

## ODDZIAŁYWANIE DWUTLENKU SIARKI I SIARCZANÓW(IV) NA ZANIK CHLOROFILU W NIEKTÓRYCH ROŚLINACH WSKAŹNIKOWYCH

*Kazimierz Warmiński, Leszek Rogalski, Agnieszka Bęś*

Katedra Ochrony Powietrza i Toksykologii Środowiska,  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

### Wstęp

W organizmach żywych siarka występuje przede wszystkim na  $-2$  (np. związki organiczne) i  $+6$  stopniu utlenienia (siarczany(VI)). Nieorganiczne związki siarki czterowartościowej ( $\text{SO}_2$  i siarczany(IV)) są wysoce reaktywnymi substancjami, o niskim potencjale oksydoredukcyjnym ( $E^0$ ) i wynikającej z tego stonkowo dużej szkodliwości dla organizmów żywych [KAPPLER, DAHL 2001; CAPE i in. 2003]. Zarówno organizmy prokariotyczne, jak i eukariotyczne wytworzyły szereg mechanizmów obronnych przed destrukcyjnym działaniem tych substancji, m.in. odporność biochemiczną, która polega na szybkim utlenianiu  $\text{S}(+4)$  do  $\text{S}(+6)$  – mniej toksycznych siarczanów(VI) – bądź też wolniejszej redukcji  $\text{S}(+4)$  do  $\text{S}(-2)$  i wyemitowaniu gazowego siarkowodoru [STASZEWSKI 1985; KAPPLER, DAHL 2001]. Pomimo tego, po przekroczeniu określonego poziomu krytycznego  $\text{SO}_2$  w powietrzu, odmiennego dla różnych gatunków i zależnego również od czasu ekspozycji i warunków środowiskowych, następują w organizmie pewne zmiany biochemiczne, wywołujące efekty chroniczne, a w skrajnych przypadkach – ostre. Skutkiem oddziaływania chronicznego mogą być np. spowolnienie wzrostu roślin i przewlekłe choroby układu oddychania i krążenia u ludzi. Z kolei przykładem reakcji ostrej na  $\text{SO}_2$  mogą być uszkodzenia liści roślin, m.in. chlorozy i nekrozy [MANNINEN i in. 1996; KRUPA, LEGGE 1999; SUNYER i in. 2003].

W ostatnich latach stężenie  $\text{SO}_2$  w powietrzu atmosferycznym stopniowo zmniejsza się ze względu na obostrzenia prawne związane z emisją gazów spalania [GUS 2004] oraz wzrostem świadomości ekologicznej. Pomimo tego roślinność nadal podlega ekspozycji na ten gaz, szczególnie na terenach miejskich i podmiejskich z zabudową jednorodziną (paleniska domowe) i rejonach przemysłowych. Problem ten nasila się w niektórych krajach azjatyckich ze względu na wyraźny wzrost emisji  $\text{SO}_2$  i brak tak ostrych przepisów jak w krajach Unii Europejskiej i Ameryki Północnej [ARNDT i in. 1997; STREETS i in. 2000]. Wysokie stężenia dwutlenku siarki na tych terenach występują zwłaszcza w określonych warunkach atmosferycznych i topograficznych niesprzyjających mieszaniu z otaczającymi masami czystszeo powietrza [GIVATI i in. 1996; FALKOWSKA, KORZENIEWSKI 1998].

Najwrażliwymi grupami taksonomicznymi roślin na  $\text{SO}_2$  są porosty i drzewa iglaste, których aparaty asymilacyjne są narażone na zanieczyszczenia powietrza przez cały rok, zwłaszcza zimą w okresie grzewczym. Jednakże tylko niektóre gatunki odznaczają się przydatnością jako biowskaźniki zanieczyszczenia powietrza. Na szczególną uwagę zasługują porosty, będące układami symbiotycznymi grzybów i fotobiontów (glonów, sinic). Charakteryzują się one wysoką wrażliwością na szereg związków chemicznych, pospolitością i specyficzną gospodarką wodno-mineralną. Szczególnie ta ostatnia cecha czyni porosty biowskaźnikami zanieczyszczeń powietrza wolnymi od interakcji związanych z warunkami glebowymi, bowiem całość składników mineralnych i wody pobierają bezpośrednio z atmosfery bądź wody opadowej [BYSTREK 1997; SZCZEPANIAK, BIZIUK 2003]. Parametrami określanymi w biomonitoringu atmosfery mogą być zarówno cechy biologiczne (m.in. zmiany florystyczne i morfologiczno-anatomiczne, osłabienie intensywności fotosyntezy i oddychania, zawartość i stopień degradacji chlorofilu), jak i typowo chemiczne: zawartość siarki, metali ciężkich itp. [SAGIN 1994; CONTI, CECCHIETTI 2001; LOPPI i in. 2002].

Celem pracy było zbadanie wpływu związków siarki czterowartościowej na zawartość i stopień degradacji chlorofilu oraz uszkodzenia plech wybranych gatunków porostów i organów asymilacyjnych drzew iglastych.

## Materiał i metody

Badaniami objęto plechy dwóch gatunków porostów epifitycznych i organy asymilacyjne dwóch gatunków drzew iglastych. Porostami wykorzystanymi w doświadczeniu były: pustułka pęcherzykowata (*Hypogymnia physodes*) i tarczownica bruzdkowana (*Parmelia sulcata*). Są to taksony o listkowatej morfologii plech, powszechnie występującymi na terenie Polski, a jednocześnie mające odpowiednie cechy biowskaźników zanieczyszczenia powietrza. Gatunki z rodzajów *Hypogymnia* sp. i *Parmelia* sp. są często wykorzystywanymi taksonami w biomonitoringu jakości powietrza [ŚWIEBODA, KALEMBA 1978; LOPPI i in. 2002]. Plechy *H. physodes* pobrano z gałęzi modrzewia europejskiego (*Larix decidua* MILL.), a plechy *P. sulcata* z pnia topoli osiki (*Populus tremula* L.) z wysokości 1,5–2 m, rosnących w lesie nad jeziorem Kortowskim w Olsztynie. Oprócz plech porostów z tego samego stanowiska pobrano jednoroczne igły sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) i świerka pospolitego (*Picea abies* (L.) H. KARST.). Średnie stężenie  $\text{SO}_2$  w powietrzu atmosferycznym w miesiącu poprzedzającym pobór prób materiału biologicznego (15 I–15 II 2005 r.), oznaczane w automatycznej stacji monitoringu emisji zanieczyszczeń powietrza w kampusie uniwersyteckim w Kortowie (UWM w Olsztynie), wynosiło  $5,51 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ .

W doświadczeniu pierwszym plechy porostów i igły drzew poddano fumigacji wysokimi stężeniami dwutlenku siarki w celu wywołania ostrej reakcji biowskaźników. Materiał biologiczny (po jednej pleśce i po 10 igieł) umieszczano w szczelnie zamykanych mikrokomorach (słojach) o pojemności  $1,1 \text{ dm}^3$ . Do słojów aplikowano, za pomocą mikropipety Hamilton, odpowiednią objętość wodnego roztworu  $\text{SO}_2$  o stężeniu  $1,9018 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Stężenie  $\text{SO}_2$  określono metodą jodometryczną w dniu zakładania doświadczenia, a objętość roztworu dobrano tak, aby uzyskać – po odparowaniu roztworu – rosnące w postępie geometrycznym stężenia początkowe  $\text{SO}_2$  w powietrzu mikrokomór równe: 0 (obiekt kontrolny),

100, 200, 400 i 800 mg·m<sup>-3</sup>. Tak wysokie stężenia były niezbędne do wywołania ostrej reakcji badanych roślin na SO<sub>2</sub> i do określenia różnic międzygatunkowych w eksperymencie krótkoterminowym. Wartości te zostały określone na podstawie testu wstępnego.

Zamknięte słoje umieszczono w komorze klimatyzacyjnej Microclima 1000 (Snijders Scientific DV, Holandia) z fotoperiodem dzień/noc 16 godz./8 godz., natężeniem światła 2500 lx i temperaturą 20°C. Po 24 godz. mikrokomory przewietrzono, a po kolejnych 6 dniach doświadczenie zakończono. Dodatkowo, dla porównania, igły sosnowe i świerkowe traktowano wodnymi roztworami wodorosiarczanu(IV) sodu (NaHSO<sub>3</sub>) i siarczanu(IV) sodu (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) w stężeniach: 0 (obiekt kontrolny – woda redestylowana) 2,5; 5; 10 i 50 mmol·dm<sup>-3</sup> (doświadczenie 2). Wyłożone, na płytkach Petriego, krążki bibuły filtracyjnej (Filtrak 388) o średnicy 11 cm nasączano 4 mililitrami odpowiednich roztworów i umieszczano na nich po 10 igieł sosnowych i świerkowych. Płytki przykrywano i uszczelniano folią LDPE. Warunki oświetleniowe i temperatura były identyczne jak w doświadczeniu 1, a czas trwania doświadczenia 7 dni. Oba doświadczenia przeprowadzono w czterech powtórzeniach.

Oddziaływanie SO<sub>2</sub> i siarczanów(IV) na rośliny wskaźnikowe obejmowały określenie:

- zawartości chlorofilu *a* i *b* w plechach i igłach oraz stopnia feofitynizacji chlorofilu *a* (PQ) plech porostów metodą spektrofotometrii ekstraktów dimetylosulfotlenkowych [BARNES i in. 1992] oraz
- udziału stref nekrotycznych igieł traktowanych gazowym SO<sub>2</sub> i roztworami siarczanów(IV) metodą cyfrowej analizy obrazu, po zakończeniu obu doświadczeń.

Reprezentatywne fragmenty plech porostów o masie 15–17 mg ±0,1 mg (powietrznie suchej masy) oraz 1–2 mm długości fragmenty igieł sosnowych i świerkowych o masie 48–52 mg ±0,1 mg (p.s.m.) traktowano po 4 ml DMSO cz.d.a. (dimetylu sulfotlenku). Ekstrakcję prowadzono w temperaturze 63±0,5°C przez 40 minut (plechy) i 240 minut (igły). Następnie 2 ml ekstraktu rozcieńczano świeżym DMSO w stosunku 1 : 1 i niezwłocznie wykonywano pomiar absorbancji spektrofotometrem Aquamate (Unicam) przy długościach fali: 750; 648,2; 665; 435 i 415 nm. Roztworem odniesienia był DMSO cz.d.a., a długość drogi optycznej wynosiła 1 cm. Zawartość chlorofilu *a* i *b* obliczano na podstawie wyznaczonych równań przez BARNES i in. [1992].

Igły sosny i świerka po zakończeniu doświadczeń fotografowano aparatem cyfrowym Canon Ixus 30, przy rozdzielczości 3,2 Mpix i kompresji „Super” (format plików: jpg). Pomiarów udziału powierzchni nekrotycznej w ogólnej powierzchni poszczególnych igieł wykonano za pomocą programu do komputerowej analizy obrazu Motic Images 2000 [MICRO-OPTIC ... 2002].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej pakietem Statistica 6.1 PL [STATSOFT INC. 2003]. W celu określenia wpływu traktowania badanych roślin wskaźnikowych dwutlenkiem siarki i siarczanami(IV) na zawartość chlorofilu, PQ i udział stref nekrotycznych posłużono się dwu- i trójczynnikiem analizą wariancji (ANOVA), a ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi wykonano testem Tukey'a, przy poziomie istotności  $p = 0,01$ . Siłę zależności pomiędzy wybranymi cechami oceniono wykorzystując analizę korelacji i regresji liniowej Pearsona, kwadratowej i wykładniczej, przy poziomie  $p = 0,01$  i  $p = 0,001$ .

## Wyniki i dyskusja

Przeprowadzone badania wykazały, że zawartość i stabilność chlorofilu w plechach pustułki pęcherzykowatej (*H. physodes*) i tarczownicy bruzdkowanej (*P. sulcata*) istotnie zależała od stężenia  $\text{SO}_2$ . Zarówno zawartość sumy chlorofilu *a* i *b*, jak i stopień feofitynizacji chlorofilu *a* (PQ) malały wykładniczo wraz ze wzrostem stężenia  $\text{SO}_2$ , przy czym uzyskane współczynniki determinacji  $R^2$  wynosiły od 0,9214 do 0,9568, co świadczy o występowaniu silnej korelacji nieliniowej pomiędzy tymi cechami (rys. 1). Stwierdzono jednak statystycznie istotne różnice dopiero po przekroczeniu stężenia  $\text{SO}_2 = 200$  i  $400 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ , odpowiednio dla zawartości chlorofilu *a* i *b* (tab. 1). Całkowita degradacja chlorofilu *a* i *b* (spadek jego zawartości) w plechach *H. physodes* i *P. sulcata* wynosiła przy stężeniu  $400 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$  odpowiednio: 45,0 i 50,5%, natomiast przy najwyższym stężeniu  $\text{SO}_2 - 85,2$  i 69,0%. Stopień feofitynizacji (PQ) chlorofilu *a* okazał się czulszym wskaźnikiem wpływu dwutlenku siarki na fotobionty porostów, przy czym u *H. physodes* zaobserwowano istotnie niższe wartości tej cechy. Brak istotnych różnic w PQ odnotowano jedynie pomiędzy stężeniem  $100 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$  a obiektem kontrolnym. GARTY i in. [1997] stwierdzili również ujemną korelację pomiędzy stopniem zanieczyszczenia środowiska dwutlenkiem siarki a PQ chlorofilu u *Ramalina duriaei*. Z kolei CALATAYUD i in. [1996] określili wpływ silnego zanieczyszczenia powietrza dwutlenkiem siarki i ozonem na zanik chlorofilu w plechach *Parmelia quercina*, co potwierdza uzyskane w niniejszej pracy wyniki.

Tabela 1; Table 1

Zawartość chlorofilu i jego stopień degradacji w plechach porostów traktowanych  $\text{SO}_2$   
The content and degradation of chlorophyll in lichen thallus treated  $\text{SO}_2$

Stężenie Concentration $\text{SO}_2$ ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ )	Chlorofil <i>a</i> Chlorophyll <i>a</i>		Chlorofil <i>b</i> Chlorophyll <i>b</i>		Chlorofile <i>a+b</i> Chlorophylls <i>a+b</i>		PQ	
	( $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ )*						H	P
	H	P	H	P	H	P		
0	2,284 a	2,296 a	0,581 a	0,477 a	2,877 a	2,760 a	0,701 a	0,785 a
100	1,731 a	1,750 a	0,544 a	0,410 a	2,294 a	2,141 a	0,671 a	0,846 a
200	1,651 a	2,105 a	0,547 a	0,394 a	2,653 ab	2,045 ab	0,556 b	0,735 b
400	0,962 b	1,108 b	0,475 ab	0,404 ab	1,583 b	1,366 b	0,499 c	0,586 c
800	0,495 b	0,200 b	0,225 b	0,361 b	0,425 c	0,856 c	0,387 d	0,438 d
Średnia Average	1,492 x	1,424 x	0,474 x	0,409 x	1,966 x	1,833 x	0,562 x	0,678 y

\*  $\mu\text{g}$  chlorofilu /  $\text{mg}$  powietrznie suchej masy;  $\mu\text{g}$  chlorophyll /  $\text{mg}$  air-dry matter

H *Hypogymnia physodes*

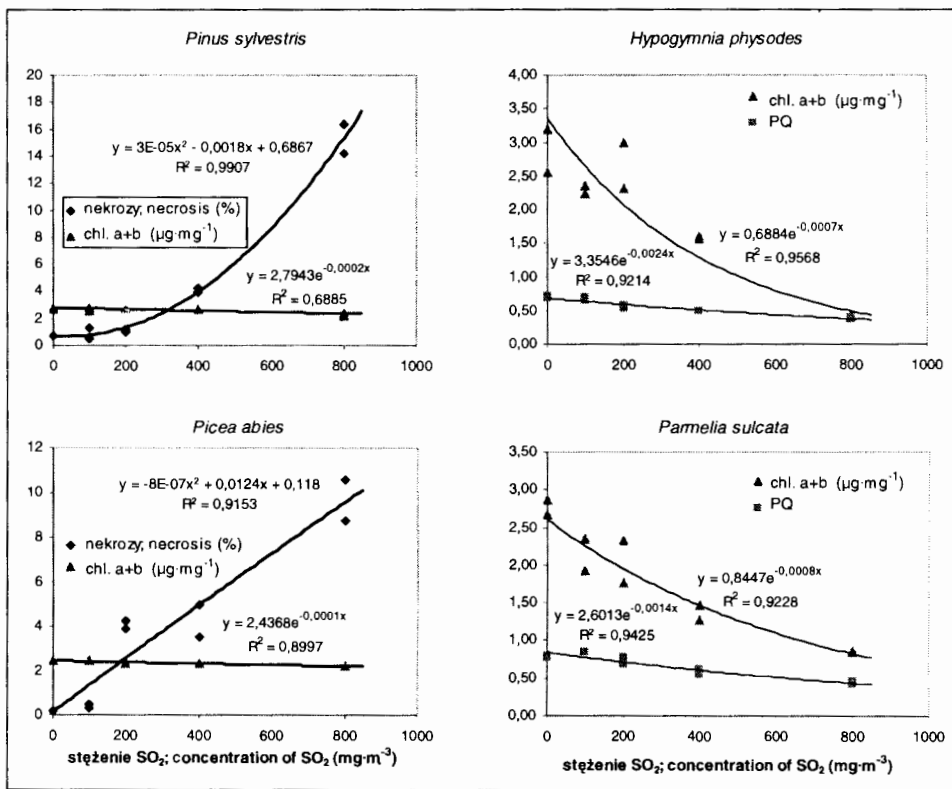
P *Parmelia sulcata*

PQ iloraz feofitynizacji; phaeophytinization quotient

Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się ( $p = 0,01$ ) istotnie (test Tukey'a); Mean values marked with the same letter are not significantly ( $p = 0.01$ ) different (Tukey's test)

a, b, c dla porównania stężeń  $\text{SO}_2$  i interakcji; to comparison of  $\text{SO}_2$  concentration and interactions

x, y dla porównania gatunków; to comparison of species



Rys. 1. Zmiany parametrów fizjologicznych plech porostów i igieł drzew w zależności od stężenia  $\text{SO}_2$  w badaniach krótkoterminowych

Fig. 1. Variations in physiology parameters of lichen thallus and trees needles according to  $\text{SO}_2$  concentration in short-term tests

Degradacja chlorofilu, której wyznacznikiem może być zarówno zmniejszenie jego ogólnej zawartości, jak i stopnia feofitynizacji, objawiała się postępującą zmianą zabarwienia plech. Plechy *H. physodes* wraz ze wzrostem stężenia i czasu trwania doświadczenia białeły, natomiast plechy *P. sulcata* najpierw reagowały powstawaniem czerwonych przebarwień, a następnie białych i brązowych.

Igły sosny zwyczajnej i świerka pospolitego były mniej wrażliwymi organami asymilacyjnymi niż plechy porostów. Istotny spadek zawartości chlorofilu *a* i *b* obserwowano dopiero przy najwyższym stężeniu  $\text{SO}_2$ , który wynosił dla sosny i świerka odpowiednio: 15,3% i 9,7% (tab. 2). Wraz ze spadkiem zawartości chlorofilu obserwowano nasilenie występowania uszkodzeń igieł, objawiających się strefowymi nekrozami, wyraźnie oddzielonymi od fragmentów zielonych. Efekt tego typu uszkodzeń w wyniku ostrego oddziaływania dwutlenku siarki na rośliny potwierdzają badania szeregu autorów [MANNINEN i in. 1996; RAUTIO i in. 1998; KRUPA, LEGGE 1999].

Zawartość chlorofilu *a* i *b* była silnie skorelowana z udziałem powierzchni stref nekrotycznych w ogólnej powierzchni igieł (tab. 3). Analiza korelacji i regresji wykazała również wysoce istotną zależność zarówno udziału powierzchni nekrotycznej, jak i zawartości sumy chlorofilu *a* i *b* w igłach obu gatunków drzew

od stężenia  $\text{SO}_2$ . Udział powierzchni nekrotycznej igieł sosny zwyczajnej zwiększał się w funkcji kwadratowej, a igieł świerka pospolitego – w funkcji liniowej – wraz ze wzrostem stężenia  $\text{SO}_2$  (rys. 1). Zawartość chlorofilu *a* i *b* malała wykładniczo przy wzroście stężenia  $\text{SO}_2$ , podobnie jak w przypadku porostów, przy czym odnotowano mniejsze współczynniki determinacji (od 0,6885 do 0,8997).

Tabela 2; Table 2

Zawartość chlorofilu w igłach sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris*) i świerka pospolitego (*Picea abies*) traktowanych  $\text{SO}_2$

Chlorophyll content in Scotch pine (*Pinus sylvestris*) and Norwegian spruce (*Picea abies*) needles treated  $\text{SO}_2$

Stężenie Concentration $\text{SO}_2$ ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ )	Chlorofil <i>a</i> Chlorophyll <i>a</i>		Chlorofil <i>b</i> Chlorophyll <i>b</i>		Chlorofily <i>a+b</i> Chlorophylls <i>a+b</i>	
	( $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ )					
	sosna zwyczajna Scotch pine	świerk pospolity Norwegian spruce	sosna zwyczajna Scotch pine	świerk pospolity Norwegian spruce	sosna zwyczajna Scotch pine	świerk pospolity Norwegian spruce
0	2,305 a	1,694 a	0,408 d	0,746 a	2,713 a	2,441 a
100	2,285 a	1,694 a	0,408 d	0,737 a	2,693 a	2,431 a
200	2,355 a	1,625 a	0,407 d	0,710 b	2,762 a	2,335 a
400	2,283 a	1,622 a	0,395 d	0,709 b	2,678 a	2,331 a
800	1,953 b	1,537 b	0,346 e	0,669 c	2,299 b	2,205 b
Średnia; Average	2,236 y	1,634 x	0,393 x	0,714 y	2,629	2,349

Objaśnienia jak do tabeli 1; for details, see Table 1

Tabela 3; Table 3

Macierz korelacji stężenia  $\text{SO}_2$  oraz cech biowskaźnikowych sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris*) i świerka pospolitego (*Picea abies*)

The correlation matrix of  $\text{SO}_2$  concentration and bioindicator properties of Scotch pine (*Pinus sylvestris*) and Norwegian spruce (*Picea abies*)

Wyszczególnienie Specification	Stężenie $\text{SO}_2$ Concentration $\text{SO}_2$	Chl. <i>a + b</i> <sup>2)</sup> sosna zwyczajna Scotch pine	Chl. <i>a + b</i> <sup>2)</sup> świerk pospolity Norwegian spruce
Stężenie $\text{SO}_2$ $\text{SO}_2$ concentration	1,0	-0,8292 *	-0,9468 **
Nekrozy <sup>1)</sup> ; Necrosis <sup>1)</sup> Sosna zwyczajna; Scotch pine	0,9539 **	-0,9337 **	—
Nekrozy <sup>1)</sup> ; Necrosis <sup>1)</sup> Świerk pospolity; Norwegian spruce	0,9566 **	—	0,9951 *

<sup>1)</sup> Udział powierzchni stref nekrotycznych w powierzchni ogólnej igieł; Share of necrosis zone area in total area of needles;

<sup>2)</sup> Zawartość sumy chlorofilu *a* i *b* w igłach; The total content of chlorophylls *a* and *b* in needles

\*, \*\* współczynniki korelacji Pearsona istotne dla poziomów p, odpowiednio: 0,01 i 0,001; Pearson's correlation coefficients significant at p-levels of 0.01 and 0.001, respectively

Objawy uszkodzeń igieł sosnowych i świerkowych wywołane oddziaływaniem roztworów siarczanów(IV) –  $\text{NaHSO}_3$  i  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  – były zbliżone do reakcji na dwutlenek siarki, jednak ich rozmiar był zróżnicowany. Na podstawie analizy wyników uzyskanych z doświadczenia drugiego stwierdzono, że roztwory wodne wodorosiarczanu(IV) sodu ( $\text{NaHSO}_3$ ) wpływały znacznie silniej na powstawanie uszkodzeń (nekroz) na igłach sosnowych i świerkowych, w porównaniu z siarczanem(IV) sodu ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ). Poza tym, udział powierzchni nekrotycznej w ogólnej powierzchni igieł był zależny od pozostałych dwóch czynników doświadczenia – od stężenia molowego tych soli oraz, w mniejszym stopniu, od gatunku testowego, o czym świadczą wielkości parametru  $F_{\text{emp}}$  (tab. 4).

Tabela 4; Table 4

Analiza wariancji czynników wpływających na powstawanie stref nekrotycznych na igłach sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris*) i świerka pospolitego (*Picea abies*) traktowanych wodnymi roztworami  $\text{NaHSO}_3$  i  $\text{Na}_2\text{SO}_3$

Analysis of variance of factors influencing formation of necrosis zone on Scotch pine (*Pinus sylvestris*) and Norwegian spruce (*Picea abies*) needles treated aqueous solutions of  $\text{NaHSO}_3$  and  $\text{Na}_2\text{SO}_3$

Analiza trójczynnikowa Trec-factors analysis		Analiza dwuczynnikowa Two-factors analysis		
Efekt; Effect	$F_{\text{emp}}$	efekt; effect .	$F_{\text{emp}} (\text{NaHSO}_3)$	$F_{\text{emp}} (\text{Na}_2\text{SO}_3)$
S	1835,22 *			
G	14,38 *	G	14,28 *	0,17
St	1289,60 *	St	1209,67 *	89,02 *
S x G	13,27 *	G x St	56,77 *	0,39
S x St	1056,67 *			
G x St	56,59 *			
S x G x St	53,28 *			

\* wartość  $F_{\text{emp}}$  istotna dla poziomu  $p = 0,01$ ;  $F_{\text{emp}}$  value significant at level  $p = 0.01$   
Czynniki; Factors: S – substancja (sól); substances (salts), G – gatunek; species, St – stężenie; concentration, interakcje między czynnikami; interactions between the factors: S x G, S x St, G x St, S x G x St

Wykazano niejednakową reakcję obu gatunków testowych na działanie jonów  $\text{HSO}_3^-$ . Sosna zwyczajna okazała się gatunkiem wrażliwszym od świerka pospolitego przy niższych stężeniach wodorosiarczanu(IV) – do  $10 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  – natomiast bardziej tolerancyjnym przy wyższym (tab. 5), stąd odnotowana w dwu- i trójczynnikowej analizie wariancji interakcja międzyczynnikowa – gatunek x stężenie (tab. 4). Istotną reakcję igieł świerka odnotowano dopiero przy stężeniu  $\text{NaHSO}_3$  wynoszącym  $50 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , przy którym nekrozy obejmowały 100% powierzchni. Mimo to zauważalne, lecz nieistotne statystycznie, objawy uszkodzeń stwierdzono już przy stężeniu  $5 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Natomiast w przypadku igieł sosny zwyczajnej istotną reakcję stwierdzono przy stężeniu  $10 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . W tym obiekcie nekrozy stanowiły średnio 38,3% powierzchni liścia, a przy stężeniu  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  równym  $50 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  – 86,3%.

Tabela 5; Table 5

Udział powierzchni stref nekrotycznych na igłach sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris*) i świerka pospolitego (*Picea abies*) traktowanych wodnymi roztworami  $\text{NaHSO}_3$  i  $\text{Na}_2\text{SO}_3$   
 Share of necrosis zone area on Scotch pine (*Pinus sylvestris*) and Norwegian spruce (*Picea abies*) needles treated aqueous solutions of  $\text{NaHSO}_3$  and  $\text{Na}_2\text{SO}_3$

Stężenie soli Concentration of salts ( $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	Wodny roztwór $\text{NaHSO}_3$ Aqueous solution of $\text{NaHSO}_3$			Wodny roztwór $\text{Na}_2\text{SO}_3$ Aqueous solution of $\text{Na}_2\text{SO}_3$		
	sosna zwyczajna Scotch pine	świerk pospolity Norwegian spruce	średnia average	sosna zwyczajna Scotch pine	świerk pospolity Norwegian spruce	średnia average
0	0,020 d	0,008 d	0,014 b	0,014 a	0,010 a	0,012 a
2,5	0,727 d	0,017 d	0,372 b	0,012 a	0,010 a	0,011 a
5	1,883 d	2,433 d	2,158 b	0,017 a	0,010 a	0,014 a
10	38,308 c	5,336 d	21,822 a	1,170 a	0,638 a	0,904 a
50	86,286 b	100,0 a	93,143 a	4,527 b	4,679 b	4,603 b
Średnia; Average	25,445 y	21,559 x		1,148 x	1,070 x	

Objaśnienia jak do tabeli 1; For details, see Table 1

Reakcja organów asymilacyjnych sosny i świerka na siarczan(IV) sodu była istotnie zróżnicowana dopiero przy najwyższym badanym stężeniu ( $50 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) w porównaniu z pozostałymi obiektami (tab. 5). Udział powierzchni nekrotycznej wynosił dla najwyższego stężenia  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  średnio 4,6%, w obu gatunkach testowych.

### Wnioski

1. Porosty okazały się wrażliwymi bio wskaźnikami zanieczyszczenia powietrza dwutlenkiem siarki niż drzewa iglaste.
2. Stopień feofitynizacji chlorofilu (PQ) i zawartość chlorofilu *a* i *b* w plechach malały wykładniczo wraz ze wzrostem stężenia  $\text{SO}_2$ . Jednakże PQ był czulszym wskaźnikiem reakcji porostów na zanieczyszczenia powietrza.
3. Uszkodzenia igieł sosny zwyczajnej i świerka pospolitego pod wpływem  $\text{SO}_2$  charakteryzowały się strefowymi nekrozami wyraźnie oddzielonymi od tkanek zdrowych.
4. Roztwór wodorosiarczanu(IV) sodu wywoływał istotnie silniejsze uszkodzenia niż siarczanu(IV) sodu, a ich objawy są podobne do efektów oddziaływania  $\text{SO}_2$ .
5. Udział powierzchni nekrotycznej igieł sosnowych i świerkowych był skorelowany z zawartością chlorofilu *a* i *b* w tkankach i stężeniem  $\text{SO}_2$  w powietrzu.



## Literatura

- ARNDT R.L., CARMICHAEL G.R., STREETS D.G., BHATTI N. 1997. *Sulfur dioxide emissions and sectorial contributions to sulfur deposition in Asia*. Atmos. Environ. 31(10): 1553–1572.
- BARNES J.D., BALAGUER L., MANRIQUE E., ELVIRA S., DAVISON A.W. 1992. *A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants*. Environ. Exp. Bot. 32(2): 85–100.
- BYSTREK J. 1997. *Podstawy lichenologii*. Wydawnictwo UMCS, Lublin: 312 ss.
- CALATAYUD A., SANZ M. J., CALVO E., BARRENO E., DEL VALLE-TASCÓN S. 1996. *Chlorophyll a fluorescence and chlorophyll content in Parmelia quercina thalli from a polluted region of Northern Castellón (Spain)*. Lichenologist 28(1): 49–65.
- CAPE N., FOWLER D., DAVISON A. 2003. *Ecological effects of sulfur dioxide, fluorides, and minor air pollutants: recent trends and research needs*. Environ. Int. 29: 201–211.
- CONTI M.E., CECCHETTI G. 2001. *Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment – a review*. Environ. Poll. 114(3): 471–492.
- FALKOWSKA L., KORZENIEWSKI K. 1998. *Chemia atmosfery*. Wydawnictwo UG, Gdańsk: 193 ss.
- GARTY J., KLOOG N., COHEN Y., WOLFSON R., KARNIELI A. 1997. *The effect of air pollution on the integrity of chlorophyll, spectral reflectance response, and on concentrations of nickel, vanadium, and sulfur in the lichen ramalina duriaei (De Not.) Bagl.* Environ. Res. 74: 174–187.
- GIVATI R., FLOCCHINI R.G., CAHILL T.A. 1996. *Modeling sulfur dioxide concentrations in Mt. Rainier area during PREVENT*. Atmos. Environ. 30(2): 255–267.
- GUS 2004. *Informacje i opracowania statystyczne. Ochrona Środowiska 2004*. ZWS, Warszawa.
- KAPPLER U., DAHL C. 2001. *Enzymology and molecular biology of prokaryotic sulfite oxidation*. FEMS Microbiol. Lett. 203: 1–9.
- KRUPA S.V., LEGGE A.H. 1999. *Foliar injury symptoms of Saskatoon serviceberry (Amelanchier alnifolia Nutt.) as a biological indicator of ambient sulfur dioxide exposures*. Environ. Poll. 106: 449–454.
- LOPPI S., IVANOV D., BOCCARDI R. 2002. *Biodiversity of epiphytic lichens and air pollution in the town of Siena (Central Italy)*. Environ. Poll. 116(1): 123–128.
- MANNINEN S., HUTTUNEN S., RAUTIO P., PERÄMÄKI P. 1996. *Assessing the critical level of SO<sub>2</sub> for Scots pine in situ*. Environ. Poll. 93(1): 27–38.
- MICRO-OPTIC INDUSTRIAL GROUP CO., LTD. 2002. *Motic Images 2000, ver. 1.2 Professional*.
- RAUTIO P., HUTTUNEN S., KUKKOLA E., PEURA R., LAMPPU J. 1998. *Deposited particles, element concentrations and needle injuries on Scots pines along an industrial pollution transect in northern Europe*. Environ. Poll. 103: 81–89.
- SAGIN B. 1994. *Określenie stopnia zanieczyszczenia powietrza w Wejherowie metodą bioindykacji porostowej*. Ochr. Środ. Zas. Nat. 8: 43–50.
- STASZEWSKI T. 1985. *Emisja siarkowodoru przez rośliny jako mechanizm obronny przed nadmiarem związków siarki w środowisku*. Wiad. Bot. 29: 285–296.

STATSOFT INC. 2003. STATISTICA (data analysis software system), ver. 6.1, <www.statsoft.com>.

STREETS D.G., TSAI N.Y. AKIMOTO H., OKA K. 2000. *Sulfur dioxide emissions in Asia in the period 1985–1997*. Atmos. Environ. 34(26): 4413–4424.

SUNYER J., BALLESTER F., LE TERTRE A., ATKINSON R., AYRES J.G., FORASTIERE F., FORSBERG B., VONK J.M., BISANTI L., TENIAS J.M., MEDINA S., SCHWARTZ J., KATSOUYANNI K. 2003. *The association of daily sulfur dioxide air pollution levels with hospital admissions for cardiovascular diseases in Europe (The Aphea-II study)*. Eur. Heart J. 24: 752–760.

SZCZEPANIAK K., BIZIUK M. 2003. *Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution*. Environ. Res. 93(3): 221–230.

ŚWIEBODA M., KALEMBA A. 1978. *Porosty biologicznymi wskaźnikami zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego*. Wiad. Ekol. 24(3): 209–223.

**Słowa kluczowe:** dwutlenek siarki, siarczan(IV), porosty, sosna, świerk, degradacja chlorofilu

### Streszczenie

W doświadczeniu symulowano epizody wysokich stężeń  $\text{SO}_2$  w komorze klimatyzacyjnej. Fumigacji dwutlenkiem siarki poddano: plechy porostów *Hypogymnia physodes* i *Parmelia sulcata* oraz organy asymilacyjne (igły) sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) i świerka pospolitego (*Picea abies* (L.) H. KARST.). Dodatkowo, dla porównania, igły sosny i świerka traktowano roztworami wodorosiarczanu(IV) sodu  $\text{NaHSO}_3$  i siarczanu(IV) sodu  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  na płytkach Petriego. Przeprowadzone badania wykazały wyższą wrażliwość obu gatunków porostów na  $\text{SO}_2$ , w porównaniu z organami asymilacyjnymi sosny i świerka. Fotobionty porostów reagowały na najwyższe stężenia  $\text{SO}_2$  silną degradacją chlorofilu  $a + b$  (45,0–85,2%), a objawem zewnętrznym tej reakcji było bielenie plech. Igły sosny i świerka podobnie reagowały zarówno na gazowy  $\text{SO}_2$ , jak i na roztwory  $\text{NaHSO}_3$ , natomiast roztwory  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  powodowały znacznie słabsze uszkodzenia. Można zatem uogólnić, że zawartość chlorofilu oraz stopień jego feofitynizacji okazały się przydatnym wskaźnikiem reakcji roślin na związki siarki czterowartościowej.

### EFFECT OF SULFUR DIOXIDE AND SULFATES ON CHLOROPHYLL DECAY IN SOME INDICATOR PLANTS

Kazimierz Warmiński, Leszek Rogalski, Agnieszka Bęś  
Department of Air Protection and Environmental Toxicology,  
University of Warmia and Mazury, Olsztyn

**Key words:** sulfur dioxide, sulfates, lichens, Scotch pine, Norwegian spruce, chlorophyll degradation

## Summary

Episodes of high  $\text{SO}_2$  concentrations were simulated in a climatic chamber. Thalli of *Hypogymnia physodes* and *Parmelia sulcata* lichens, and assimilation organs (needles) of Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) and Norwegian spruce (*Picea abies* (L.) H. KARST.) were exposed to fumigation with sulfur dioxide. Moreover, for the comparison, pine and spruce needles were treated with solutions of sodium hydrosulfate  $\text{NaHSO}_3$  and sodium sulfate  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  on Petri dishes. The results of study showed that the lichen species were more sensitive to  $\text{SO}_2$  than assimilation organs of pine and spruce. Lichen photobionts responded to  $\text{SO}_2$  by strong chlorophyll degradation (45,0–85,2%), what manifested itself by thallus bleaching. Pine and spruce needles responded in a similar way to both gaseous  $\text{SO}_2$  and  $\text{NaHSO}_3$  solutions, whereas  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  solutions caused much lesser damage. Thus, it may be concluded that chlorophyll content and degree of its pheophytinization are good indicators of plant response to sulfur(IV) compounds.

Dr inż. Kazimierz **Warmiński**  
Katedra Ochrony Powietrza i Toksykologii Środowiska  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski  
pl. Łódzki 2  
10-728 OLSZTYN  
e-mail: kazimierz.warminski@uwm.edu.pl