najmanj dveh stresnih dejavnikov; UV-B sevanja in nizkih temperatur, ki so se nadaljevale še v mesecu januarju. Svoje je prispevala neprekinjena izpostavljenost povečanemu UV-B sevanju, ki mu enoletne iglice kontrolne skupine niso bile izpostavljene, zato so bili verjetno popravljalni mehanizmi pri njih bolj uspešni. V mesecu maju pa so rezultati samo potrdili našo hipotezo, da so mlade iglice v zgodnjih stopnjah razvoja, zelo občutljive na UV-B sevanje.

Sullivan in sod. (1996) so s pomočjo optičnih vlaken izmerili, da v mezofil odrasle iglice bora *Pinus tadea* z nižinskih rastišč prodre manj kot 0,5 % UV-B sevanja, medtem ko v mlado iglico prodre 1 % UV-B sevanja, ker zaščitne snovi in mehanizmi še niso popolnoma razviti.

Pri dveletnih in triletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, smo ugotovili, da so največje poškodbe membran (merjeno po maksimalnem času namakanja - 48 ur) iglic nastale poleti (začetek avgusta). Poleti je jakost zunanjega (naravnega) UV-B sevanja največja, torej je rezultat pričakovan, ker so bile rastline poleti izpostavljene največji intenziteti UV-B sevanja.

Statistično značilnih razlik po maksimalnem času namakanja (48 ur) pri dveletnih in triletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, v primerjavi s kontrolo nismo dobili v nobenem časovnem obdobju meritev (december, marec, maj in avgust). Sklepamo, da imajo odrasle iglice učinkovito epidermalno absorpcijo in dobro razvite zaščitne mehanizme.

K dobri absorpciji UV-B sevanja pri vednozelenih iglavcih prispevajo anatomske značilnosti epidermide in velika vsebnost UV-B absorbirajočih snovi (DeLucia in sod., 1992).

5.2 UČINKI RAZLIČNIH JAKOSTI UV-B SEVANJA NA ANATOMIJO IGLIC

5.2.1 Mikroskopsko vidna notranja zgradba iglice navadne smreke

Iglice navadne smreke so bifacialni tip listov, kjer se bolj ali manj enakomerno razvijeta zgornja in spodnja ploskev listne zasnove. Po obliki je poseben tip okroglega ekvifacialnega lista, ki kaže kseromorfno zgradbo ali prilagoditev na pomanjkanje vlage v zimskem času.

Pri pregledu prečnih prereзов iglic različnih starostnih razredov z različnimi UV-B obravnavanjem smo na splošno opazili naslednje:

- Povrhnjico prekriva kutikula, ki je razmeroma debela.
- Listne reže so ugreznjene.
- Tik pod povrhnjico leži hipodermis, ki ga sestavljata 1 - 2 plasti sklerenhimatskih celic.
- Mezofil je enotnega izgleda, sestavljen iz 3 - 4 plasti celic. Celice so dokaj velike in imajo značilno valovite celične stene.
- V notranjosti je centralni cilindar, ki ga obdaja endodermis. V centralnem cilindru so celice transfuzijskega parenhima in žila ločena na dva. Žilo sestavljata živi floem, razporejen v stebričke in ksilem, ki ga sestavljajo traheide.

5.2.2 Mediani prečni prerez iglice

Rastline se lahko odzovejo na okoljske spremembe ne le s hitro aklimacijo, ampak tudi s posebnimi dolgoročnimi adaptacijami; spremenjeno velikostjo in debelino lista, gostoto listnih rež, strukturo in funkcijo kloroplastov ter s stopnjo encimov (Lichtenthaler, 1996).

Rezultati našega poskusa kažejo manjšo višino in širino medianih prečnih prereзов enoletnih iglic, ki so rasle pod povečanim UV-B sevanjem, vendar statistično značilnih razlik nismo

izmerili. Laakso in sod. (2000) v svojem članku podajajo možno razlago o redukciji prečnega prereza in mezofilnega področja pri 61 dni starih iglic sejank *Pinus tadea* in *Pinus sylvestris*, ki so rasle pod povečanim UV-B sevanjem. Ugotovili so, da zmanjšanje prečnega prereza iglice sovpada z istočasnim debeljenjem zunanje celične stene povrhnjice. Predvidevajo, da se je več ogljika preusmerilo za zaščitne mehanizme v povrhnjici za ceno zmanjšanja fotosinteznega področja iglice. Pri dveletnih in triletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, pa smo izmerili statistično značilno večjo višino in širino medianih prečnih prerezov. Z UV-B sevanjem je pogosto inducirana večja debelina listov, ki zmanjšuje prodor UV-B sevanja do notranjih tkiv v listu. Prodiranje UV-B sevanja variira med različnimi rastlinskimi vrstami, kar se odraža v različnih občutljivostih teh vrst. Največji prodor je bil ugotovljen pri zelnatih dvokaličnicah, manjši pa pri lesnatih dvokaličnicah, travah in iglavcih. Prodiranje UV-B sevanja se spreminja tudi z starostjo listov. Mlajši listi so bolj občutljivi kot starejši, kot je bilo ugotovljeno pri nekaterih iglavcih (Caldwel in sod., 1998).

5.2.3 Premer centralnega cilindra

Prevodna tkiva so sestavljena tkiva, namenjena prenosu vode in v njej raztopljenih snovi na dolge razdalje. Pri višjih rastlinah se razvijeta dva prostorsko večinoma dobro razmejena, vendar povezana prevodna sistema. Ksilem omogoča prenos vode in mineralov iz korenin v ostale dele rastline in daje oporo. Floem prenaša v vodi raztopljene organske snovi od mest sinteze do mest porabe. Prevodni elementi se združujejo v žilne snope, v katerih so lahko prisotne še založne parenhimske celice in mehanske sklerenhimske celice. Glede na potek ksilema in floema ločimo več tipov žil. Pri iglicah smreke pod endodermom v centralnem cilindru leži transfuzijsko tkivo, ki olajšuje transport snovi med žilami. V transfuzijskem tkivu ležijo kolateralne žile, ki so obdane s sklerenhimskimi vlakni. V naši raziskavi smo opazili, da je pri UV-B+ obravnavanju v primerjavi s kontrolo, premer centralnega cilindra večji pri vseh starostnih razredih, vendar statistično značilno le pri dveletnih iglicah.

5.2.4 Premer smolnega kanala

Sekundarni metaboliti so produkti rastline, brez katerih bi rastlina še vedno lahko normalno delovala. Poleg vrstno nespecifičnih primarnih metabolitov, ki so v rastlinskem organizmu neposredno povezani z energetske metabolizmom in so bistveni za sintezo strukturnih elementov ter za rast in razvoj rastlin, nastajajo v rastlinskih organih, tkivih in celicah tudi spojine, katerim pogosto ni mogoče opredeliti fiziološke ali evolucijske funkcije. Sekundarni metaboliti se lahko odlagajo v intercelularje. Shizogeni tip ekskretornih intercelularjev, so tudi **smolni kanali** iglavcev, ki se nahajajo v asimilacijskem tkivu iglic (Krajnčič, 1984). Smole so sekundarni metaboliti v razredu terpenov. Pri iglavcih nastaja smola v posebnih žleznih celicah in se kasneje izloča v smolne kanale. Smole ščitijo rastline pred gnitjem, trohnenjem, preveliko transpiracijo (Sinkovič, 2000) ter odvrtaajo in preprečujejo žuželkam, da bi se hranile z rastlinskimi deli. Premer smolnih kanalov je pri enoletnih iglicah z UV-B+ obravnavanjem statistično značilno manjši in statistično značilno večji pri dveletnih in triletnih iglicah v primerjavi s kontrolo.

5.2.5 Debelina povrhnjice s kutikulo

Povrhnjica nastane iz protoderma. Pokriva, vsaj na začetku, vse nadzemne dele rastlin. Praviloma je enoplastna, pri rastlinah, ki rastejo na ekstremnih rastiščih, je lahko večplastna (Krajnčič, 1984). Opravlja mnogo nalog, kot so zaščita pred izhlapevanjem, patogeni, rastlinojedi, vetrom in sevanjem. Celice povrhnjice so večinoma parenhimatske. Imajo primarno celično steno, veliko vakuolo ter so brez kloroplastov in medceličnih prostorov. Navzven izločajo kutikulo, tj. maščobno plast iz kutina, ki preprečuje izsuševanje. Nad kutikulo je lahko v obliki ploščic in paličic naložen še vosek (Dolenc Koce, 2004). Za iglavce je značilna zelo debela kutikula (Krajnčič, 1984). K manjši prepustnosti povrhnjice za UV sevanje poleg absorpcije flavonoidov prispevajo tudi debelina povrhnjice, lastnosti kutikule in ostale celične komponente (Cadwell in sod., 1982). Listi ki, ki so izpostavljeni močni svetlobi, imajo tudi debelejšo kutikulo (Lichtenthaler, 1996).

Rezultati našega merjenja **debeline** listne povrhnjice s kutikulo niso pokazali statistično značilnih razlik, opazili pa smo da je pri dveletnih in triletnih iglicah med UV-B+ obravnavanjem v primerjavi s kontrolo debelina povrhnjice s kutikulo nekoliko večja.

5.2.6 Debelina sklerenhimskega hipoderma

Povrhnjice je na svoji spodnji strani ojačana s sklerenhimskimi celicami, ki sestavljajo sklerenhimski hipoderm. Razlike v debelini hipoderma niso statistično značilne, opazili pa smo, da je pri UV-B+ obravnavanju v primerjavi s kontrolo debelina hipoderma večja pri vseh starostnih razredih.

5.2.7 Debelina mezofila

Fotosintezni parenhim (klorenhim) najdemo v vseh zelenih delih rastlin, predvsem pa v listih. Celice vsebujejo veliko število kloroplastov. Pri iglavcih imajo celice fotosinteznega parenhima svojo površino - zaradi zmanjšane listne površine - močno povečano s številnimi gubami.

V naši raziskavi smo v primerjavi s kontrolo izmerili statistično značilno manjšo debelino mezofila enoletnih iglic, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju. Ena od možnih razlag je preusmeritev asimilatov za izgradnjo zaščitnih snovi v povrhnjici, za ceno manjšega področja mezofila. Pri dveletnih in triletnih iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, je bila debelina mezofila večja kot pri kontroli, vendar smo statistično značilne razlike dobili le pri dveletnih iglicah. Pri listih, izpostavljenih UV-B sevanju, pogosto izmerimo zmanjšanje specifične listne površine ter povečanje specifične listne teže zaradi povečanja debeline lista (Adamse in sod. 1994). Do povečanja specifične listne teže pride na račun spremenjene listne anatomije, povečanega števila celic gobastega tkiva ali palisadnega tkiva ali pa zaradi podaljšanja celic palisadnega tkiva. Odgovor je specifičen za posamezno rastlinsko vrsto, verjetno pa predstavlja zaščito pred prodiranjem UV-B sevanja v list (Cen in Bornman, 1990).

5.2.8 Velikost celic povrhnjice

Celice povrhnjice so žive, imajo veliko vakuolo in praviloma ne vsebujejo kloroplastov, razen pri rastlinah na rastiščih s šibko intenziteto svetlobe. Zunanja stena celic je pogosto odebeljena in kutinizirana. Celice povrhnjice oblikujejo različne diferenciacije. Pri iglavcih imajo celice povrhnjice močno odebeljene celične stene. Povrhnjica predstavlja učinkovito zaščito pred UV-B sevanjem. Ta prilagoditev iglicam omogoča dolgoživost in akumulacijo velike količine UV-B sevanja tekom celotne življenjske dobe (Del Lucia in sod., 1992).

Povečanje debeline povrhnjice pa ne pomeni samo zaščite pred UV-B sevanjem, ampak lahko pripomore k rasti rastline, saj izboljša njen vodni režim (Sullivan s sod., 1996). Povrhnjica se zaradi prerazporejanja asimilatov odebeli, rezultat tega je zmanjšana fotosintezna površina, ki lahko vodi v zmanjšano rast iglic (Laakso, 1999). Pri naših meritvah nismo zaznali težnje povečanja višine celic povrhnjice pri iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju. Pri enoletnih iglicah smo izmerili celo statistično značilno manjšo višino celic povrhnjice. Pri dveletnih iglicah pa smo izmerili statistično značilno večjo širino celic povrhnjice.

5.2.9 Velikost mezofilnih celic

Listi, ki so izpostavljeni močni sončni svetlobi, imajo majhno površino, da zmanjšajo stopnjo transpiracije in so debelejši, ker imajo daljše celice ali celo dve vrsti celic palisadnega tkiva, saj so tako boljše zaščiteni pred stresom zaradi UV-B sevanja (Lichtenthaler, 1996). Pri našem merjenju velikosti mezofilnih celic smo v primerjavi s kontrolo ugotovili statistično značilno manjšo višino celic enoletnih iglic, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju. Pri dveletnih in triletnih iglicah pa večjo višino celic iglic z UV-B+ obravnavanjem v primerjavi s kontrolo v drugi in tretji plasti, vendar so bile razlike statistično značilne le pri dveletnih iglicah. Statistično značilno širše celice iglic z UV-B+ obravnavanjem pa smo dobili v prvi in drugi plasti pri enoletnih in dveletnih iglicah in v tretji plasti pri dveletnih in triletnih iglicah. Ugotovili smo tudi, da so v prvi plasti pri vseh starostnih razredih in UV-B obravnavanjih

mezofilne celice manjše kot v drugi, tretji in četrti plasti. Pri nekaterih iglicah je prisotna tudi četrta plast, katere celic pa nismo merili.

5.2.10 Površinska gostota listnih rež

Listne reže so epidermalne tvorbe in so pomembni regulatorji stomatarne transpiracije in fotosinteze. Pomembne so tudi pri hlajenju listov in črpanju hranil iz tal. Omogočajo izmenjavo plinov (CO₂, O₂ in vodna para). Odpiranje in zapiranje listnih rež omogoča turgescentno stanje celic zapiralk, na proces zapiranja in odpiranja pa vplivajo številni zunanji in notranji dejavniki. Najpomembnejši zunanji dejavniki so svetloba, temperatura, zračna vlažnost in koncentracija CO₂ v zraku (Sinkovič, 2000). Listne reže so pri iglavcih močno ugreznjene, da je ustvarjen brezveterni prostor nad režami, kar zmanjšuje transpiracijo (Sinkovič, 2000). Kakani s sodelavci (2003) so pri bombaževcu (*Gossypium hirsutum*) izmerili statistično značilno večjo gostoto listnih rež na adaksialni in abaksialni strani listov rastlin, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju v primerjavi s kontrolo. Ugotavljajo, da UV-B sevanje vpliva na rastline podobno kot suša - z zmanjšanjem listne površine in kot temperaturni stres - z naraščanjem števila rež. V naši raziskavi nismo dobili statistično značilnih razlik v površinski gostoti listnih rež pri iglicah z različnim UV-B obravnavanjem. Opazili pa smo trend večanja števila rež pri iglicah, ki so rasle pri povečani jakosti UV-B sevanja.

5.3 SKLEPI

- Povečano UV-B sevanje je značilno učinkovalo na nekatere anatomske parametre pri posameznih starostnih razredih iglic.
- Povečano UV-B sevanje je povzročilo poškodbe membran iglic vseh starostnih razredov, statistično značilno pa le pri enoletnih iglicah.
- Učinki povečanega UV-B sevanja na poškodovanost membran in anatomijo iglice so odvisni od razvojne stopnje iglice. Poškodbe membran so bile največje pri enoletnih iglicah, manjše pri dveletnih in najmanjše pri triletnih iglicah. Povečano UV-B sevanje vpliva na anatomske parametre enoletnih iglic drugače kot na anatomske parametre dveletnih in triletnih iglic.
- Pri smrekah, ki so bile štiri leta izpostavljene povečanemu UV-B sevanju nismo zaznali kopičenja negativnih učinkov.

6 POVZETEK

Zaradi tanjšanja ozonske plasti, ki je posledica antropogenih emisij klorofluorogljikov in dušikovih oksidov v ozračje, se povečuje količina UV-B sevanja, ki doseže površino zemlje. Zaradi UV-B dela spektra sevanja, ki škodljivo vpliva na ljudi, živali, rastline in kopenske ter vodne ekosisteme, predstavlja to velik okoljevarstveni problem.

V naši nalogi smo ugotavljali učinke povečanega UV-B sevanja, ki ustreza 17 % stanjšanju ozonske plasti, na štiriletne sejanke smreke (*Picea abies*). Zanimalo nas je, kakšen vpliv ima povečano UV-B sevanje na poškodovanost membran in notranjo zgradbo različnih starostnih razredov iglic, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju.

Rastline so bile štiri leta izpostavljene trem različnim nivojem UV-B sevanja: zmanjšani intenziteti UV-B sevanja (UV-B-), naravni intenziteti UV-B sevanja s povečanim UV-A delom spektra (UV-B (kontrola)) ter povečani intenziteti UV-A in UV-B dela spektra, ki ustreza 17 % redukciji ozona, ki pomeni od 40-70 % povečanja naravne intenzitete UV-B_{BE} sevanja (UV-B+). Zaradi neenakih mikroklimatskih in temperaturnih razmer pri UV-B- obravnavanju teh rezultatov nismo upoštevali, primerjali smo le UV-B+ obravnavanje in kontrolo.

Z merjenjem spremembe v električni prevodnosti bidestilirane vode, v katero smo dali iglice, smo ocenili poškodovanost membran. S tem smo merili količino ionov, ki so izhajali iz celic s poškodovanimi membranami. Meritve smo opravili štirikrat; decembra 2001 ter v marcu, maju in avgustu 2002. Merili smo tudi anatomske parametre iglic: višino in širino prečnega prereza iglic, premer centralnega cilindra, premer smolnih kanalov, debelino kutikule in povrhnjice, debelino sklerenhimskega hipoderma, debelino mezofila, višino in širino celic povrhnjice in mezofilnih celic ter površinsko gostoto listnih rež.

Glede na rezultate sklepamo, da je navadna smreka (*Picea abies*) dokaj odporna na povečanje UV-B sevanja, saj je povečano UV-B sevanje v primerjavi z zunanjim (naravnim) UV-B sevanjem po štirih letih izpostavitve povzročilo statistično večjo poškodovanost membran le pri enoletnih iglicah v mesecu marcu in maju. Kljub temu pa smo opazili težnjo večje poškodovanosti membran zaradi povečanega UV-B sevanja, ker smo skoraj pri vseh iglicah, ki so bile izpostavljene povečanemu UV-B sevanju, po maksimalnem času namakanja opazili večjo poškodovanost membran v primerjavi z iglicami kontrole. Opazili smo, da so učinki povečanega UV-B sevanja največji pri enoletnih iglicah, manjši pri dveletnih in najmanjši pri triletnih iglicah. Vidna je tudi različna poškodovanost membran v različnih časovnih obdobjih meritev, kar si razlagamo s tem, da so pomembne tudi okoljske razmere (svetlobna jakost, temperaturne razmere, razpoložljiva voda in hranila...), ki vzajemno z UV-B sevanjem delujejo na rastlino.

Pri meritvah anatomskih parametrov iglic smo ugotovili, da je povečano UV-B sevanje statistično značilno učinkovalo na nekatere anatomske parametre pri posameznih starostnih razredih iglic v primerjavi z iglicami kontrole, učinki na enoletne iglice pa so se razlikovali od učinkov na dveletne in triletne iglice.

Višina in širina prečnega prereza iglice je bila večja pri dveletnih in triletnih iglicah in statistično neznačilno manjša pri enoletnih iglicah. Debelina mezofila je bila pri enoletnih iglicah manjša, večja pa pri dveletnih iglicah in statistično neznačilno večja pri triletnih iglicah. Večanje debeline dveletnih in triletnih iglic je lahko eden od možnih odgovorov na povečano jakost UV-B sevanja.

Premer smolnega kanala je bil manjši pri enoletnih iglicah in večji pri dveletnih in triletnih iglicah. Pri merjenju velikosti celic smo pri celicah povrhnjice izmerili manjšo višino celic pri enoletnih iglicah in večjo širino celic povrhnjice pri dveletnih iglicah. Pri mezofilnih celicah pa smo pri enoletnih iglicah izmerili manjšo višino in večjo širino celic v prvih dveh plasteh ter manjšo višino in širino celic v tretji plasti. Pri dveletnih iglicah smo izmerili večjo višino in

širino celic v vseh treh plasteh. Pri triletnih iglicah pa smo opazili težnjo večje višine in širine celic v drugi in tretji plasti, vendar pa je statistično značilna le večja širina celic v tretji plasti.

Pri drugih merjenih parametrih nismo izmerili statistično značilnih razlik, vendar pa je opazen trend večje debeline sklerenhimskih celic, večjega premera centralnega cilindra, večje površinske gostote listnih rež pri vseh starostnih razredih iglic in večje debeline povrhnjice s kutikulo pri dveletnih in triletnih iglicah.

Kopičenja vplivov povečanega UV-B sevanja po štirih letih izpostavitve nismo zaznali.

Rezultati so pokazali, da je odpornost smreke odvisna od okoljskih razmer in razmer tekom ontogeneznega razvoja iglic.

7 VIRI

- Adamse P., Britz S., Caldwell C. L. 1994. Amelioration of UV-B damage under high irradiance. II. Role of blue light photoreceptors. *Photochemistry and Photobiology*, 60: 110-115
- An L. Z., Liu G. X., Zhang M. X., Chen T., Liu Y. H., Feng H. Y., Xu S. J., Qiang W. Y., Wang X. L. 2004. Effect of Enhanced UV-B Radiation on Polyamine Content and Membrane Permeability in Cucumber Leaves. *Russian Journal of Plant Physiology*, 51, 5: 658-662
- Batič F. 1999. Bioindikacija prizemnega ozona. Ljubljana, Zavod Republike Slovenije za šolstvo: 167 str.
- Bavcon J., Druškovič B., Gogala N. 1999. Vpliv UV-B sevanja na rast in mitotsko aktivnost pri smreki (*Picea abies* (L.) Karst.). *Acta Biologica Slovenica*, 42, 2: 9- 16
- Bavcon J., Gaberščik A. Batič F. 1996. Influence of UV-B radiation on photosynthetic activity and chlorophyll fluorescence kinetics in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seedlings. *Trees*, 10: 172-176
- Björn L. O. 1998. UV-B effects: targets and receptors. Concepts in photobiology: photosynthesis and photo morphogenesis (G. S. Singhal in sod., eds.). Narosa Publishing House, New Delhi: 793-804
- Björn L. O. 1999. Effects of ozone depletion and increased ultraviolet-B radiation on terrestrial plants. Fundamentals for the assessment of risks from environmental radiation, Kluwer Academic Publishers: 436-470

- Bornman J. F., Teramura A. H. 1993 Effects of ultraviolet-B radiation on terrestrial plants. V: Young A. R., Björn L. O., Moan J., Nultsch W. (eds.). Environmental UV photobiology. Plenum Press, New York: 427–471
- Bornman J.F., Vogelmann T.C. 1988. Penetration of blue and UV radiation measured by fiber optics in spruce and fir needles. *Physiol. Plant.*, 72: 699–705
- Borsos-Matovina V., 1997. The effect of Ambiol on growth and stress tolerance of *Pinus banksiana* and *Picea mariana* seedlings. University of Toronto.
http://www.collectionscanada.ca/obj/s4/f2/dsk2/tape16/PQDD_0007/MQ29456.pdf (julij, 2006)
- Brooks R. O., Jones R., Virginia R. A. 2002. The marriage: ecological planning for environmental Law. V: Law and Ecology: The Rise of the Ecosystem Regime. Ashgate Publishing Company, Burlington, USA: 411 str.
- Brus R. 2005. Dendrologija za gozdarje. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire: 61-65
- Brus R., 2004: Drevesne vrste na slovenskem. Ljubljana, Mladinska knjiga: 28-29.
- Caldwell M. M., Bjorn L.O., Bornman J. F., Flint S.D., Kulandaivelu G., Teramura A.H., Tevini M. 1998. Effects of increased solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 46: 40-52
- Caldwell M. M., Flint S. D. 1997: Uses of biological spectral weighting functions and the need of scaling for the ozone reduction problem. *Plant Ecology*, 128 :67-76
- Cape J. N., Percy K. E. 1993. Environmental influences on the development of spruce needle cuticles. *New Phytologist*, 125: 787-799

- Cen Y. P., Bornman J. F. 1990. The Response of Bean Plants to UV-B Radiation Under Different Irradiances of Background Visible Light. *Journal of Experimental Botany*, 41: 1489-1495
- Day T.A., Howells B.W., Ruhland C.T. 1996. Changes in growth and pigment concentrations with leaf age in pea under modulated UV-B radiation field treatments. *Plant Cell Environ.*, 19, 1: 101-108
- Day T. A., Vogelmann T. C., DeLucia E. H. 1992. Are some plant life forms more effective than others in screening out ultraviolet-B radiation? *Oecologia* 92, 4: 513-519.
- DeLucia E. H., Day T. A., Vogelmann T. C. 1992. UV-B and visible light penetration into needles of two species of subalpine conifers during foliar development. *Plant, Cell Env.* 15: 921-929
- Dermastia M. Biologija rastlinske celice. Teze predavanj.
<http://botanika.biologija.org/predmeti/ZT-1L-teze-predavanj-2006.pdf> (avgust, 2006)
- Diffey B. L. 1991. Solar ultraviolet radiation effects on biological systems. *Phys. Med. Biol.*, 36: 299-328
- Dolenc Koce J. 2004. Splošna botanika. Ljubljana, Študentska založba: 70 str.
- Farooq M., Suresh Babu G., Ray R.S., Misra R.B., Shankar U., Hans R.K. 2000. Sensitivity of Duckweed (*Lemna major*) to Ultraviolet-B Radiation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276: 970-973
- Flint S. D., Caldwell M. M. 1984. Partial inhibition of in vitro pollen germination by simulated solar ultraviolet-B radiation. *Ecology*, 65: 792–795

- French H. F. 1997. Ozonska izkušnja. V: Zemlja 1997. Poročilo inštituta Worldwatch o prizadevanju za trajnostno družbo. Brown L.R., Flavin C., French H.F., Abramovitz J.N., Bright C., Gardner G., McGinn A., Renner M., Roodman D. M., State of the World 1997, W.W. NORTON&COMPANY, New York, London: 185-207
- Gaberščik A., Trošt T. 2000. Povečano ultravijolično sevanje – stres za rastline. Acta Biologica Slovenica, 43, 3: 71-84
- Garty J., Cohen Y., Kloog N., Karnieli A. 1997. Effects of air pollution on cell membrane integrity, spectral reflectance and metal and sulfur concentrations in lichens. Environmental Toxicology and Chemistry, 16: 1396-1402
- Germ M., Gaberščik A. 2003. Dihalni potencial – Kazalnik stresa pri rastlinah. Zbornik Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, 81 : 335-339
- Gibson J. H. 1999. UVB radiation- Definitions and characteristics.
http://uvb.nrel.colostate.edu/UVB/publications/uvb_primer.pdf (september 2006)
- Gitz D. C., Liu-Gitz L., Britz S. J., Sullivan J. H. 2005. Ultraviolet-B effects on stomatal density, water-use efficiency, and stable carbon isotope discrimination in four glasshouse-grown soybean (*Glycine max*) cultivars. Environmental and Experimental Botany, 53, 3: 343-355
- Gonzalez R., Paul N. D., Percy K., Ambrose M., McLaughlin C. K., Barnes J. D., Areses M., Wellburn A.R. 1996. Responses to ultraviolet-B radiation (280-315nm) of pea (*Pisum sativum* L.) lines differing in leaf surface wax. Physiologia Plantarum, 98: 852-860
- Gordon D.C., Percy K.E., Riding R.T. 1998. Effects of UV-B radiation on epicuticular wax production and chemical composition of four *Picea* species. New Phytologist, 138: 441-449

- Hader D. P. Sinha R. P. 2005 Solar ultraviolet radiation-induced DNA damage in aquatic organisms: potential environmental impact. *Mutation Research*, 571: 221-223
- Hollósy F. 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33: 179-197
- Jansen M. A. K., Gaba V., Greenberg B. M. 1998. Higher plants and UV-B radiation: Balancing damage, repair and acclimation. *Trends Plant Sci.*, 3: 131-1135
- Jogan N. 2001. Navodila za vaje iz sistematske botanike.
<http://botanika.biologija.org/sist/skripta/sistbot-navodila-za-vaje.pdf> (november, 2006)
- Kakani V. G., Reddy K. R., Zhao D., Mohammed A. R. 2003. Effects of Ultraviolet-B Radiation on Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Morphology and Anatomy. *Annals of Botany*, 91: 817-826
- Kakani V.G., Reddy K. R., Zhao D., Sailaja K. 2003. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. *Agricultural and Forest Meteorology*, 120: 191-218
- Kotar M., Brus R. 1999: Naše drevesne vrste. Ljubljana, Slovenska matica: 320 str.
- Krajnčič B. 1984. Botanika (anatomija z morfologijo). Univerza v Mariboru, Višja agronomska šola: 383 str.
- Kramer G.F., Horman H.A., Krizek D.T., Mirecki R.M. 1991. Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipids in cucumber. *Phytochemistry* 30: 2101-2108
- Laakso K., Huttunen S. 1998. Effects of the ultraviolet-B radiation (UV-B) on conifers: a review. *Environmental Pollution*, 99: 319-328

- Laakso K. 1999. Effects of ultraviolet-B radiation (UV-B) on needle anatomy and glutathione status of field-grown pines. *Acta Universitatis Ouluensis. Series a rerum naturalium A* 338.
- Laakso, K., Sullivan J.H., Huttunen S. 2000. The effects of UV-B radiation on epidermal anatomy in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Plant Cell and Environment*: 461-472
- Lichtenthaler H. K. 1996. *Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants*. J. *Plant Physiol.*, 148: 4-14
- Lichtscheidl-Schultz I. 1985. Effects of UV-C and UV-B on cytomorphology and water permeability of inner epidermal cells of *Allium cepa*. *Physiol. Plant.* 63: 269-276
- Lukaszek M., Poskuta J. W. 1996. Chlorophyll a fluorescence kinetics and CO₂ exchange rates in light and in darkness in leaves of tall fescue as affected by UV radiation. *Acta Physiologiae Plantarum* 18, 4: 345-350
- Mackerness S. A. H., Thomas B., Jordan B. R. 1999. Reactive oxygen species in the regulation of photosynthetic genes by UV-B radiation in green and etiolated buds of pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 48: 180-188
- Madronich S. 1993. *The Atmosphere and UV-B radiation at ground level*. V: Young A. R., Björn L. O., Moan J., Nultsch W. *Environmental UV Photobiology*, New York, Plenum Press: 1-39
- Madronich S., McKenzie R. L., Björn L. O., Caldwell M. M. 1998. Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 46: 5-19

- Martinčič A., Wraber T., Jogan N., Ravnik V., Podobnik A., Turk B., Vreš B. 1999. Mala flora Slovenije. Ključ za določanje praprotnic in semenk. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: s. 93
- Mlakar J. 1990: Dendrologija. Drevesa in grmi Slovenije. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 29-31
- Nilsson A. 1996. Ultraviolet Reflections: Life Under a Thinning Ozone Layer. John Wiley & Sons (eds.). Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore: 13-46
- Plut D. 1998. Varstvo geografskega okolja. Ljubljana, Filozofska fakulteta, Oddelek za geografijo: 100-110
- Rakovec J. 2002. Naravno dogajanje in "ozonska" luknja. *Gea*, 12, 5: 48-51
- Rakovec J., Vrhovec T. 2000. Osnove Meteorologije za naravoslovce in tehnike. Ljubljana, DMFA: 329 str.
- Rode B., Planinšek A., Zupančič T., Lešnjak M., Malešič I., Cegnar T., Kranjc A., Petač T. 2002. Ozonska plast in UV sevanje. Zrak. Stanje in spremembe v okolju. Poročilo o stanju okolja 2002. Ministrstvo za okolje, prostor in energijo, (avgust, 2006).
http://www.sigov.si/mop/podrocja/uradzaokolje_sektorokolje/porocila/stanje_okolja/zrak.pdf
- Rozema, J., Björn L. O., Bornman J.F., Gaberščik A., Häder D. P., Trošt T., Germ M., Klisch M., Groninger A., Sinha R.P., Lebert M., He Y. Y., Buffoni-Hall R., de Bakker B.V.J., van De Staaij J., Meikamp B.B. (2002). The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems - an experimental and functional analysis of the evolution of UV-B absorbing compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology B. Biology*, 66: 2-12.

- Rozema J., Tosserams M., Magendans E. 1995. Impact of enhanced solar UV- B radiation on plants from terrestrial ecosystems. *Climate Change Research, Evaluation and Policy Implications*: 997-1004
- Rozema J., Van De Staaij J., Björn L. O., Caldwell M. 1997. UV-B as an environmental factor in plant life: stress and regulation. *Tree*, 12, 1: 22-28
- Runeckles V.C., Krupa S.V. 1994. The impact of UV-B radiation and ozone on terrestrial vegetation. *Environmental Pollution* 83: 191-213
- Shukla U. C., Joshi P. C., Kakkar P. 2002. Synergistic Action of Ultraviolet-B Radiation and Cadmium on the Growth of Wheat Seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51: 90-96
- Silberstein L., Siegel B. Z., Siegel S.M., Mukhtar A., Galun M. 1996a. Comparative studies on *Xanthoria parietina*, a pollution-resistant lichen, and *Ramalina duriaei*, a sensitive species - Effects of air pollution on physiological processes. *Lichenologist*, 28, 4: 355-365
- Smith J. L., Burritt D. J., Bannister P. 2000. Shoot Dry Weight, Chlorophyll and UV-B-absorbing Compounds as Indicators of a Plant's Sensitivity to UV-B Radiation. *Annals of Botany* 86, 6: 1057-1063
- Solomon E. P., Berg L. R., Martin D. W., Vilee C. A. 1993. *Biology*, International Edition Saunders College Publishing, Third edition.
- Sinha R. P., Hader D. P. 2002. Life under solar UV radiation in aquatic organisms. *Advances in Space Research*, 30, 6: 1547-1556

- Sinković T. 2000. Uvod v botaniko: za študente visokošolskega strokovnega študija kmetijstva-agronomija in hortikultura. Ljubljana, Biotehniške fakultete, Oddelek za agronomijo: 176 str.
- Sullivan J. H., Teramura A. H. 1992. The effects of ultraviolet-B radiation on loblolly pine. 2. Growth of field-grown seedlings, *Trees* 6: 115-120
- Sullivan J. H., Howells B. W., Ruhland C.T., Day T. A. 1996. Changes in leaf expansion and epidermal screening effectiveness in *Liquidambar styraciflua* and *Pinus taeda* in response to UV-B radiation. *Physiologia Plantarum* 98: 349-357
- Teramura A. H., Sullivan J.H. 1994. Effects of UV-B radiation on photosynthesis and growth of terrestrial plant. *Photosynthesis Research* 39: 463-473
- Teramura A. H., Tevini M., Iwanzik W. 1983. Effects of ultraviolet-B irradiance on plants during mild water stress. I. Effects on diurnal stomatal resistance. *Physiol. Plant.* 57: 175-180
- Teramura A. H. 1980. Effects of ultraviolet-B irradiances on soybean. I. Importance of photosynthetically active radiation in evaluating ultraviolet-B irradiance effects on soybean and wheat growth. *Physiologia Plantarum* 48: 333-339
- Tevini. M., Teramura A.H. 1989. UV-B effects on terrestrial plants. *Photochem. Photobiol.* 50: 479-487
- Tosserams M., Rozema J. 1995. Effects of ultraviolet-B radiation (UV-B) on growth and physiology of the dune grassland species *Calamagrostis epigeios*. *Environmental Pollution*, 89, 2: 209-214

- Trošt T. 2000. Vpliv povečanega UV-B sevanja na aktivnost smreke (*Picea abies*) in tvorbo zaščitnih snovi. Magistrska naloga. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 86 str.
- Trošt Sedej T. 2005. Fiziološki, biokemijski in morfogenezni učinki na smreko (*Picea abies*) med večletno izpostavljenostjo sevanju UV-B. Doktorska disertacija. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 87 str.
- Van de Staaij J. M., Ernst W.H.O., Hakwoort H.W.J., Rozema J. 1995. Ultraviolet-B (280-320 nm) absorbing pigments in the leaves of *Silene vulgaris*: their role in UV-B tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 147: 75-80
- Vilhar B. 2005. Biologija rastlinske celice. Delovni zvezek. Vaje pri predmetu Biologija celice. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 68 str.
http://botanika.biologija.org/zeleni-skrat/studentov_skrat/zivilski-skrat/DZ-Biologija-rastlinske-celice-2005.pdf (november, 2006)
- Yue M., Li Y., Wang X. 1998. Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on plant nutrients and decomposition of spring wheat under field conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 40, 3: 187-196

ZAHVALA

Mentorici prof. dr. Alenki Gaberščik se najlepše zahvaljujem za potrpežljivost, vsestransko pomoč in usmerjanje pri raziskovalnem delu. Še posebej pa bi se ji rada zahvalila za optimistični pogled na svet.

Hvala tudi predsednici doc. dr. Barbari Vilhar in recenzentki prof. dr. Marini Dermastia za strokovno oceno diplomske naloge.

Hvala mojim sošolkam Tjaši, Vanji Kurnik, Meliti, Vanji Kimovec, Mateji in Gabi za vso pomoč in prijetno vzdušje v času našega študija.

Posebna zahvala gre tudi Klavdiji, ki je bila vedno pripravljena pomagati.

Najlepša hvala mojim staršem, mami in očetu, ki sta mi omogočila študij in mi ves čas študija stala ob strani. Hvala tudi sestri Bernardi in Milanu za vso pomoč, ki sem jo bila deležna v tem času.

Hvala Igorju za razumevanje in podporo v času študija.

PRILOGE

Priloga A: Preglednica rezultatov spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode konec decembra 2001 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (zmanjšano UV-B (UV-B-), povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine (preračunane na mg suhe teže vzorca) in standardne odklone (SD), n = 5.

december 2001								
starost iglic	obravnavanje	čas (h) →	0	2	4	8	24	48
C	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,019	0,102	0,134	0,216	0,334	0,402
		SD	0,011	0,016	0,040	0,068	0,061	0,076
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,123	0,150	0,245	0,330	0,387	0,420
		SD	0,027	0,020	0,037	0,052	0,032	0,044
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,032	0,063	0,159	0,322	0,389	0,441
		SD	0,012	0,023	0,021	0,026	0,039	0,053
C+1	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,038	0,046	0,059	0,078	0,100	0,117
		SD	0,014	0,009	0,017	0,024	0,027	0,034
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,031	0,041	0,078	0,142	0,179	0,202
		SD	0,012	0,013	0,037	0,051	0,059	0,051
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,051	0,067	0,091	0,124	0,192	0,230
		SD	0,017	0,015	0,020	0,022	0,037	0,042
C+2	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,034	0,036	0,043	0,047	0,089	0,097
		SD	0,007	0,004	0,015	0,018	0,022	0,031
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,028	0,031	0,057	0,071	0,100	0,152
		SD	0,005	0,015	0,011	0,019	0,018	0,027
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,034	0,039	0,061	0,075	0,111	0,175
		SD	0,007	0,008	0,018	0,011	0,020	0,026

Priloga B: Preglednica rezultatov spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode v marcu 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (zmanjšano UV-B (UV-B-), povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine (preračunane na mg suhe teže vzorca) in standardne odklone (SD), n = 5.

marec 2002								
starost iglic	obravnavanje	čas (h) →	0	2	4	8	24	48
C	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,060	0,095	0,247	0,263	0,297	0,433
		SD	0,019	0,027	0,042	0,046	0,051	0,068
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,022	0,028	0,124	0,153	0,190	0,215
		SD	0,009	0,011	0,017	0,033	0,041	0,045
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,051	0,072	0,197	0,217	0,299	0,337
		SD	0,018	0,020	0,023	0,024	0,048	0,043
C+1	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,011	0,042	0,057	0,067	0,166	0,207
		SD	0,006	0,021	0,020	0,026	0,032	0,041
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,017	0,041	0,080	0,143	0,185	0,305
		SD	0,006	0,018	0,020	0,018	0,022	0,052
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,017	0,037	0,058	0,082	0,197	0,313
		SD	0,005	0,012	0,014	0,019	0,025	0,029
C+2	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,034	0,044	0,054	0,062	0,070	0,086
		SD	0,006	0,008	0,011	0,012	0,011	0,018
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,041	0,054	0,066	0,080	0,089	0,114
		SD	0,005	0,006	0,007	0,005	0,010	0,021
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,034	0,059	0,074	0,095	0,112	0,131
		SD	0,004	0,012	0,018	0,014	0,015	0,024

Priloga C: Preglednica rezultatov spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode v maju 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (zmanjšano UV-B (UV-B-), povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine (preračunane na mg suhe teže vzorca) in standardne odklone (SD), n = 5.

maj 2002								
starost iglic	obravnavanje	čas (h) →	0	2	4	8	24	48
C	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,079	0,115	0,165	0,178	0,206	0,268
		SD	0,025	0,022	0,027	0,026	0,044	0,047
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,058	0,076	0,156	0,182	0,239	0,316
		SD	0,018	0,013	0,023	0,023	0,034	0,036
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,064	0,194	0,257	0,288	0,315	0,393
		SD	0,019	0,026	0,032	0,039	0,038	0,044
C+1	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,042	0,057	0,080	0,104	0,119	0,148
		SD	0,009	0,008	0,016	0,021	0,026	0,037
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,029	0,050	0,078	0,084	0,110	0,151
		SD	0,004	0,006	0,013	0,010	0,019	0,022
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,039	0,075	0,116	0,130	0,158	0,180
		SD	0,007	0,012	0,014	0,020	0,020	0,026
C+2	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,038	0,053	0,071	0,088	0,110	0,130
		SD	0,005	0,009	0,015	0,019	0,026	0,029
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,031	0,045	0,069	0,083	0,114	0,154
		SD	0,006	0,007	0,013	0,012	0,022	0,019
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,033	0,055	0,085	0,111	0,138	0,147
		SD	0,005	0,008	0,012	0,016	0,022	0,024

Priloga D: Preglednica rezultatov spremembe prevodnosti v 30ml bidestilirane vode v avgustu 2002 pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (zmanjšano UV-B (UV-B-), povečano UV-B (UV-B+), zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine (preračunane na mg suhe teže vzorca) in standardne odklone (SD), n = 5.

avgust 2002								
starost iglic	obravnavanje	čas (h) →	0	2	4	8	24	48
C	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,058	0,082	0,132	0,228	0,255	0,298
		SD	0,017	0,019	0,025	0,042	0,047	0,058
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,092	0,141	0,169	0,263	0,307	0,356
		SD	0,012	0,017	0,022	0,030	0,034	0,038
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,058	0,071	0,128	0,277	0,332	0,368
		SD	0,019	0,014	0,017	0,032	0,037	0,042
C+1	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,056	0,095	0,152	0,196	0,218	0,365
		SD	0,018	0,024	0,026	0,031	0,035	0,037
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,078	0,151	0,165	0,188	0,279	0,388
		SD	0,012	0,014	0,023	0,027	0,030	0,043
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,054	0,130	0,157	0,189	0,328	0,403
		SD	0,018	0,011	0,019	0,024	0,036	0,043
C+2	UV-B -	prevodnost (μS/cm mg)	0,075	0,080	0,103	0,125	0,146	0,202
		SD	0,012	0,015	0,022	0,023	0,026	0,038
	UV-B	prevodnost (μS/cm mg)	0,051	0,070	0,093	0,114	0,197	0,269
		SD	0,006	0,010	0,013	0,018	0,028	0,030
	UV-B +	prevodnost (μS/cm mg)	0,058	0,085	0,119	0,143	0,226	0,274
		SD	0,007	0,012	0,017	0,016	0,020	0,034

Priloga E: Preglednica rezultatov premera prečnega prereza iglic, smolnega kanala in centralnega cilindra pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (zmanjšano UV-B (UV-B-), povečano UV-B (UV-B+) in zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5.

obravnavanje	starost iglic	premer prečnega prereza				smolni kanal		centralni cilinder	
		višina (μm)	SD	širina (μm)	SD	premer (μm)	SD	premer (μm)	SD
UV-B -	C	975,32	100,05	725,69	81,93	88,62	10,32	185,45	20,68
	C+1	893,12	95,34	681,31	72,65	79,86	8,28	180,84	19,07
	C+2	721,91	81,67	654,75	68,48	74,11	9,69	175,23	19,59
UV-B	C	965,40	91,36	737,59	77,77	95,06	9,72	194,09	20,15
	C+1	874,87	97,56	660,38	63,29	82,25	9,82	181,06	15,53
	C+2	691,91	66,15	686,87	66,67	77,64	7,79	172,97	18,91
UV-B+	C	941,09	92,54	706,21	72,75	90,72	11,85	195,66	18,27
	C+1	948,81	78,87	756,84	71,88	95,45	11,00	198,63	19,68
	C+2	776,91	85,81	716,70	67,66	80,32	9,20	180,04	20,56

Priloga F: Preglednica rezultatov debeline povrhnjice s kutikulo, sklerenhimskega hipoderma in debeline mezofila ter površinska gostota listnih rež pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (zmanjšano UV-B (UV-B-), povečano UV-B (UV-B+) in zunanje UV-B - kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5.

obravnavanje	starost iglic	povrhnjica s kutikulo		Sklerenhimski hipoderm		mezofil		površinska gostota listnih rež (št./mm ²)	
		debelina (µm)	SD	debelina (µm)	SD	debelina (µm)	SD	gostota	SD
UV-B -	C	18,66	1,95	17,01	2,09	236,49	28,61	32,13	5,26
	C+1	19,05	2,03	16,12	1,83	197,65	34,18	32,84	4,67
	C+2	19,32	1,88	15,56	1,61	195,31	31,67	29,95	3,08
UV-B	C	18,43	1,84	16,78	1,89	222,72	34,89	33,86	4,28
	C+1	17,79	1,71	15,12	2,60	188,66	25,93	34,24	4,63
	C+2	19,82	1,90	14,62	1,64	192,38	28,57	31,01	3,50
UV-B+	C	18,10	1,47	17,22	2,00	207,65	33,48	34,21	5,30
	C+1	18,07	1,66	15,93	1,73	215,33	27,30	34,67	5,38
	C+2	20,29	1,69	14,77	1,90	193,81	23,21	31,57	3,15

Priloga G: Preglednica rezultatov velikosti celic povrhnjice pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (zmanjšano UV-B (UV-B-), povečano UV-B (UV-B+) in zunanje UV-B – kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5.

obravnavanje	starost iglic	velikost epidermalnih celic			
		višina (µm)	SD	širina (µm)	SD
UV-B -	C	9,48	1,48	20,32	1,94
	C+1	9,08	1,36	21,56	2,35
	C+2	9,16	0,98	21,63	3,01
UV-B	C	9,38	1,02	20,71	2,02
	C+1	8,53	1,23	19,19	1,92
	C+2	8,98	1,16	20,79	2,03
UV-B+	C	8,48	1,23	20,81	2,43
	C+1	8,50	1,26	20,17	2,12
	C+2	9,06	1,13	20,64	1,99

Priloga H: Preglednica rezultatov velikosti mezofilnih celic v prvi drugi in tretji plasti pri enoletnih (C), dveletnih (C+1) in triletnih (C+2) iglicah smreke (*Picea abies*), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja (zmanjšano UV-B (UV-B-), povečano UV-B (UV-B+) in zunanje UV-B - kontrola (UV-B)). Rezultati predstavljajo aritmetične sredine in standardne odklone (SD), n = 5.

Obravnavanje	Starost iglic	velikost mezofilnih celic - prva plast			
		višina (µm)	SD	širina (µm)	SD
UV-B -	C	71,36	8,12	41,83	5,21
	C+1	70,26	7,84	40,68	4,62
	C+2	68,84	8,22	39,77	4,71
UV-B	C	68,34	7,26	37,63	3,99
	C+1	69,16	7,92	36,00	3,97
	C+2	65,79	6,69	39,22	4,17
UV-B+	C	66,34	6,73	39,53	4,01
	C+1	70,27	8,09	39,23	3,92
	C+2	64,72	5,60	36,57	3,91

Obravnavanje	Starost iglic	velikost mezofilnih celic - druga plast			
		višina (µm)	SD	širina (µm)	SD
UV-B -	C	85,40	9,68	46,49	5,32
	C+1	78,90	8,57	45,67	5,15
	C+2	72,77	8,06	44,24	4,87
UV-B	C	84,57	8,94	46,63	4,82
	C+1	77,99	7,40	45,13	4,35
	C+2	75,88	7,77	47,76	5,30
UV-B+	C	77,84	8,40	48,41	5,13
	C+1	82,98	9,29	47,93	5,22
	C+2	76,18	8,17	48,53	4,93

Obravnavanje	Starost iglic	velikost mezofilnih celic - tretja plast			
		višina (µm)	SD	širina (µm)	SD
UV-B -	C	90,19	11,24	47,94	5,09
	C+1	83,32	9,18	46,93	4,68
	C+2	80,16	9,54	45,18	5,24
UV-B	C	88,05	9,04	48,49	4,90
	C+1	81,94	8,46	44,30	4,42
	C+2	78,52	8,21	46,34	4,80
UV-B+	C	76,33	7,82	45,49	4,72
	C+1	87,69	8,97	50,89	5,46
	C+2	79,65	8,05	50,51	5,55

