

Agnieszka BĘŚ, Michał BACIAK

Katedra Toksykologii Środowiska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Department of Environmental Toxicology, University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Oddziaływanie dwutlenku siarki na wybrane gatunki liściastych drzew leśnych

The effect of sulfur dioxide on selected deciduous forest trees

Słowa kluczowe: barwniki fotosyntetyczne, dwutlenek siarki, olcha czarna, dąb szypułkowy, chlorofil, zanieczyszczenia

Key words: photosynthetic dyes, sulfur dioxide, black alder, English oak, chlorophyll, pollutions

Wstęp

Jako biowskaźniki zanieczyszczeń powietrza dwutlenkiem siarki wykorzystuje się drzewa, w tym np.: wierzbę, topolę, klony i brzozy. Drzewa liściaste są lepszym obiektem do tego typu badań niż drzewa iglaste.

Wpływ dwutlenku siarki na rośliny może być zarówno korzystny, jak i szkodliwy. Korzystny wpływ wiąże się głównie z wykorzystaniem dwutlenku siarki jako źródła siarki, która wchodzi w skład aminokwasów, białek czy fitocydów. Jego niekorzystne oddziaływanie powoduje zmiany w komórkach, co przejawia się między innymi wystąpieniem uszko-

dzeń liści i igieł (Legge i inni, 1998, Kulczycki i inni, 2006, Rogula-Kozłowska i inni, 2014).

Reakcja roślin na zanieczyszczenia dwutlenkiem siarki zależy od wielu czynników, w tym od koncentracji zanieczyszczeń, czasu trwania i częstości ekspozycji liści na SO₂. Uszkodzenia roślin pod wpływem SO₂ najpierw pojawiają się na liściach, mniej wrażliwe są łodygi i organy generatywne (Bell i Treshow, 2004). Wrażliwość roślin na podwyższone stężenia dwutlenku siarki różni się też w zależności od wieku liści, mniej wrażliwe na te zanieczyszczenia są liście stare (Greszta i inni, 2002). Uszkodzenia liści drzew wywołane przez dwutlenek siarki możemy podzielić na ostre, chroniczne lub niewidoczne. Uszkodzenia ostre występują w wyniku krótkotrwałych, ale wysokich stężeń SO₂. Ich wynikiem jest występowanie na liściach i igłach nekroz, najczęściej o barwie czerwonobrazowej lub rdzawej.

Granice nekroz są w większości przypadków nieregularne i ciemno zabarwione. Powierzchnia uszkodzeń zależy od stężenia zanieczyszczenia i czasu ekspozycji rośliny na działanie gazowego dwutlenku siarki. Gdy ostra ekspozycja na omawiany gaz jest krótkotrwała (od kilku minut do kilku godzin), to wywołuje powstanie w ciągu kilku godzin lub dni nekroz na liściach. Nekrozy pojawiają się pomiędzy nerwami lub na brzegach i wierzchołkach liści (Legge i Krupa, 2004). Uszkodzenia chroniczne powstają przy długotrwałym narażeniu rośliny na SO₂ przy niskim stężeniu, w wyniku tego na liściach pojawiają się plamy o barwie białej do jasnobrązowej.

Działanie dwutlenku siarki na rośliny powoduje ich żółknięcie, ubytek chlorofilu, a to z kolei ma przełożenie na zahamowanie procesu fotosyntezy. Rośliny są bardziej narażone na działanie SO₂ w dzień, kiedy mają otwarte aparaty szparkowe, przez które wnika on do wnętrza komórek. Podwyższone stężenie SO₂ powoduje zatrzymanie asymilacji, co w rezultacie prowadzi do zwiększonej wrażliwości drzew na czynniki klimatyczne, zmniejsza odporność drzewostanu na występowanie chorób oraz szkodników lasów.

Celem pracy było wykazanie wrażliwości na zanieczyszczenia gazowe wybranych drzew liściastych (olchy czarnej i dębu szypułkowego) podczas ekspozycji tych roślin w podwyższonych stężeniach dwutlenku siarki. Wrażliwość liści na zanieczyszczenia określono poprzez zmiany w zawartości barwników fotosyntetycznych oraz występowanie nekroz.

Material i metody

Materiałem doświadczalnym były jednoroczne sadzonki olchy czarnej (*Alnus glutinosa* Gaertn.) oraz dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.). Sadzonki pobrano ze szkółki roślin leśnych. Posadzono je w doniczkach napełnionych odkwaszonym substratem torfowym o pH = 5,5–6,5. Doniczki z sadzonkami umieszczono na okres 21 dni w komorze klimatyzacyjnej (fitotronowej) Microclima 1000 (Snijders Scientific B.V.). Komora fitotronowa pracowała w dwóch trybach: dzień – 16 h, temperatura 25 ± 0,3°C, wilgotność – 60%, oraz noc – 8 h, temperatura 16 ± 0,3°C, wilgotność – 75%. Sadzonki sukcesywnie podlewano wodą destylowaną, codziennie prowadzono też obserwacje wzrostu poszczególnych roślin. Po 11 dniach od wysadzenia, sadzonki olchy i dębu miały w pełni wykształcone liście. Fumigację roślin dwutlenkiem siarki prowadzono po 3 tygodniach od momentu wysadzenia roślin do doniczek.

Wybrane obiekty poddawano fumigacji gazowym dwutlenkiem siarki przy stężeniu 28,28 ppm. Obiektem kontrolnym były sadzonki badanych gatunków (po 5 sztuk) nietraktowane SO₂. Zestaw do fumigacji składał się z komory wykonanej z PE (polietylenu), do której za pomocą pompy wtłaczano powietrze oraz płuczki wypełnionej 6-procentowym roztworem NaHSO₃. Powietrze z SO₂ wymieniano w sposób ciągły, żeby zapewnić stałe stężenie dwutlenku siarki w komorze. Stężenie kontrolowano za pomocą analizatora gazów spalania Madur GA21+. Czas fumigacji wyno-

sił 2 godziny dla każdego powtórzenia. Do komory wkładano po 5 sadzonek olchy i dębu (eksperyment prowadzono w 3 powtórzeniach).

Po zakończeniu fumigacji prowadzono obserwację sadzonek traktowanych SO_2 , jak i obiektów kontrolnych, przez 5 kolejnych dni. Oceniano stopień uszkodzenia liści – wykonywano zdjęcia oraz skanowano liście, aby określić powierzchnię uszkodzeń wywołaną działaniem gazowego dwutlenku siarki. Pomiar udziału uszkodzeń w ogólnej powierzchni liści wykonano za pomocą programu do analizy obrazu Lucia G 5.0. Na podstawie umownie przyjętej 5-stopniowej skali dokonano oceny stopnia uszkodzenia liści (tab. 1) (Umiński, 1996):

TABELA 1. Skala oceny stopnia uszkodzenia liści
TABLE 1. The degree of damage leaf surface scale

Stopień uszkodzenia The degree of damage	Procent uszkodzonej powierzchni/Percentage of damaged leaf surface area
Brak/Lack of	<10
Lekkie/Light	11–25
Średnie/Average	26–60
Ciężkie/Severe	>60

Każdego dnia po przeprowadzonej obserwacji zrywano wszystkie liście z sadzonek danego powtórzenia, które następnie zamrażano.

Oddziaływanie dwutlenku siarki na liście dębu i olchy określono poprzez oznaczenie zawartości chlorofilu a i b oraz współczynnika feofitynizacji (PQ) chlorofilu a metodą ekstrakcji chlorofilu dimetylosulfotlenkiem (DMSO). Analizy laboratoryjne wykonano na podstawie metodyki Barnes a i innych (1992).

Pobrane z sadzonek liście poddano fragmentacji, do analiz wykorzystano próbki o masie $30\text{--}40 \pm 0,1$ mg (p.s.m.), które potraktowano dimetylosulfotlenkiem cz.d.a. (4 ml). Próbki umieszczano w próbkówkach w łaźni wodnej w temperaturze $60 \pm 0,5^\circ\text{C}$, a następnie ekstrahowano w ciemności przez 3 h. Po zakończeniu ekstrakcji pobierano po 2 ml ekstraktu, który rozcieńczano świeżym DMSO w 1 : 1. Pomiar absorbancji prowadzono przy następujących długościach fali: 750; 648,2; 665; 480; 435 i 415 nm, w spektrofotometrze Aquamate Unicam. Roztworem odniesienia był DMSO cz.d.a. Prezentowane w pracy wyniki stanowią średnią z 3 powtórzeń pomiarów zawartości chlorofilu i PQ.

Zawartości chlorofilu a i b oraz iloraz feofitynizacji w badanych ekstraktach obliczono, stosując wzory (1)–(5) podane przez Barnes a i innych (1992).

$$C_{Chl a} = 14,85 \cdot A_{665} - 5,14 \cdot A_{648,2} \quad (1)$$

$$C_{Chl b} = 25,48 \cdot A_{648,2} - 7,36 \cdot A_{665} \quad (2)$$

gdzie:

$C_{Chl a}$ – stężenie chlorofilu a [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ roztworu],

$C_{Chl b}$ – stężenie chlorofilu b [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ roztworu],

A_i – absorbancja roztworu, przy i -tej długości fali [nm]

$$PQ = \frac{A_{435}}{A_{415}} \quad (3)$$

gdzie:

PQ – iloraz feofitynizacji,

A_{435} , A_{415} – absorbancja roztworu przy danej długości fali [nm].

Do obliczenia zawartości chlorofili a i b w powietrznie suchej masie materiału biologicznego wykorzystano następujące wzory:

$$Z_{Chl\ a} = C_{Chl\ a} \cdot \frac{V_e \cdot x}{m} \quad [4]$$

$$Z_{Chl\ b} = C_{Chl\ b} \cdot \frac{V_e \cdot x}{m} \quad [5]$$

gdzie:

$Z_{Chl\ a}$, $Z_{Chl\ b}$ – zawartość chlorofilu w materiale biologicznym [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$],
 V_e – objętość ekstraktu DMSO ($V_e = 4\ \text{ml}$),
 x – współczynnik rozcieńczenia: 1 : 1, czyli $x = 2$,
 m – masa próbki materiału biologicznego [mg].

Na podstawie pomiarów absorbancji, przy długości fali wynoszącej 480 nm, określono zawartość karotenoidów (Bačkor i Văczi, 2002, Bačkor i Fahselt 2004).

Wyniki pomiarów zostały poddane analizie statystycznej, wykonano analizę wariancji – test F, a istotność statystyczną różnic oceniono za pomocą testu Duncana z zastosowaniem programu Statistica 10.2. Prezentowane w tabelach 2–5 wartości oznaczone literami należą do różnych grup jednorodnych. Wartości oznaczono literami: a, b, c, d, dla porównania zależności między fumigacją a czasem obserwacji, A,B dla porównania obiektów fumigowanych i kontrolnych oraz X, Y w celu porównania gatunków drzew. Różnice między wartościami oznaczonymi w tabelach różnymi literami są statystycznie istotne na poziomie $p = 0,01$.

Dla każdej wartości parametrów obliczono średnią i odchylenie standardo-

we (SD) z trzech powtórzeń, przy wykorzystaniu arkusza kalkulacyjnego Excel 2010.

Wyniki i dyskusja

W prowadzonym doświadczeniu zawartość barwników w roślinach zmieniała się pod wpływem działania na nie dwutlenkiem siarki. Przeprowadzona analiza wariancji (test F) określiła wpływ: fumigacji SO_2 i czasu prowadzonych obserwacji oraz interakcji między tymi czynnikami na zawartości chlorofili a i b, karotenoidów oraz współczynnik feofitynizacji (tab. 2). W przypadku wykazania w analizie wariancji istotnych statystycznie różnic oceniono je testem Duncana i przedstawiono w tabelach 2–5 w postaci grup jednorodnych.

Analiza wariancji (tab. 2) wykazała istotny statystycznie wpływ fumigacji na zawartości chlorofili i współczynnik PQ , wpływ czasu był statystycznie nieistotny. W tabeli 3 przedstawiono zawartości chlorofilu a ($Chl\ a$) i chlorofilu b ($Chl\ b$) w ekstrakcie oraz świeżej i suchej masie liści olchy. Działanie dwutlenku siarki istotnie wpłynęło na zmniejszenie zawartości tych barwników w liściach w porównaniu do obiektu kontrolnego. Współczynnik feofitynizacji określający stopień rozkładu chlorofilu a do feofityny wyższy był w obiektach fumigowanych niż kontrolnych, co związane było z zawartością chlorofilu a w ekstrakcie.

Liście dębu reagowały na działanie toksycznego gazu, zawartość chlorofilu istotnie zmieniała się w czasie, statystycznie istotna była też interakcja między fumigacją dębu dwutlenkiem siarki

TABELA 2. Analiza wariancji ANOVA (test F)
TABLE 2. Analysis of variance ANOVA (F test)

Czynniki Factors	F empiryczne							
	Zawartość chlorofilu w ekstrakcie Chlorophyll content of the extract [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]		<i>PQ</i>	Zawartość chlorofilu w świeżej masie Chlorophyll content of the extract in fresh mass [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$]		Zawartość chlorofilu w suchej masie Chlorophyll content of the extract in dry mass [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$]		Karotenoidy Carotenoid
	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>		<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	
Dąb szypułkowy/English oak								
Doba/Day	8,74*	7,42*	0,85	1,54	4,98*	12,15*	8,93*	1,33
Fumigacja/Fumigation	42,27*	8,96*	0,07	6,82*	3,78	9,52*	11,89*	6,43*
Doba \times Fumigacja Day \times Fumigation	6,53*	0,82	0,76	1,14	0,41	4,15*	5,46*	0,57
Olcha czarna/Black alder								
Doba/Day	4,72*	0,97	1,89	1,67	0,72	7,00*	1,77	0,97
Fumigacja/Fumigation	29,23*	30,03*	24,51*	11,55*	24,64*	2,96	10,49*	5,18*
Doba \times Fumigacja Day \times Fumigation	4,87*	1,74	0,63	1,40	1,26	7,94*	3,24*	1,07

D \times F – interakcje między czynnikami, * zależność istotna przy poziomie $p = 0,01$, F_{emp} – współczynniki analizy wariancji/ D \times F – interaction between experimental factors, * relationship significant at $p = 0.01$, F_{emp} – coefficients of analysis of variance.

TABELA 3. Zawartości chlorofilu a i b w liściach olchy oraz współczynnik feofitynizacji (*PQ*) (średnie \pm SD)

TABLE 3. Concentrations of chlorophyll a and chlorophyll b in alder leaves, and pheophytinization index (*PQ*) (mean \pm SD)

Obiekt Object	Zawartość chlorofilu w ekstrakcie Content of chlorophyll the extract [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]		<i>PQ</i>	Zawartość chlorofilu w świeżej masie Chlorophyll content of the extract in fresh mass [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$]		Zawartość chlorofilu w suchej masie Chlorophyll content of the extract in dry mass [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$]	
	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>		<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>
1	2	3	4	5	6	7	8
1 doba/day 1							
Ol – K	18,18 \pm 2,25 c	4,83 \pm 0,97 a	1,11 \pm 0,1 a	3,71 \pm 0,44 a	0,98 \pm 0,19 a	12,52 \pm 1,42 c	3,27 \pm 0,39 c
Ol – F	11,98 \pm 0,87 a	2,66 \pm 0,1 a	1,22 \pm 0,12 a	2,41 \pm 0,17 a	0,53 \pm 0,04 a	8,85 \pm 0,56 a	1,96 \pm 0,09 a
2 doba/day 2							
Ol – K	16,25 \pm 2,22 bc	4,11 \pm 0,62 a	0,94 \pm 0,13 a	3,40 \pm 0,37 a	0,86 \pm 0,11 a	8,79 \pm 0,46 a	2,22 \pm 0,19 ab

TABELA 3 cd.
TABLE 3 cont.

1	2	3	4	5	6	7	8
OI – F	14,65 ±0,66 b	3,31 ±0,17 a	1,25 ±0,19 a	3,05 ±0,2 a	0,69 ±0,15 a	11,01 ±0,5 bc	2,49 ±0,53 ab
3 doba/day 3							
OI – K	14,71 ±1,67 b	3,83 ±0,44 a	0,96 ±0,11 a	3,11 ±0,33 a	0,81 ±0,1 a	9,29 ±1,81 ab	2,42 ±0,43 ab
OI – F	12,18 ±0,67 a	2,95 ±0,15 a	1,19 ±0,17 a	2,67 ±0,24 a	0,65 ±0,13 a	9,16 ±0,96 a	2,22 ±0,33 ab
4 doba/day 4							
OI – K	15,65 ±0,94 b	3,96 ±0,71 a	1,13 ±0,07 a	3,39 ±0,88 a	0,86 ±0,16 a	10,92 ±0,81 bc	2,74 ±0,61 bc
OI – F	15,89 ±0,51 b	3,32 ±0,16 a	1,31 ±0,09 a	3,26 ±0,67 a	0,68 ±0,07 a	10,98 ±0,63 bc	2,29 ±0,14 ab
5 doba/day 5							
OI – K	14,69 ±1,15 b	11,41 ±0,96 a	0,94 ±0,04 a	3,05 ±0,58 a	0,79 ±0,22 a	9,21 ±0,67 a	2,38 ±0,63 ab
OI – F	11,89 ±0,41 a	2,63 ±0,4 a	1,19 ±0,09 a	2,39 ±0,15 a	0,53 ±0,08 a	7,79 ±0,6 a	1,72 ±0,14 a
Średnio po 5 dobach/mean value after 5 d							
OI – K	15,9 B	5,63 B	1,02 a	3,94 B	0,86 B	10,15 B	2,61 B
OI – F	13,32 A	2,97 A	1,23 B	2,76 A	0,62 A	9,56 A	2,14 A
NIR _{0,01}	D – 2,12	D – n.i.	D – n.i.	D – n.i.	D – n.i.	D – 1,53	D – n.i.
LSD _{0,01}	F – 1,34	F – 0,58	F – 0,12	F – 0,48	F – 0,14	F – n.i.	F – 0,4
	D × F – 3,0	D × F – n.i.	D × F – n.i.	D × F – n.i.	D × F – n.i.	D × F – 2,16	D × F – 0,91

OI – olcha czarna/black alder, OI – K – olcha kontrola/black alder, control, OI – F – olcha fumigowana dwutlenkiem siarki/black alder, after fumigation with sulfur dioxide, PQ – współczynnik feofitynizacji/pheophytinization quotients *Chl a* – chlorofil a/chlorophyll a, *Chl b* – chlorofil b/chlorophyll b; NIR dla D – doby, F – obiektu, n.i. – różnice nieistotne/LSD for D – day, F – object, n.i. – not significant.

TABELA 4. Zawartości chlorofilu a i b w liściach dębu oraz współczynnik feofitynizacji (PQ) (średnie ±SD)

TABLE 4. Concentrations of chlorophyll a and chlorophyll b in oak leaves, and pheophytinization index (PQ) (mean ±SD)

Obiekt Object	Zawartość chlorofilu w ekstrakcie Chlorophyll content of the extract [µg·ml ⁻¹]		PQ	Zawartość chlorofilu w świeżej masie Chlorophyll content of the extract in fresh mass [µg·mg ⁻¹]		Zawartość chlorofilu w suchej masie Chlorophyll content of the extract in dry mass [µg·mg ⁻¹]	
	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>		<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>
1	2	3	4	5	6	7	8
1 doba/day 1							
Db – K	19,98 ±1,72 d	5,92 ±0,12 a	1,14 ±0,11 a	4,09 ±0,45 a	1,21 ±0,13 a	11,28 ±0,5 d	3,35 ±0,19 d

TABELA 4 cd.
TABLE 4 cont.

1	2	3	4	5	6	7	8
Db – F	13,67 ±0,87 bc	4,72 ±0,09 a	1,44 ±0,49 a	2,90 ±0,56 a	1,0 ±0,04 a	9,12 ±0,24 c	3,23 ±0,60 bc
2 doba/day 2							
Db – K	14,89 ±1,24 c	4,54 ±0,9 a	1,11 ±0,1 a	3,09 ±0,83 a	0,94 ±0,2 a	8,41 ±1,59 bc	2,58 ±0,38 ab
Db – F	11,52 ±0,69 a	3,74 ±0,49 a	1,03 ±0,24 a	2,53 ±0,5 a	0,82 ±0,1 a	7,42 ±0,33 ab	2,41 ±0,45 a
3 doba/day 3							
Db – K	15,92 ±1,12 c	4,32 ±0,6 a	1,17 ±0,06 a	3,23 ±0,36 a	0,88 ±0,12 a	8,52 ±1,13 bc	2,32 ±0,39 a
Db – F	12,51 ±1,2 ab	3,71 ±0,92 a	1,18 ±0,16 a	2,60 ±0,44 a	0,77 ±0,15 a	6,42 ±0,73 a	1,90 ±0,27 a
4 doba/day 4							
Db – K	15,91 ±1,32 c	4,66 ±0,38 a	1,09 ±0,18 a	3,31 ±0,26 a	0,97 ±0,07 a	7,81 ±0,44 abc	2,29 ±0,48 a
Db – F	14,97 ±1,38 c	4,42 ±0,48 a	1,13 ±0,04 a	2,94 ±0,13 a	0,90 ±0,08 a	7,78 ±0,66 abc	2,30 ±0,14 a
5 doba/day 5							
Db – K	13,92 ±1,19 bc	3,82 ±0,54 a	1,31 ±0,43 a	2,82 ±1,06 a	0,77 ±0,29 a	7,26 ±0,88 ab	4,01 ±0,66 d
Db – F	13,92 ±0,66 bc	3,60 ±0,38 a	1,16 ±0,07 a	2,96 ±0,14 a	0,77 ±0,06 a	8,12 ±0,28 bc	2,10 ±0,23 a
Średnio po 5 dobach/mean value after 5 day							
Db – K	16,12 B	4,65 B	1,16 A	3,31 B	0,95 A	8,66 B	2,91 B
Db – F	13,32 A	4,04 A	1,24 A	2,79 A	0,85 A	7,77 A	2,39 A
NIR _{0,01} LSD _{0,01}	D – 1,92 F – 1,21 D × F – 2,72	D – 0,91 F – 0,58 D × F – n.i.	D – n.i. F – n.i. D × F – n.i.	D – n.i. F – 0,56 D × F – n.i.	D – 0,23 F – n.i. D × F – n.i.	D – 1,28 F – 0,81 D × F – 1,82	D – 0,67 F – 0,43 D × F – 0,95

Db – dąb szypułkowy/English oak, Db – K – dąb kontrola/English oak, control, Db – F – dąb fumigowany dwutlenkiem siarki/English oak, after fumigation with sulfur dioxide, *PQ* – współczynnik feofitynizacji/pheophytinization quotients, *Chl a* – chlorofil a/ chlorophyll a, *Chl b* – chlorofil b/chlorophyll b; NIR dla D – doby, F – obiektu, n.i. – różnice nieistotne/LSD for D – day, F – object, n.i. – not significant.

a czasem obserwacji. Analiza zawartości barwników w liściach dębu fumigowanych dwutlenkiem siarki (tab. 4) wykazała zmniejszenie zawartości chlorofilu b w miarę upływu czasu. Różnica w zawartości chlorofilu b w świeżej masie liści między 1. a 5. dniem po fumigacji

wynosiła 23,5%. Współczynnik feofitynizacji – PQ wyższy był, tak jak w przypadku olchy w obiektach fumigowanych gazowym dwutlenkiem siarki, jednak statystycznie różnice te nie były istotne. Zmniejszanie się zawartości chlorofilu i zwiększanie zawartości feofityn w li-

TABELA 5. Zawartość karotenoidów w liściach olchy i dębu w obiekcie kontrolnym i po fumigacji dwutlenkiem siarki (średnie \pm SD)

TABLE 5. Carotenoid concentrations in black alder and English oak leaves in the control treatment and after fumigation with sulfur dioxide (mean \pm SD)

Obiekt Object	Doba po fumigacji Day after fumigation					Średnio po 5 dni Mean value after 5 days
	1	2	3	4	5	
OI – K	1,10 \pm 0,2	1,03 \pm 0,13	0,89 \pm 0,09	0,98 \pm 0,24	0,87 \pm 0,1	0,97 B
OI – F	0,73 \pm 0,17	0,88 \pm 0,07	0,79 \pm 0,08	0,98 \pm 0,24	0,79 \pm 0,22	0,84 A
Db – K	1,23 \pm 0,1	0,97 \pm 0,2	0,98 \pm 0,1	1,03 \pm 0,12	1,31 \pm 0,62	1,10 B
Db – F	0,92 \pm 0,09	0,80 \pm 0,07	0,80 \pm 0,05	1,01 \pm 0,18	0,93 \pm 0,15	0,89 A
NIR _{0,01} LSD _{0,01}	olcha: D – n.i., F – 0,17, D \times F – n.i., Dąb: D – n.i., F – 0,23, D \times F – n.i.					

OI – olcha czarna/black alder, OI – K – olcha kontrola/black alder, control, OI – F – olcha fumigowana dwutlenkiem siarki/black alder, after fumigation with sulfur dioxide, Db – dąb szypułkowy/English oak, Db – K – dąb kontrola/English oak, control, Db – F – dąb fumigowany dwutlenkiem siarki/English oak, after fumigation with sulfur dioxide; NIR dla D – doby, F – obiektu, n.i. – różnice nieistotne/LSD for D – day, F – object, n.i. – not significant.

ściach drzew pod wpływem toksycznych gazów obserwowali również Miszański (1981) oraz Warmiński i inni (2005).

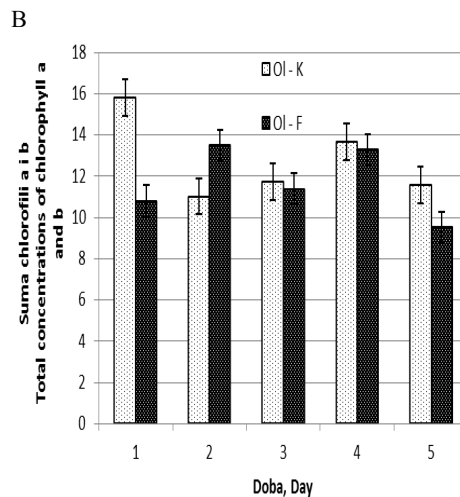
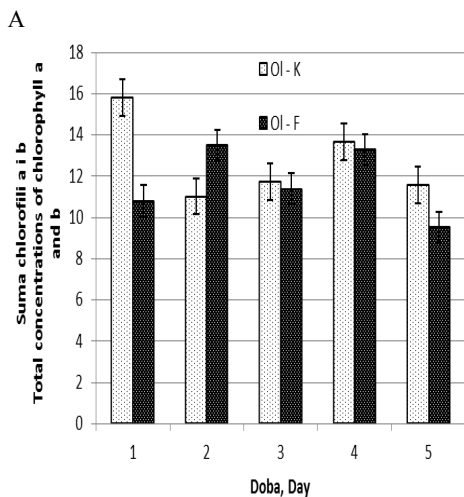
Rozpatrując sumę chlorofili a i b, stwierdzono iż w obiektach kontrolnych była wyższa niż w obiektach traktowanych dwutlenkiem siarki (rys. 1). Największe zawartości chlorofili a i b zanotowano w pierwszym dniu po ekspozycji roślin na skażenie, w kolejnych zanotowano tendencję malejącą. Baszyński (1996), Jasiewicz i inni (2004) i Furmańczyk (2013) w badaniach reakcji aparatu fotosyntetycznego roślin na skażenie metalami ciężkimi w warunkach silnego stresu również stwierdzili zmniejszenie się zawartości chlorofilu w liściach.

Analiza wariancji wykazała, iż na zawartość karotenoidów w liściach olchy i dębu istotny wpływ miał dwutlenek siarki (tab. 2). Zawartość karotenoidów w liściach olchy i dębu narażonych na działanie dwutlenku siarki zmniejszyła się w porównaniu do obiektów kontrol-

nych – w przypadku liści olchy o 14%, a liści dębu o 20,2% (tab. 5). Rozpatrując zmienność w czasie, zawartość karotenoidów kształtowała się na zbliżonym poziomie, wpływ czasu obserwacji był statystycznie nieistotny. Podobne wyniki uzyskali Warmiński i inni (2005), analizując oddziaływanie dwutlenku siarki i siarczanów (IV) na igły sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.).

Porównując gatunki drzew wykorzystane w doświadczeniu, stwierdzono, że zawartość karotenoidów w liściach olchy i dębu była na zbliżonym statystycznie poziomie.

Rozpatrując powstałe na liściach dębu i olchy uszkodzenia, analiza wariancji wykazała, iż wrażliwość na toksyczny gaz zależy od gatunku drzewa ($F_{emp} = 734,03$). Powstałe uszkodzenia powiększały się wraz z upływem czasu ($F_{emp} = 44,68$), nieistotna zaś okazała się interakcja między gatunkiem drzewa a czasem obserwacji. W prezentowanych



Ol – K – olcha kontrola/black alder, control,
Ol – F – olcha fumigowana dwutlenkiem siarki/
/black alder, after fumigation with sulfur dioxide

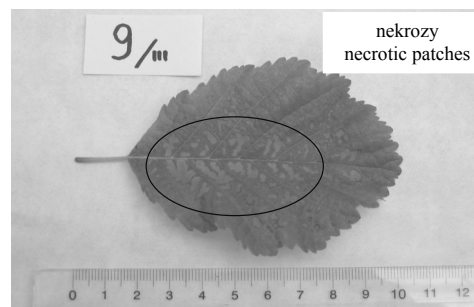
Db – K – dąb kontrola/English oak, control,
Db – F – dąb fumigowany dwutlenkiem siarki/
/English oak, after fumigation with sulfur dioxide

RYSUNEK 1. Suma chlorofili a i b w liściach olchy i dębu w obiektach kontrolnych i fumigowanych SO_2 : A – olcha, B – dąb

FIGURE 1. Total concentrations of chlorophyll a and chlorophyll b in black alder and English oak leaves in the control treatment and fumigated with sulfur dioxide: A – black alder, B – English oak

badaniach uszkodzenia olchy, pod wpływem ekspozycji sadzonek na dwutlenek siarki wystąpiły we wszystkich fumigowanych sadzonkach w kilka godzin po zakończeniu działania dwutlenku siarki (rys. 2). Objawy uszkodzeń liści to brzeżne lub międzyżyłkowe nekrozy na początku o barwie ciemnozielonej lub szarej, nasiąknięte wodą, które po wyschnięciu przybrały barwę ciemnobrązową (tab. 6). Woźny i Przybył (2004) również stwierdzili wystąpienie ostrych uszkodzeń na liściach przy godzinnej ekspozycji roślin na działanie SO_2 . Uszkodzenia liści dębu po działaniu dwutlenkiem siarki przejawiały się głównie pojedynczymi jasno lub ciemnobrązowymi nekrozami umieszczonymi na wierzchołkach liści. Uszkodzenia te nie były tak liczne i widoczne, jak w przypadku olchy. Zebrane z sadzonek liście poddano kompute-

rowej analizie obrazu pozwalającej na określenie procenta powierzchni uszkodzeń na liściach olchy i dębu. Przyjmując podaną w metodyce skalę uszkodzeń za Umińskim (1996), stwierdzono, że liście olchy pod wpływem zanieczyszczenia gazowym dwutlenkiem siarki zo-



RYSUNEK 2. Liść olchy czarnej po fumigacji dwutlenkiem siarki

FIGURE 2. Black alder leaf after fumigation with sulfur dioxide

TABELA 6. Stopień uszkodzenia liści olchy i dębu pod wpływem ekspozycji na dwutlenek siarki (średnie \pm SD)

TABLE 6. Leaf injury in alder and oak trees exposed to sulfur dioxide (mean \pm SD)

Doba po fumigacji Day after fumigation	Olcha czarna/Black alder		Dąb szypułkowy/English oak	
	Uszkodzenie powierzchni liści Damaged leaf surface area [%]	Stopień uszkodzenia The degree of damage [%]	Uszkodzenie powierzchni liści Damaged leaf surface area [%]	Stopień uszkodzenia The degree of damage [%]
1	20,84 \pm 1,25	lekki/light	2,10 \pm 0,54	brak/lack of
2	28,80 \pm 3,05	średni/average	3,97 \pm 1,33	brak/lack of
3	32,33 \pm 4,57	średni/average	5,06 \pm 1,2	brak/lack of
4	33,92 \pm 3,86	średni/average	7,95 \pm 1,9	brak/lack of
5	41,72 \pm 2,2	średni/average	17,45 \pm 1,13	lekki/light
Średnio dla gatunku Mean for species	31,52 Y	średni/average	7,31 X	brak/lack of
NIR _{0,01} LSD _{0,01}	D – 3,99, G – 2,52, D \times G – n.i.			

NIR dla D – doby, G – gatunku, n.i. – różnice nieistotne/LSD for D – day, G – species, n.i. – not significant.

stały uszkodzone w stopniu średnim (po 5 dniach średni procent uszkodzeni liści wyniósł 31,52), na liściach dębu procent uszkodzenia wyniósł średnio 7,3, a więc według skali brak uszkodzeń. Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała, że olcha jest bardziej wrażliwa na działanie dwutlenku siarki niż dąb.

Wnioski

1. Olcha czarna wykazuje się większą wrażliwością na działanie SO₂ niż dąb szypułkowy. Wrażliwość olchy może wynikać z dużej zawartości wody w liściach, co potęguje negatywne oddziaływanie SO₂.
2. Działanie na rośliny dwutlenku siarki w znacznym stopniu obniżyło zawartości chlorofili a i b oraz zwięk-

szyło stopień rozkładu chlorofilu a do feofityny, a co za tym idzie intensywność fotosyntezy.

3. Uszkodzenia wywołane przez SO₂ na liściach olchy objawiały się w postaci międzyżyłkowych nekroz brązowej lub ciemnobrązowej barwy i występowały przede wszystkim na dobrze rozwiniętych liściach, na młodszych objawiały się sporadycznie wzdłuż linii blaszki liściowej. W przypadku liści dębu uszkodzenia przyjmowały postać żółtych chloroz i pojedynczych brązowych nekroz.

Literatura

- Bačkor, M. i Váczi, P. (2002). Copper tolerance in the lichen photobiont *Trebouxe erici* (Chlo-

- rophyta). *Environmental and Experimental Botany*, 48, 11-20.
- Bačkor, M. i Fahselt, D. (2004). Psychological attributes of the lichen *Clandonia pleuroza* in heavy metal – rich and control sites near Sudbury (Out. Canada). *Environmental and Experimental Botany*, 52, 149-159.
- Barnes, J.D., Balaguer, L., Manrique, E., Elvira, S. i Davison, A.W. (1992). A reappraisal of the use of DSMO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants. *Environmental and Experimental Botany*, 32(2), 85-100.
- Baszyński, T. (1996). Wrażliwość aparatu fotosyntetycznego na działanie metali ciężkich w różnych fazach rozwojowych roślin. W S. Grzesiak i Z. Miszański (red.). *Ekofizjologiczne aspekty reakcji roślin na działanie abiotycznych czynników stresowych* (strony 19-36). Kraków: Wydawnictwo ZFR PAN.
- Bell, J.N.B. i Treshow, M. (2004). *Zanieczyszczenie powietrza a życie roślin*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowo-Techniczne.
- Furmańczyk, A. (2013). Reakcja aparatu fotosyntetycznego fasoli szparagowej na nadmiar kobaltu w podłożu. *Proceedings of ECOpole*, 7(1), 207-213.
- Greszta, J., Gruszka, A. i Kowalkowska, M. (2002). *Wpływ imisji na ekosystemy*. Katowice: Wydawnictwo Naukowe Śląsk.
- Jasiewicz, C., Zemanek, M. i Antonkiewicz, J. (2004). Influence of cadmium on photosynthetic pigment in maize. *Chemia i Inżynieria Ekologiczna*, 11(7), 587-593.
- Kulczycki, G., Spiak, Z. i Kamińska, A. (2006). Wpływ oddziaływania Zakładów Chemicznych Wizów na zawartość siarki w glebie i roślinach. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu*, 546, 237-242.
- Legge, A.H. i Krupa, S.V. (2004). Wpływ dwutlenku siarki. W J.N.B. Bell i M. Treshow, *Zanieczyszczenie powietrza a życie roślin*. (strony 151-179). Warszawa: Wydawnictwo Naukowo-Techniczne.
- Legge, A.H., Jäger, H.J. i Krupa, S.V. (1998). Sulfur Dioxide. W R.B. Flagler (red.). *Recognition of Air Pollution Injury to Vegetation*. (strony 313-342). Pittsburgh, PA: Air and Waste Management Association.
- Miszański, Z. (1981). Niektóre zagadnienia inżynierii SO₂ w proces fotosyntezy. *Wiadomości Botaniczne*, 25(1), 19-28.
- Rogula-Kozłowska, W., Rogula-Kopiec, P. i Majewski, G. (2014). Udokumentowane skutki oddziaływania aerozolu atmosferycznego na środowisko. *Przegląd Naukowy – Inżynieria i Kształtowanie Środowiska*, 65, 290-303.
- Umiński, T. (1996). *Ekologia, środowisko, przyroda*. Warszawa: Wydawnictwo Szkolne i Pedagogiczne.
- Warmiński, K., Rogalski, L. i Bęś, A. (2005). Oddziaływanie dwutlenku siarki i siarczianów (IV) na zanik chlorofilu w niektórych roślinach wskaźnikowych. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* 505, 491-501.
- Woźny, A. i Przybył, K. (2004). *Komórki roślinne w warunkach stresu. T.1. Komórki in vitro. Cz. 2*. Poznań: Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Adama Mickiewicza.

Streszczenie

Oddziaływanie dwutlenku siarki na wybrane gatunki liściastych drzew leśnych.

Działanie dwutlenku siarki na drzewa powoduje żółknięcie ich liści, ubytek chlorofilu, co ma przełożenie na zahamowanie procesu fotosyntezy. Rośliny są bardziej narażone na działanie SO₂ w dzień, kiedy mają otwarte aparaty szparkowe, przez które wnika on do wnętrza komórek. Podwyższone stężenie SO₂ powoduje rozkład chlorofilu, zakłócenie fotosyntezy, jak również zatrzymanie asymilacji, co w rezultacie prowadzi do zwiększonej wrażliwości drzew na czynniki klimatyczne, zmniejsza odporność drzewostanu na występowanie chorób oraz szkodników lasów. Celem prowadzonego eksperymentu było wykazanie wrażliwości olchy czarnej i dębu szypułkowego na zanieczyszczenia gazowe, podczas ekspozycji tych roślin w podwyższonych stężeniach dwutlenku siarki. Oddziaływanie dwutlenku siarki na liście określono poprzez oznaczenie zawartości chlorofilu a i b metodą ekstrakcji chloro-

filu dimetylosulfotlenkiem (DMSO). Olcha czarna wykazywała większą wrażliwość na działanie SO_2 niż dąb szypułkowy. Działanie na rośliny dwutlenkiem siarki w znacznym stopniu obniżyło zawartości chlorofili a i b, a co za tym idzie intensywność fotosyntezy. Uszkodzenie wywołane przez SO_2 na liściach olchy objawiało się w postaci nekroz, a w przypadku liści dębu uszkodzenia przyjmowały postać żółtych chloroz i pojedynczych brązowych nekroz.

Summary

The effect of sulfur dioxide on selected deciduous forest trees. Exposure of plants to sulfur dioxide causes yellowing of the green portions of the leaf and chlorophyll destruction, which inhibits photosynthesis. Plants incur more damage from sulfur dioxide during daytime, when stomata are open in the presence of sunlight and sulfur dioxide can penetrate into leaf cells. High sulfur dioxide concentrations lead to chlorophyll degradation, photosynthesis disturbance and inhibition of assimilation in leaves, which increases the vulnerability of trees to climatic factors

and decreases their resistance to diseases and pests. The aim of this study was to determine the sensitivity of black alder and English oak to gaseous air pollution. The trees were exposed to increased sulfur dioxide concentrations. The effect of sulfur dioxide on leaves was evaluated based on the concentrations of chlorophyll a and chlorophyll b extracted using dimethyl sulfoxide (DMSO). The black alder was more susceptible to sulfur dioxide than the English oak. Exposure of trees to sulfur dioxide considerably reduced the concentrations of chlorophyll a and chlorophyll b, and the rate of photosynthesis. Injury to foliage caused by sulfur dioxide appeared in the form of necrotic lesions in the black alder, and yellow chlorosis spots and individual brown necrotic patches in the English oak.

Author's address:

Agnieszka Bęś, Michał Baciak
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
Katedra Toksykologii Środowiska,
ul. Prawocheńskiego 17 10-720 Olsztyn,
Poland
e-mail: agnieszka.bes@uwm.edu.pl