

TANINI I MIKROELEMENTI U STANICAMA IGLICA OBIČNE JELE (*Abies alba* Mill.) I MIKROELEMENTI U PČELINJEM MEDU KAO POKAZATELJI STANJA ŠUMA JELE GORSKOG KOTARA*

TANNINS AND MICROELEMENTS IN THE CELLS OF SILVER FIR TREE NEEDLES
(*Abies alba* MILL.) AND THE MICROELEMENTS IN BEE HONEY AS INDICATORS
OF THE SILVER FIR FORESTS CONDITION IN THE AREA OF GORSKI KOTAR

Jadranka ROŠA**

SAŽETAK: Zračno onečišćenje ima velik učinak na oštećenje i smanjenje vitalnosti stabala obične jele (*Abies alba* Mill.). Značajna oštećenost jele posebno je vidljiva u Gorskom kotaru i to u Nacionalnom parku Risnjak. Za sakupljanje iglica izabrane su dvije lokacije: jedna na staništu Risnjak sa stablima oštećenosti 25 %, 45 %, 55 %, 75 % i 85 %, te druga na lokaciji Donja Dobra (kontrolna) s relativnom zdravim stablima, oštećenost 5 % do 10 %. Kao pokazatelji oštećenosti upotrijebljene su morfološke karakteristike tanina u stanicama iglica s obzirom na različite stupnjeve oštećenja krošanja, vrste i količina mikroelemenata u iglicama, te mikroelementi u pčelinjem medu. Svjetlosnim mikroskopom analizirani su oblici i smjer širenja tanina. Vrsta i količina mikroelemenata i radionuklida određivana je primjenom fluorescencije X-zraka, EDXRF metodom. Također su provedena istraživanja medljikovca. Istraživanja su pokazala da su tanini dobar indikator praćenja oštećenja iglica. Njihove morfološke karakteristike korelirane su sa zastupljenošću mikroelemenata i stupnjem oštećenosti stabala. Medljikovac nije pokazao značajnu razliku u zastupljenosti mikroelemenata s obzirom na odabrane lokacije.

Ključne riječi: Zračno onečišćenje, obična jela (*Abies alba* Mill.), tanini, mikroelementi, medljikovac, radionuklidi

UVOD – Introduction

Obična jela (*Abies alba* Mill.) je jednodomna i anemofilna vrsta. U Republici Hrvatskoj zastupljena je na 200 000 ha površine i jedna je od najznačajnijih gospodarskih i ekoloških vrsta drveća (Vukelić i Baričević, 2001).

Zdravstveno stanje jele neprestano se pogoršava i u posljednjih deset godina postala je najoštećenija vrsta u Europi (Huttunen, 1976a, b; Bernadzki, 1983). Najveće sušenje jele u nas dogodilo se u Gorskom kotaru, gdje je ustanovljeno da su staništa šuma opterećena

mokrim i suhim taloženjima štetnih tvari iz onečišćenog zraka (Komlenović i Rastovski, 1992).

Istraživana je struktura tanina u stanicama iglica, vrste i količina mikroelemenata u iglicama, te vrste i količina mikroelemenata u pčelinjem medu, tj. medljikovcu.

Istraživanja su pokazala da su promjene strukture tanina u stanicama iglica jele u međusobnoj vezi sa stupnjem oštećenja krošnje i količinom mikroelemenata u iglicama. Pčelinji med upotrijebljen je kao pokazatelj prosječnog stanja okoliša s obzirom na stanje mikroelemenata u iglicama jele.

Dobiveni rezultati doprinose produblivanju spoznaja o utjecaju različitih mikroelemenata na stanične promjene u iglicama jele i otvaraju mogućnost korištenja pčelinjeg meda kao pokazatelja prosječnog stanja šumskog okoliša.

* Članak je sažetak doktorske disertacije obranjene 17. 7. 2006. na Prorodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu, a izrađene pod mentorstvom prof. dr. sc. Nikole Ljubešića i prof. dr. sc. Tomislava Bačića

** Dr. sc. Jadranka Roša, Hrvatske šume d.o.o., Zagreb, Vukotinovićeve 2

MATERIJALI I METODE – Material and methods

Za istraživanja su upotrebljavane jednogodišnje iglice jele (*Abies alba* Mill.) sakupljene u prirodnim uvjetima 2000. i 2001. godine na dvije lokacije, Risnjaku (onečišćenom staništu, kao eksperimentalnom) i Donjoj Dobri (čistom staništu, kao kontrolnom). Sa stabala različitih stupnjeva oštećenja tijekom tri razdoblja, u svibnju, srpnju i rujnu, ubrane su iglice iz godine uzorkovanja. Na staništu Risnjak analizirane su iglice sa stabala koja su imale oštećenost krošnje od 35 %, 45 %, 55 %, 75 % i 85 %.

Na staništu u Donjoj Dobri analizirane su iglice iz krošanja stabala s neznatnim oštećenjima (od 5 % do

10 %). Za analizu tanina sa svakog stabla uzete su po dvije jednogodišnje iglice. Ukupno je analizirano 20 iglica s pet stabala s oba lokaliteta. Sa istih stabala na obje lokacije sakupljene su iglice jele za analizu mikroelemenata.

Pčelinji med, u ovom slučaju više medljikovac, sakupljen je na kraju vegetacijske sezone iz košnica koje su se nalazile u neposrednoj blizini lokacija sa kojih su sakupljane iglice jele.

Priprema uzorka za analizu tanina – Preparation of samples for tannins analysis

Svježi uzorci iglica uklopljeni su u tekući parafin u laboratoriju Patologije Klinične bolnice u Osijeku. Parafinirane iglice rezane su mikrotomom u poprečnom prerezu veličine od 12 do 15 μm . Potom je proveden postupak deparafiniranja, koji se sastojao u uranjanju preparata u čisti ksilol u trajanju 5 do 6 minuta, a zatim nakratko u smjesu od $\frac{1}{2}$ ksilola i $\frac{1}{2}$ pola apsolutnog

etanola. Tada je preparat nakratko uranjan u 100 %-tni etanol, 96 %-tni, 70 %-tni etanol i 50 %-tni etanol. Na kraju se preparat ispirao vodom. Nakon provedenog postupka deparafiniranja slijedio je postupak bojanja (Soikkeli, 1978). Svjetlosnim mikroskopom analizirana je pojava tanina, oblici i njihov smjer širenja te struktura stanica u iglica jele.

Određivanje vrste i količina mikroelemenata u iglicama i pčelinjem medu

Determination of type and quantification of microelements in the needles and bee's honey

Analiza mikroelemenata u iglicama obuhvatila je određivanje koncentracije 10 elemenata (Ca, Fe, Rb, Sr, Cu, Zn, Pb, Ni, Mn i Cr) primjenom fluorescencije X-zraka koja koristi energijsku disperziju, Energy Dis-

persive X-Ray Fluorescence, EDXRF (Oreščanin i sur., 2004 a, b). Na istim uzorcima u nastavku određen je i sadržaj radionuklida ^7Be ^{137}Cs i ^{40}K metodom gama spektrometrije (Barišić i sur., 1994).

Priprema uzoraka iglica – Preparation of samples needles

Uzorci iglica osušeni su na 80 °C do konstantne težine, prosijani kroz sito od 0,5 mm i samljeveni u prah. Oko 2 g uzorka sprešano je u disk promjera 2 cm (debela meta). Tako priređene mete analizirane su me-

todom fluorescencije rendgenskih zraka koja koristi energijsku disperziju (Energy Dispersive X-ray Fluorescence, EDXRF). Detaljan opis metode nalazi se u Oreščanin, 2001 i Oreščanin, 2003.

Priprema uzoraka meda – Preparation of samples honey

Za rastvaranje organske materije masa od 1 g svakog uzorka tretirana je smjesom koncentrirane

$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ (w = 30 %) + koncentrirana HClO_4 . Otopina je potom isprana i opet tretirana smjesom

Tablica 1. Certificirane i mjerene vrijednosti elemenata u standardnom referentnom materijalu IAEA-ORCHARD LEAVES na osnovi 10 uzastopnih mjerenja istog uzorka standardnog referentnog materijala, najniža vrijednost za svaki element koju je moguće pouzdano detektirati (MDL) i postotak standardne devijacije mjerenja.

Table 1. Certificated and measured values of elements in the standard referent material IAEA-ORCHARD LEAVES on the base ten continuous measuring of the same sample (standard referent material), the lowest level for each element that is possible to detect (MDL) and percent of standard deviation of measurement.

Element	Certificirano <i>Certificated</i>	Mjereno <i>Measured</i>	MDL N=10	% SD N=10
K (%)	1,47	1,45	0,24	1,1
Ca (%)	2,09	2,07	0,24	0,5
Cr (ppm)	2,3	2,3	1,22	14,7
Mn (ppm)	91	90	4,24	4,8
Fe (ppm)	300	297	3,46	0,9
Cu (ppm)	12	11,9	1,22	2,9
Zn (ppm)	25	24,8	1,55	2,2
Rb (ppm)	12	11,9	0,77	1,2
Sr (ppm)	37	36,6	0,77	0,5
Pb (ppm)	40	39,6	1,10	0,7

$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ (w = 30 %) + koncentrirana HClO_4 . Postupak je ponavlján do pojave bijelog sedimenta.

Nastali sediment otopljen je u malom volumenu 1M HNO_3 i razrijeđen sa 100 ml redestilirane vode do pH 3. Nakon toga uzorci su filtrirani kroz filtar papir (veličina pore 0,45 μm) i pripremljeni u mete koje su

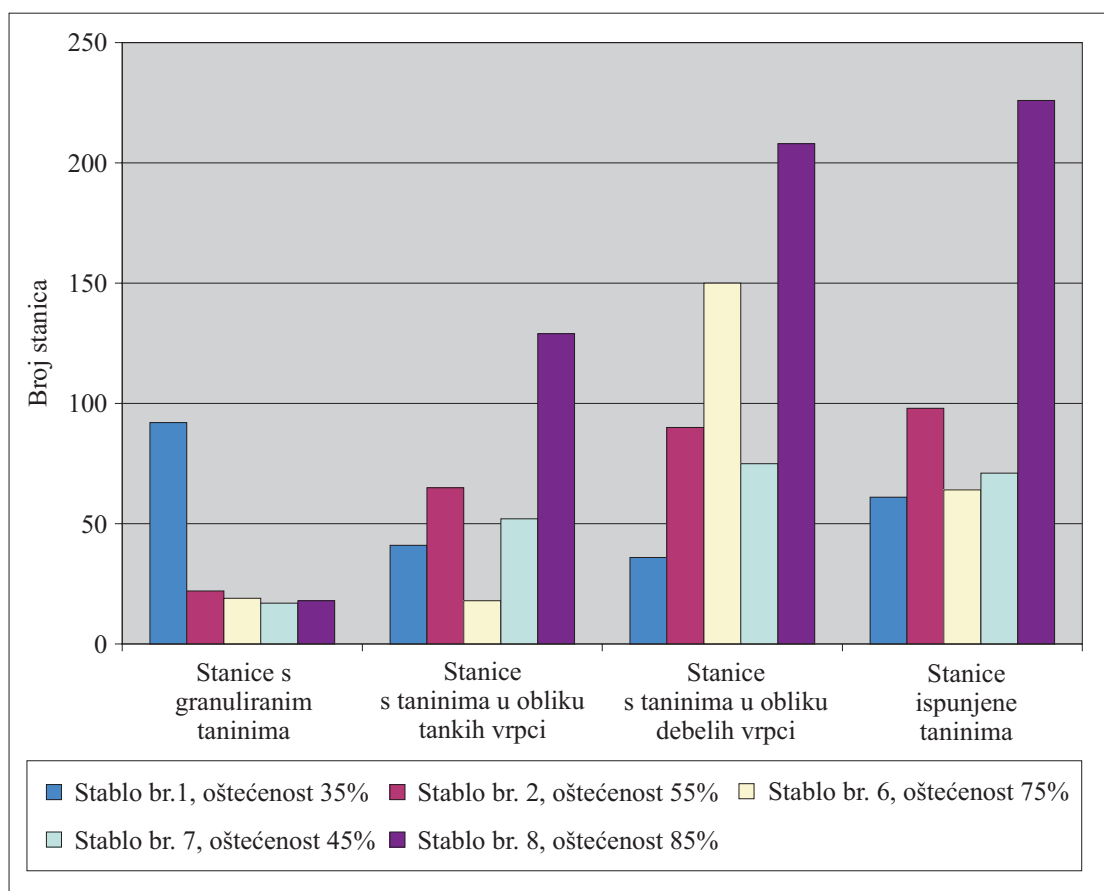
također analizirane metodom fluorescencije rendgenskih zraka koja koristi energijsku disperziju (Energy Dispersive X-ray Fluorescence, EDXRF).

Dobiveni rezultati obrađeni su statistički primjenom programskog paketa *STATISTICA 6.0* (Statsoft Inc., 1995).

REZULTATI – Results

Provedena mikroskopska analiza stanica jednogodišnjih iglica jele u odnosu na postotak oštećenosti krošnje pokazala je da oblici tanina, kao i njihov smjer širenja u stanicama, varira u širokom rasponu ovisno o lo-

kaciji (Risnjak i Donja Dobra). Najveće razlike između lokacija s obzirom na pojavu tanina bile su u mjesecu svibnju. Unutar pojedine lokacije, godina i razdoblja sakupljanja uzoraka vrijednosti nisu bile toliko različite.

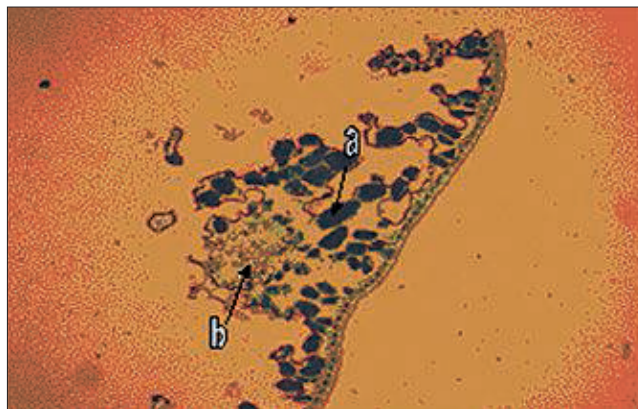


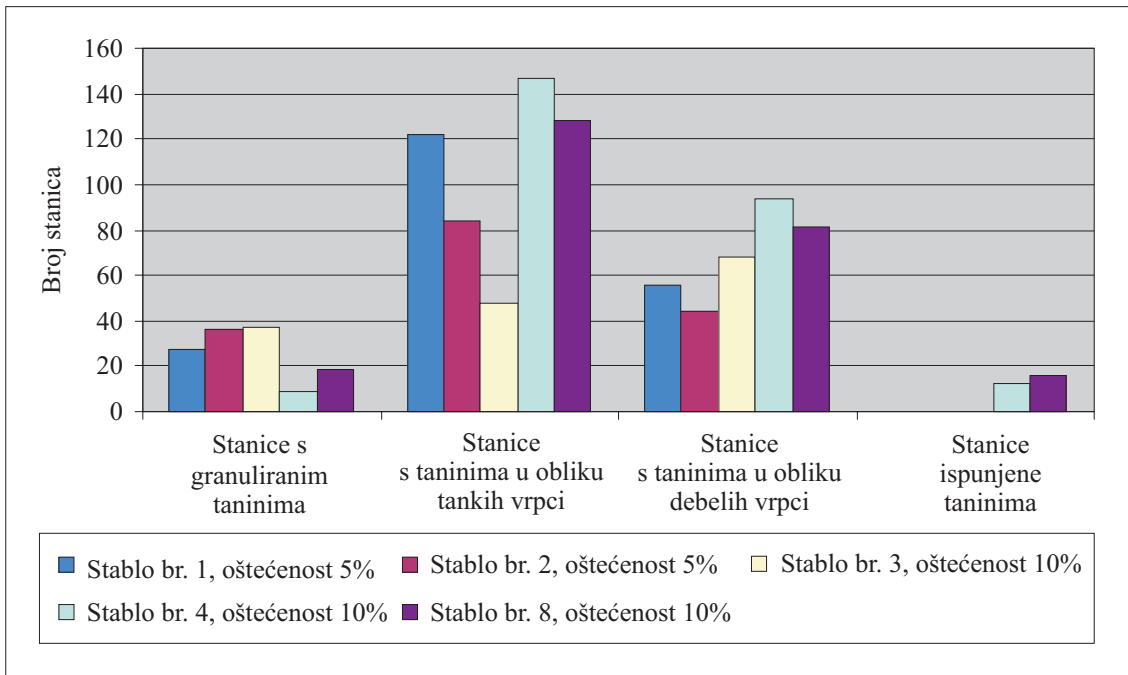
Slika 1. Oblici tanina u stanicama u odnosu na oštećenost stabala u svibnju 2000. (Risnjak)

Figure 1 Shape of tannins in cells in the relation on the decline trees in May 2000 (Risnjak)

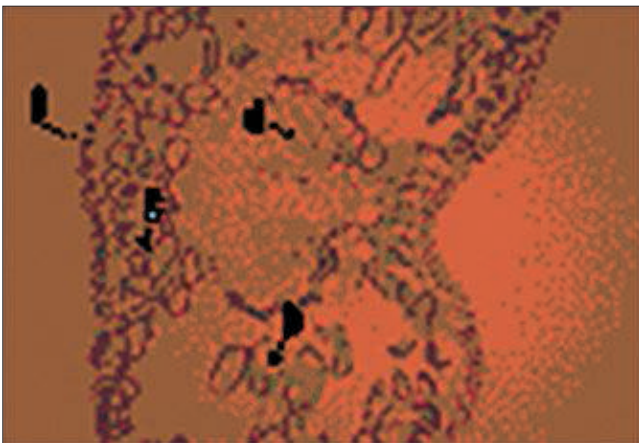
Slika 2. Stanice iglica na Risnjaku u svibnju mjesecu 2000. godine (a – stanica ispunjena taninima i b stanica s granuliranim taninima, 20x/0,50).

Figure 2 Cells in the needles on Risnjak in May 2000 (a – cell with tannins and b - cell with granulated tannins 20x/0,50)



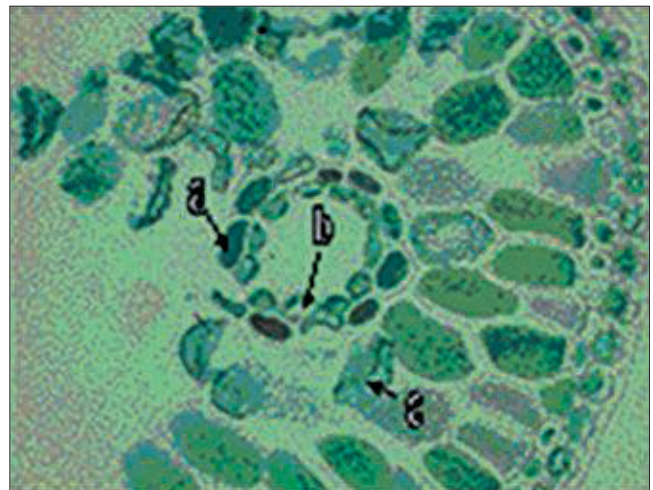


Slika 3. Oblici tanina u stanicama u odnosu na oštećenost stabala u svibnju 2000. (Donja Dobra)
 Figure 3 Shape of tannins in the cells in the relation on the decline trees in May 2000 (Donja Dobra)



Slika 4. Stanice iglica na Donjoj Dobri u svibnju mjesecu 2000. godine (a – stanica ispunjena taninima i b – stanica s granuliranim taninima, 20x/0,50).

Figure 4 Cells in the needles on Donja Dobra in May 2000 (a – cell with tannins and b – cell with granulated tannins, 20x/0,50)



Slika 5. Oblici tanina u stanicama iglica na Risnjaku u srpnju mjesecu 2000. godine (izgled stanica smolnice, a – ispunjene taninima, b – u oblicima tanke vrpce i c – debele vrpce), 20x/0,50.

Figure 5 Shape of tannins in the cells of needles on Risnjak in July 2000 (appearance of cells of rosin, a – with tannins, b – in the shape of thin ribbon and c – in the shape of thick ribbon), 20x/0,50

Rezultati statističke analize tanina u iglicama na lokaciji Risnjak i Donja Dobra

Results of statistical analysis of tannins in the needles on the locations Risnjak and Donja Dobra

Rezultati provedene statističke analize temeljnih statističkih parametara (aritmetička sredina X i standardna devijacija SD) primijenjene na uzorcima iglica s lokacije Risnjak, kao eksperimentalnog staništa i Do-

nje Dobre kao kontrolnog, s obzirom na pojavu tanina u različitim tkivima prikazani su u tablici 2.

Aritmetička sredina i standardna devijacija u epidermi na lokaciji Risnjak iznosile su: X=107,3; SD=33,0,

za hipodermu $X = 80,7$; $SD = 32,0$, za klorenhim $X = 79,5$; $SD = 37,1$, za smolenice $X = 16,2$; $SD = 5,2$, za endodermu $X = 25,2$; $SD = 16,0$, za transfuzijski parenhim $X = 59,6$; $SD = 21,6$, za ksilem središnje žile $X = 5,8$; $SD = 3,2$ i za floem $X = 5,1$; $SD = 2,4$. Na razini postotka oštećenosti aritmetička sredina i standardna devijacija iznose $X = 59,0$ i $SD = 18,9$.

Rezultati provedene statističke analize primijenjene na uzorcima iglica s lokacije Donja Dobra, s obzirom na pojavu tanina u različitim tkivima prikazani u tablici 2 iznosili su: za epidermu $X = 56,0$; $SD = 18,6$, za hipodermu $X = 39,4$; $SD = 20,7$, za klorenhim $X = 40,5$; $SD = 21,1$, za smolenice $X = 9,9$; $SD = 5,5$, za endodermu $X = 13,8$; $SD = 5,8$, za transfuzijski parenhim $X = 45,9$; $SD = 16,8$, za ksilem žile $X = 4,1$; $SD = 2,4$ i za floem $X = 4,2$; $SD = 2,9$. Na razini postotka oštećenosti aritmetička sredina i standardna devijacija su: $X = 8,1$ i $SD = 2,5$.

Analiza varijance (Dillon i Goldstein, 1984; Petz, 1985) pokazala je statističku razliku u aritmetičkim sredinama između definiranih grupa (lokacija uzorkovanja), kako je to prikazano u tablici 3. Između 9 analiziranih varijabli najbolju diskriminaciju uvjetuju ($p=0$) tri varijable i to: epidermske stanice, stanice hipoderme i stupanj oštećenja.

Tablica 2. Osnovni statistički parametri za tanine u 8 vrsta tkiva i stupnja oštećenja stabla na lokacijama uzorkovanja; \bar{X} – aritmetička sredina; SD – standardna devijacija.

Table 2. The basic statistical parameters for tannins in the eight type of tissues and decline stage of trees on the location of collecting samples; \bar{X} – arithmetical medium; SD – standard deviation

Vrste tkiva <i>Type of tissues</i>	Parametri <i>Parameters</i>	Risnjak	Donja Dobra
Epiderma	\bar{X}	107,3	56,0
	SD	33,0	18,6
	Minimum	50,0	0,0
	Maksimum	191,0	90,0
Hipoderma	\bar{X}	80,7	39,4
	SD	32,2	20,7
	Minimum	32,0	13,0
	Maksimum	148,0	82,0
Klorenhim	\bar{X}	79,5	40,5
	SD	37,1	21,1
	Minimum	16,0	0,0
	Maksimum	200,0	95,0
Smolenice	\bar{X}	16,2	9,9
	SD	5,2	5,5
	Minimum	7,0	0,0
	Maksimum	25,0	21,0
Endoderma	\bar{X}	25,5	13,8
	SD	16,0	5,8
	Minimum	5,0	0,0
	Maximum	74,0	26,0
Transfuzijski parenhim	\bar{X}	59,6	45,9
	SD	21,6	16,8
	Minimum	27,0	0,0
	Maksimum	114,0	86,0
Ksilem	\bar{X}	5,8	4,1
	SD	3,2	2,4
	Minimum	1,0	0,0
	Maximum	14,0	11,0
Floem	\bar{X}	5,1	4,2
	SD	2,4	2,9
	Minimum	2,0	0,0
	Maksimum	12,0	9,0
Oštećenost stabla (%)	\bar{X}	59,0	8,1
	SD	18,9	2,5
	Minimum	35,0	5,0
	Maximum	85,0	10,0

Tablica 3. Analiza varijance između dviju lokacija F – odnos varijabilnosti između grupa i varijabilnosti unutar grupa; p – razina značajnosti

Table 3. Analysis of variance between two location F – relation variability between groups and variability into groups; p – level of significant

Vrste tkiva – <i>Type of tissues</i>	SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
Epiderma	40748,75	1	40748,75	42250,30	60	704,1717	57,86763	0,000000
Hipoderma	26406,95	1	26406,95	43336,09	60	722,2681	36,56115	0,000000
Klorenhim	23103,81	1	23103,81	53244,09	59	902,4422	25,60142	0,000004
Smolenice	604,49	1	604,49	1683,51	59	28,5341	21,18487	0,000023
Endoderma	2114,31	1	2114,31	8480,94	60	141,3489	14,95807	0,000273
Transfuzijski parenhim	2902,633	1	2902,633	22210,87	60	370,1811	7,841117	0,006861
Ksilem	43,35	1	43,35	461,63	58	7,9592	5,44653	0,023094
Floem	12,30	1	12,30	392,81	56	7,0144	1,75301	0,190878
Oštećenost stabla (%)	40076,37	1	40076,37	10507,50	60	175,1250	228,8444	0,000000

Mikroelementi u iglicama jele na lokaciji Risnjak i Donja Dobra*Microelements in the needles fir-tree on the locations Risnjak and Donja Dobra*

U iglicama uzorkovanim na onečišćenom staništu s lokacije Risnjak (E-eksperimentalno onečišćeno stanište) i Donje Dobre (K-kontrolno "čisto" stanište) određena je koncentracija 10 elemenata (Ca, Fe, Rb,

Sr, Cu, Zn, Pb, Ni, Mn i Cr) primjenom fluorescencije X-zraka koja koristi energijsku disperziju. Rezultati analize prikazani su u tablici 4.

Tablica 4. Koncentracije elemenata u iglicama jele, datum i godina uzorkovanja, oznaka stabla i tip uzorka. K i Ca u %, ostali elementi u ppm. Donja Dobra kao K – kontrolno stanište; Risnjak kao E – eksperimentalno stanište
Table 4 Concentration of elements in the needles fir-tree, data of collecting samples, label of tree and type of samples. K and Ca in percentage, other elements in ppm

Zn	Cu	Ni	Fe	Mn	Cr	Ca	K	Sr	Rb	Pb	datum, god. data	br. st. no. tree	tip st. type of site	% ošt. decline
21,3	4,0	1,6	62,0	560,0	1,1	0,36	0,5	3,2	7,2	5,2	9-9-K-01	2	K	5,0
6,7	2,9	1,0	36,3	172,0	0,6	0,34	0,1	1,5	3,7	4,2	9-9-K-01	3	K	10,0
16,6	4,3	1,0	58,0	320,0	1,3	0,54	0,3	2,4	14,7	5,0	9-9-K-01	4	K	10,0
24,1	4,2	1,3	66,0	620,0	1,2	0,46	0,5	4,8	10,4	9,5	9-9-K-01	5	K	10,0
20,2	4,1	0,9	62,0	860,0	0,9	0,35	0,5	3,0	6,7	6,2	9-9-K-01	8	K	10,0
15,6	3,3	1,0	36,0	50,0	0,7	0,34	0,3	1,0	3,7	4,8	9-9-E-01	1	E	35,0
10,8	3,3	0,5	44,0	26,0	0,9	0,26	0,3	0,3	4,1	4,3	9-9-E-01	2	E	55,0
7,8	2,7	1,3	33,0	6,0	1,2	0,21	0,2	0,4	2,8	3,1	9-9-E-01	6	E	75,0
20,9	3,6	0,5	39,0	72,0	1,0	0,46	0,3	1,0	7,2	4,6	9-9-E-01	7	E	45,0
11,1	3,3	0,7	33,0	29,0	1,0	0,31	0,3	0,7	3,3	4,2	9-9-E-01	8	E	85,0
25,0	6,5	1,5	81,0	34,0	2,6	0,19	0,9	0,6	7,0	2,7	18-5-E-01	1	E	35,0
19,7	6,6	0,7	57,0	42,0	2,0	0,19	0,8	0,6	5,9	3,2	18-5-E-01	2	E	55,0
9,9	3,6	0,5	27,0	16,0	0,9	0,16	0,6	0,3	6,2	1,6	18-5-E-01	6	E	75,0
25,7	5,4	0,6	68,0	62,0	1,1	0,33	1,1	0,4	20,8	3,1	18-5-E-01	7	E	45,0
11,7	3,7	0,4	35,0	8,4	1,1	0,24	0,6	0,3	3,5	1,5	18-5-E-01	8	E	85,0
14,8	4,3	0,8	55,0	520,0	1,2	0,43	0,7	0,9	8,5	1,8	13-7-K-00	1	K	5,0
26,1	6,0	1,2	70,0	640,0	1,9	0,63	0,6	2,5	11,1	2,4	13-7-K-00	2	K	5,0
20,5	4,2	0,9	59,4	422,4	1,3	0,40	0,7	1,4	14,7	2,6	13-7-K-00	3	K	10,0
20,3	6,6	0,6	87,0	450,0	1,8	0,44	1,2	1,6	18,6	3,9	13-7-K-00	4	K	10,0
18,0	6,4	2,4	48,0	684,0	2,8	0,52	0,4	2,3	6,4	2,8	13-7-K-00	8	K	10,0
12,0	3,2	1,1	42,0	450,0	1,5	0,40	0,4	1,5	5,2	2,9	13-9-K-00	1	K	5,0
14,7	5,7	1,8	72,0	540,0	3,0	0,43	1,0	1,2	11,1	5,4	13-9-K-00	2	K	5,0
13,8	3,3	1,2	69,0	432,0	2,1	0,40	0,8	1,3	6,0	3,3	13-9-K-00	3	K	10,0
15,2	4,4	1,6	64,0	352,0	2,4	0,30	0,6	1,2	9,2	4,8	13-9-K-00	4	K	10,0
21,1	4,6	1,4	59,4	864,0	2,2	0,70	0,4	2,7	5,9	3,2	13-9-K-00	8	K	10,0
5,6	2,2	0,5	27,0	15,0	1,4	0,09	0,4	0,3	1,7	4,7	13-9-E-00	1	E	35,0
8,6	2,2	0,8	46,0	24,0	2,1	0,29	0,4	0,5	2,8	3,2	13-9-E-00	6	E	75,0
10,6	2,2	0,7	32,0	47,0	1,4	0,32	0,2	0,4	4,6	1,5	13-9-E-00	7	E	45,0
6,8	2,9	1,8	46,8	56,0	1,3	0,37	0,3	0,8	1,4	2,9	13-7-E-00	1	E	35,0
16,2	4,0	1,6	53,0	86,0	1,8	0,41	0,6	0,5	8,7	2,1	13-7-E-00	7	E	45,0
7,6	2,8	0,4	22,0	18,0	1,0	0,25	0,3	0,4	2,9	1,2	13-7-E-00	8	E	85,0

SD-standardna devijacija bila 189,6 ppm. Kod eksperimentalnog uzorka vrijednosti su bile znatno niže, dok se za ostale elemente razlike osnovnih statističkih parametara nisu značajno razlikovale (tablica 5).

Razlika u srednjim vrijednostima između ove dvije grupe uzoraka testirana je T – testom. Na razini signifikantnosti od 0,05 (5 %) ustanovljena je razlika za elemente Zn, Fe, Mn, Ca, Sr, Rb, kao i za stupanj oštećenja. Ustanovljena je jaka pozitivna korelacija ($r = 0,63-0,81$) za elemente Mn, Sr, i Ca i jaka negativ-

na korelacija ovih elemenata sa stupnjem oštećenja. Svi ostali elementi pokazuju negativnu korelaciju sa stupnjem oštećenja (tablica 6).

Kanoničkom korelacijskom analizom (tablica 7) nađena je statistički značajna (χ^2) ($\chi^2(11) = 33,397$ $p = 0,00046$) odlična negativna korelacija (Canonical R: 0,87096) između stupnja oštećenja i koncentracije elemenata. Korelaciji najviše doprinose elementi Mn, Sr, Fe i Ca. Kanonički R: 0,87096; $\chi^2(11) = 33,397$ $p=0,00046$

Tablica 5. Osnovni statistički parametri za izabrane elemente izmjerene u iglicama jele u ovisnosti o tipu uzorka. \bar{X} – srednja vrijednost; SD – standardna devijacija

Table 5 Basic statistical parameters for chosen elements that were measured in fir-tree needles depending on type of samples. \bar{X} – arithmetic mean; SD – standard deviation.

Element	Parametar Parameter	Kontrola Control	Ekperiment Experiment
Zn (ppm)	\bar{X}	17,7	13,4
	SD	5,0	6,4
	Minimum	6,7	5,6
	Maksimum	26,1	25,7
Cu (ppm)	\bar{X}	4,5	3,6
	SD	1,1	1,4
	Minimum	2,9	2,2
	Maksimum	6,6	6,6
Fe (ppm)	\bar{X}	60,7	42,5
	SD	12,4	15,9
	Minimum	36,3	22,0
	Maksimum	87,0	81,0
Mn (ppm)	\bar{X}	525,8	37,0
	SD	189,6	23,6
	Minimum	172,0	6,0
	Maksimum	864,0	86,0
Cr (ppm)	\bar{X}	1,7	1,3
	SD	0,7	0,5
	Minimum	0,6	0,7
	Maksimum	3,0	2,6
Ca (%)	\bar{X}	0,45	0,28
	SD	0,11	0,10

Ca (%)	Minimum	0,30	0,09
	Maksimum	0,70	0,46
K (%)	\bar{X}	0,6	0,5
	SD	0,3	0,3
	Minimum	0,1	0,2
	Maksimum	1,2	1,1
Sr (ppm)	\bar{X}	2,1	0,5
	SD	1,0	0,2
	Minimum	0,9	0,3
	Maksimum	4,8	1,0
Rb (ppm)	\bar{X}	9,3	5,4
	SD	4,2	4,6
	Minimum	3,7	1,4
	Maksimum	18,6	20,8
Pb (ppm)	\bar{X}	4,2	3,0
	SD	1,9	1,2
	Minimum	1,8	1,2
	Maksimum	9,5	4,8
Oštećenost stabla (%)	\bar{X}	8,3	56,9
	SD	2,4	19,7
	Minimum	5,0	35,0
	Maksimum	10,0	85,0

Tablica 6. T - test na temelju grupiranja prema tipu uzoraka

Table 6 T - test on the base of group of samples type

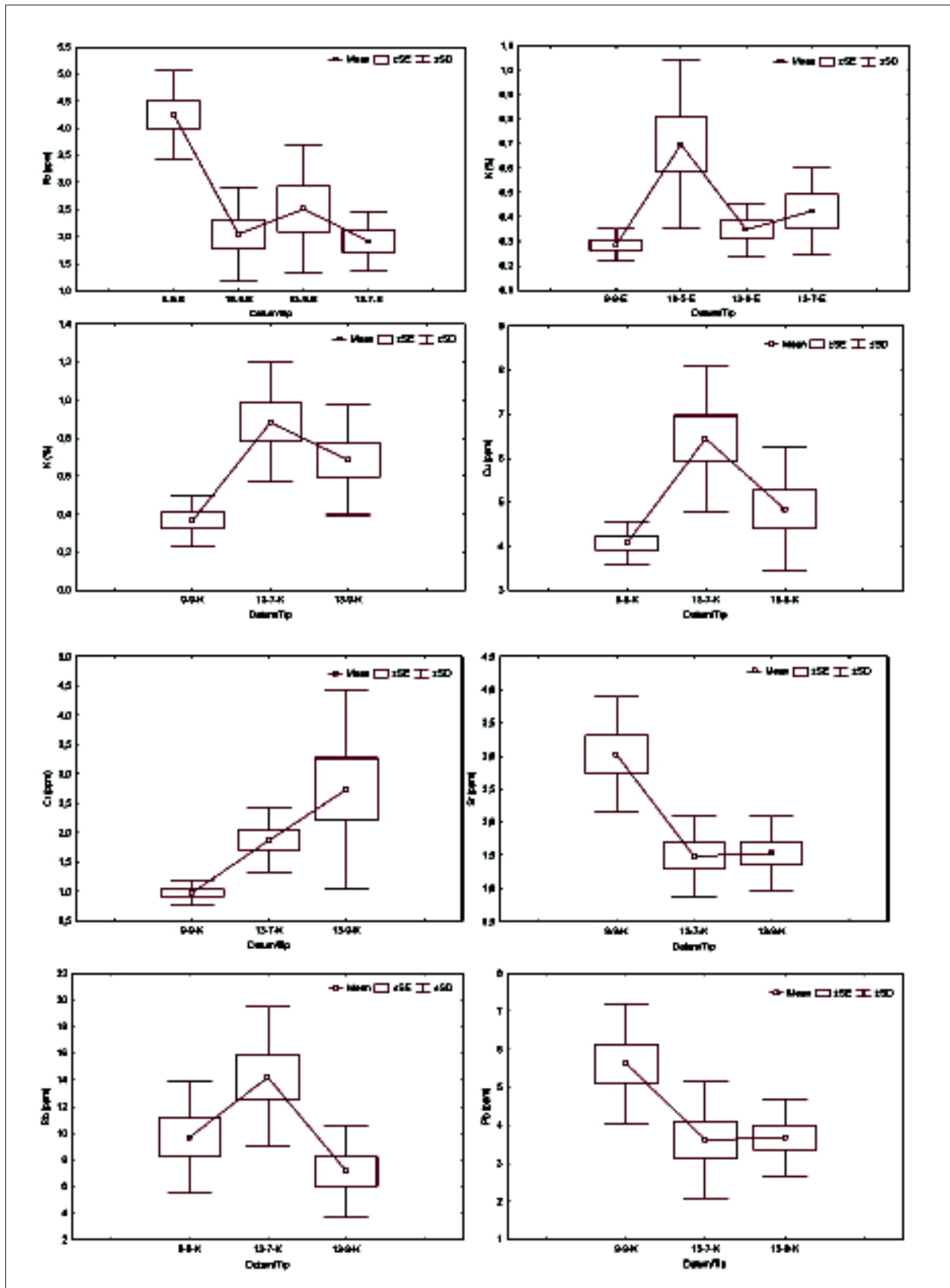
	\bar{X} Kont.	\bar{X} Exp.	t-value	df	p	Valid N Kont.	Valid N Exp.	SD Kont.	SD Exp.	F-ratio	p
Zn	17,6933	13,35000	2,08696	29	0,045791	15	16	5,0039	6,43894	1,65580	0,352589
Cu	4,5467	3,64375	1,97476	29	0,057884	15	16	1,1357	1,38755	1,49269	0,459914
Fe	60,6733	42,48750	3,53119	29	0,001404	15	16	12,4402	15,89180	1,63190	0,366561
Mn	525,7600	36,96250	10,24105	29	0,000000	15	16	189,5732	23,57108	64,68372	0,000000
Cr	1,6867	1,34375	1,54806	29	0,132454	15	16	0,7029	0,52277	1,80794	0,267201
Ca	0,4467	0,27606	4,60445	29	0,000076	15	16	0,1098	0,09647	1,29587	0,623497
K	0,5688	0,47375	0,97578	29	0,337244	15	16	0,2668	0,27495	1,06223	0,914969
Sr	2,1047	0,52063	5,93283	29	0,000002	15	16	1,0401	0,23946	18,86627	0,000001
Rb	9,2907	5,41063	2,45419	29	0,020362	15	16	4,1730	4,59989	1,21504	0,720707
Pb	4,2100	3,04250	2,01802	29	0,052924	15	16	1,9391	1,22489	2,50610	0,088276
Oštećenost stabla (%)	8,3333	56,87500	-9,44752	29	0,000000	15	16	2,4398	19,73787	65,45000	0,000000

Tablica 7. Rezultati kanoničke korelacijske analize

Table 7 Result of canonical correlation analysis

	Correlations, left set with right set	Factor Structure, left set
Zn	-0,46	0,53
Cu	-0,39	0,44
Fe	-0,63	0,72
Mn	-0,79	0,91

Cr	-0,31	0,36
Ca	-0,62	0,71
K	-0,22	0,26
Sr	-0,67	0,77
Rb	-0,44	0,50
Pb	-0,39	0,45



Slika 6. Srednje vrijednosti, standardne pogreške i standardne devijacije za statistički značajne elemente na eksperimentalnom staništu u ovisnosti o datumu uzorkovanja

Figure 6 Arithmetic mean, standard failure and standard deviation for statistical significant elements on the experimental site depending on the date of samples collecting

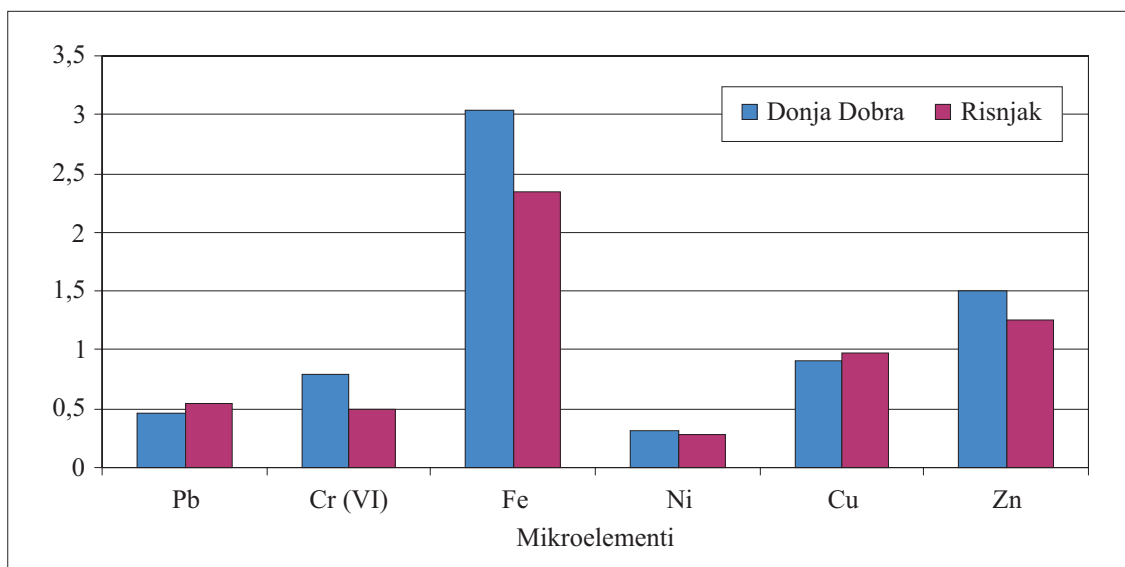
Mikroelementi u medljikovcu – *Microelements in honeydew honey*

Rezultati provedene analize mikroelemenata u medljikovcu, prikupljenom iz košnica s područja Risnjaka i Donje Dobre, nisu pokazali značajnu razliku u količinama analiziranih mikroelemenata. Na lokaciji Risnjak utvrđena je samo nešto veća količina olova (Pb) koji je iznosio 0,54 ppm i bakra (Cu) koji je iznosio 0,98 ppm. Na lokaciji Donja Dobra utvrđena je veća količina svih ostalih mjenjenih mikroelemenata, a najveće povećanje je utvrđeno za željezo (Fe) u iznosu od 3,03 ppm (tablica 8, slika 7).

Tablica 8. Mikroelementi u medljikovcu s lokacije Donja Dobra i Risnjak

Table 8 *Microelements in honeydew honey on location Donja Dobra and Risnjak*

Mikroelementi (ppm) <i>Microelements (ppm)</i>	Donja Dobra	Risnjak
Pb	0,47	0,54
Cr (VI)	0,79	0,50
Fe	3,03	2,35
Ni	0,32	0,28
Cu	0,90	0,98
Zn	1,50	1,26



Slika 7. Mikroelementi u medljikovcu s lokacije Donja Dobra i Risnjak

Figure 7 *Microelements in honeydew honey on location Donja Dobra and Risnjak*

Aktivnosti ^7Be , ^{137}Cs i ^{40}K (Bq/kg suhe težine) u različitim dijelovima jele na lokacijama Donja Dobra i Risnjak

Activity ^7Be , ^{137}Cs and ^{40}K (Bq/kg dry weight) in different parts of fir-tree on location Donja Dobra and Risnjak

Rezultati mjerenja aktivnosti ^7Be , ^{137}Cs i ^{40}K (Bq/kg suhe težine) u različitim dijelovima jela (kompoziti sa 10 stabala, grane do cca 6m visine) iz Donje Dobre za iglice i priraste grančica iz 2003. 2004. i 2005. godine pokazuju trend porasta aktivnosti ^{40}K i

^{137}Cs u kori s drvenastim dijelovima i u iglicama u mladim segmentima. Za razliku od ovih radionuklida, aktivnosti ^7Be najveće su u godini ili dvije godine starim segmentima grančica i iglica (tablica 9).

Tablica 9. Aktivnosti ^7Be , ^{137}Cs i ^{40}K (Bq/kg suhe težine) u grančicama (kora sa drvenastim dijelom) i iglicama jela (zdrava stabla) uzorkovanih na lokaciji Donja Dobra 06. 07. 2005.

Table 9 *Activity ^7Be , ^{137}Cs and ^{40}K (Bq/kg dry weight) in twigs (crust with wooden part) and needles of fir-tree (health trees) collected on Donja Dobra 06. 07. 2005.*

God. <i>Year</i>	Kora sa drvenastim dijelom <i>Crust with wooden part</i>			Igllice <i>Needles</i>		
	^{40}K	^{137}Cs	^7Be	^{40}K	^{137}Cs	^7Be
2003.	277.6 ± 12.1	6.3 ± 0.6	265.7 ± 10.4	167.2 ± 8.4	6.9 ± 0.5	22.6 ± 3.1
2004.	332.6 ± 15.5	9.7 ± 0.8	223.6 ± 9.9	202.7 ± 9.6	10.4 ± 0.6	27.6 ± 3.8
2005.	606.4 ± 27.5	29.2 ± 1.8	94.0 ± 10.0	343.7 ± 11.2	22.6 ± 0.7	11.7 ± 2.9

Rezultati mjerenja aktivnosti ^7Be , ^{137}Cs i ^{40}K (Bq/kg suhe težine) u različitim dijelovima jela (kompoziti sa 10 stabala, grane do oko 6 m visine) s neoštećenih krošnja stabala na lokaciji Risnjak, za priraste iglica i grančica iz 2003. 2004. i 2005. godine pokazuje istovjetan trend porasta aktivnosti u najmlađim segmentima (2004. i 2005. godine). Trend porasta aktivnosti u

kori s drvenastim dijelovima i u iglicama manje je izražen u slučaju kalija u odnosu na cezij. Aktivnosti ^7Be u zdravim stablima s Risnjaka su dva do tri puta veće u odnosu na također zdrava stabla iz Donje Dobre, pri čemu je trend pada aktivnosti u vršnom dijelu grančica istovjetan na obje lokacije, kako u slučaju iglica, tako i slučaju drvenastog dijela grančica s korom (tablica 10).

Tablica 10. Aktivnosti ^7Be , ^{137}Cs i ^{40}K (Bq/kg suhe težine) u grančicama (kora sa drvenastim dijelom) i iglicama jela (zdrava satabla) uzorkovanih na Risnjaku 6. 7. 2005.

Table 10 Activity ^7Be , ^{137}Cs and ^{40}K (Bq/kg dry weight) in twigs (crust with wooden part) and needles of fir-tree (health trees) collected on Risnjak 06. 07. 2005.

God. Year	Kora sa drvenastim dijelom Crust with wooden part			Igllice Needles		
	^{40}K	^{137}Cs	^7Be	^{40}K	^{137}Cs	^7Be
2003.	201.5 ± 10.3	5.5 ± 0.5	663.2 ± 12.0	136.9 ± 7.2	4.2 ± 0.4	73.7 ± 3.9
2004.	247.6 ± 10.5	6.5 ± 0.6	830.8 ± 13.6	144.9 ± 7.3	5.3 ± 0.4	78.0 ± 3.9
2005.	410.6 ± 17.0	25.0 ± 1.2	372.4 ± 11.8	262.6 ± 10.0	20.3 ± 0.8	38.4 ± 3.3

RASPRAVA – Discussion

Provedena mikroskopska analiza stanica jednogodišnjih iglica jele u različitim sezonama (svibnju, srpnju i rujnu 2000. i 2001. godine) na lokaciji Risnjak i na lokaciji Donja Dobra pokazala je postojanje značajne razlike u strukturi tanina i njihovom smjeru širenja. Najveće razlike uočene su u svibnju mjesecu za obje godine uzorkovanja..

Analizom poprečnih prereza iglica jele s lokacije Risnjak u svibnju mjesecu 2000. godine, ukupno je utvrđeno 1537 stanica s taninima. Kod iglica stabla koja su imala oštećenost krošnje od 35 %, utvrđen je najveći broj stanica s granuliranim taninima, ukupno 92, najviše u transfuzijskom parenhimu 49, a potom u središnjoj žili (ksilemu i floemu). Najveći broj stanica u potpunosti ispunjenih taninima bio je u klorenhimu 21. Kod uzoraka s većom oštećenosti krošnje smanjivao se broj stanica s granuliranim taninima, a povećavao se broj stanica s taninima u obliku tanke i debele vrpce. Najveći broj stanica u potpunosti ispunjenih taninima utvrđen je kod uzorka s oštećenosti krošnje od 85 %, ukupno 226 stanica, od čega najviše u epidermi 79. U ostalim tkivima broj takvih stanica se smanjivao, ali je i dalje bio značajno veći u odnosu na manji stupanj oštećenosti krošnja. Kod iglica iz krošnje s najvećim stupnjem oštećenja (85 %) uočen je i velik broj raspadajućih stanica. U srpnju i rujnu 2000. godine struktura tanina nije se značajnije mijenjala. Granuliranih tanina u ukupnom broju stanica bilo je nešto manje, no i dalje ih je najviše utvrđeno kod uzorka s oštećenošću krošnje od 35 %, dok kod oštećenosti krošnje stabla od 85 % najviše je bilo epidermskih stanica u potpunosti ispunjeno taninima, potom hipodrmskih i klorenhimskih. S obzirom na stupanj oštećenosti najosjetljivijima su se pokazale stanice smolenica, koje su već kod oštećeno-

sti krošnje od 35 % imale preko 50 % stanica ispunjenih taninima. U srpnju i rujnu struktura tanina nije se značajnije mijenjala.

Mikroskopska analiza tanina u stanicama iglica jele s lokacije Risnjak ukazuje na pojavu trakaste strukture tanina u iglicama kod stabala srednje oštećenosti krošnja (35 do 55 %), a posebno kod stabala s velikom oštećenošću krošnje (85 %). Opažene promjene su u skladu s rezultatima koje su dobili K u k o l a i sur. (1997).

Pojava tanina već na početku vegetacijske sezone, u svibnju mjesecu, ukazuje da postoji pozitivna korelacija između onečišćenosti staništa i stupnja oštećenja iglica. Već u vrijeme kada iglice izlaze iz pupa mogu se primijetiti promjene u strukturi tanina. Najčešće su u epidermi, hipodermi, potom u endodermi, a tek na kraju promjene su vidljive u mezofilu (slika 1 i 2). Velik broj stanica smolenica bio je također ispunjen taninima (slika 5).

U iglicama s najvećim stupnjem oštećenja, od 85 %, opažene su stanice u stadiju raspadanja. Početak raspadanja stanica počinje s citoplazmom koja poprima izgled tanke tamne mase između tanina i stanične stjenke. Potom s porastom stupnja oštećenja tanini i citoplazma stvaraju mješovitu masu, a zatim mezofilne stanice kolapsiraju i potpuno nestaju (S o i k k e l i, 1980).

Iako je prisutnost tanina u biljnim stanicama široko poznato, njihova funkcija još uvijek nije potpuno istražena. Sinteza i akumulacija tanina opisuje se kao uobičajeni biokemijski simptom obrambenog mehanizma koji je povezan s biljnim bolestima (B e c k m a n i sur., 1972; F e e n y, 1970; K o u k i i M a n e t a s, 2002; M a i e i sur., 2003) i procesom nakon smrti stanice (D a v i e s, 1972). Pojava tanina također može biti uzro-

kovana promjenama u osmotskom potencijalu, kao rezultat zračnog onečišćenja (Behrens i sur., 2003).

Pojava velikog broja stanica potpuno ispunjenih taninima posebice u epidermi i hipodermi na početku vegetacijske sezone ukazuje na veliku osjetljivost mladih iglica na prisutnost zračnih onečišćivača. Različite čestice ulaze izravno kroz puči u stanice zapornice i mijenjaju strukturu tanina. Stanice epiderme gotovo su u potpunosti ispunjene s taninima, što može biti prva reakcija na zračne onečišćivače i pokretanje zaštitnog mehanizma biljke. U kasnijem vegetacijskom razdoblju ne primjećuju se tako velike razlike u oblicima tanina i njihovom smjeru širenja. Dosadašnja istraživanja ukazuju na stres koji je uzrokovan prisutnošću SO₂ u zraku (Fischer i sur., 1973; Soikkeli, 1978, 1981a i b).

Povećan broj stanica s taninima u svim tkivima, kao i razlike u njihovim oblicima u iglicama s lokacije Risnjak u odnosu na one s lokacije Donja Dobra, pretpostavljamo da je potaknut povećanom količinom SO₂ iz zraka i taloženjem kiselih otopina na površinu iglice, ali nisu isključeni i drugi razlozi (metali i nemetali u tlu). Ta opažanja su u skladu s opažanjima provedenim na iglicama iz područja s izrazitim sumpornim onečišćenjem (Bačić, 2005; Fischer i sur., 1973). Tako je na Risnjaku, prema Komlenoviću i Rastovskom (1992) povećana količina sumpora u tlu povezana s plastoglobulinima unutar kloroplasta u iglicama oštećenih stabala, a što potvrđuje povećano onečišćenje staništa na tom području. Utjecaj zračnih polutanata potvrđen je i na stanju epikutikularnog voska na pučima u jele (*Abies alba* Mill.) što je utvrđeno elektronskom mikroskopijom (Bačić i sur. 2005).

Na lokaciji Donja Dobra ukupno je bilo manje stanica ispunjenih taninima. Prisutnost tanina i kod "zdravih" iglica može biti pokazatelj promjena koje nastaju prije vidljivih oštećenja ili normalnih sezonskih promjena. Slična zapažanja promjena unutar staničnih struktura uočili su i mnogi drugi autori (Bačić i sur., 2004; Godzik i Knabe, 1973; Godzik i Sassen, 1974; Soikkeli, 1978; Soikkeli i Tuovinen, 1979; Soikkeli, 1980).

Oblici tanina i njihov smjer širenja u stanicama iglica s lokacije Donja Dobra bili su u skladu s već opisanim

sezonskim promjenama (Feeny, 1970; Soikkeli, 1978).

Statistička obrada dobivenih rezultata iz mikroskopske analize tanina na lokaciji Risnjak, kao eksperimentalne i lokaciji Donja Dobra kao kontrolne, potvrdila je postojanje značajne razlike između ta dva staništa (tablica 2).

Analiza varijance (Dillon i Goldstein, 1984; Petz, 1985) pokazala je da postoji statistički značajna razlika osnovnih statističkih paramera (aritmetičke sredine i standardne devijacije) između lokacija Risnjak i Donja Dobra (kao definiranih grupa). Između 9 analiziranih varijabli najbolju diskriminaciju uvjetuju ($p = 0$) tri varijable i to: epidermske stanice, stanice hipoderme i stupanj oštećenja (tablica 3). Najveća promjena varijabli (vrste tkiva) dogodila se na početku vegetacijske sezone (u svibnju), a nakon toga sve varijable zadržavaju približno jednake vrijednosti.

Analiza tanina pokazala je statistički značajnu razliku za većinu varijabli između dviju lokacija, a slično je utvrđeno i za mikroelemente. Unutar pojedine lokacije nije utvrđena signifikantna razlika na razini godišnjeg i periodičnog uzorkovanja. Na temelju toga možemo zaključiti da je na lokaciji Risnjak trajno prisutno taloženje kemijskih elemenata koji utječu na smanjenje korisnih biljnih nutrijenata. To sugeriraju i podaci o mjeranim količinama SO₂ u zraku i povećana kiselost tla (Komlenović i Rastovski, 1992).

Povećanom količinom tanina, ponajprije u epidermskim stanicama, biljka vjerojatno reagira na prisutnost zračnih polutanata. Između razdoblja uzorkovanja nema razlike na lokaciji Risnjak. Jedinственe promjene prouzročene na strukturama stanica u iglicama bora i smreke primijećene su na udaljenostima od 100 km od industrijskih onečišćenja, gdje su godišnje emisije SO₂ i Cu bile značajno povišene (Lamppu i Huttunen, 1990). Mnoga provedena istraživanja utjecaja zračnog onečišćenja koje dolazi iz različitih izvora, kao što su industrijska postrojenja urbanih sredina, potvrdila su prva vidljiva oštećenja stanica iglica i lišća šumskih vrsta drveća (Kukkola i sur., 1996; Bayçu i Önal, 1993; Bayçu, 1998; Bayçu i Önal, 1992).

Mikroelementi na lokaciji Risnjak i Donja Dobra *Microelements on the location Risnjak and Donja Dobra*

Rezultati određivanja koncentracije 10 elemenata (Ca, Fe, Rb, Sr, Cu, Zn, Pb, Ni, Mn i Cr), primjenom fluorescencije X-zraka koja koristi energijsku disperziju na onečišćenom staništu Risnjaku (E – eksperimentalno stanište) i Donje Dobre (K – kontrolno stanište) pokazuju značajnu razliku (tablica 4).

Dobivene vrijednosti mikroelemenata u iglicama utvrđene su na temelju certificiranih i mjerenih vrijed-

nosti koncentracije elementa u referentnom materijalu "Bold levs" prikazanih u tablici 1, zatim minimalne granice i ponovljivosti metode prikazane u postocima standardne devijacije od 10 uzastopnih mjerenja standardnog referentnog materijala (MDL – minimalni detekcijski minimum).

Osnovni statistički parametri za mjerene elemente pokazuju više vrijednosti u kontrolnim uzorcima (ta-

blica 5). Razlika u srednjim vrijednostima između dvije grupe uzoraka (Risnjak i Donja Dobra) testirana je T- testom i na razina signifikantnosti od 0,05 je ustanovljena za elementa: Zn, Fe, Mn, Ca, Sr, Rb, kao i za stupanj oštećenja.

Stupanj korelacije između zastupljenosti elemenata i postotka oštećenja testiran je kanoničkom korelacijskom analizom. Ustanovljena je jaka pozitivna korelacija ($r = 0,63-0,81$) za elemente Mn, Sr, Ca i jaka negativna korelacija ovih elemenata sa stupnjem oštećenja (tablica 6). Nađena je i jaka statistička signifikantnost ($\chi^2 = 33,397$; $p = 0,00046$, korelacija $R = 0,87$) za šest varijabli (elementi Zn, Fe, Mn, Ca, Sr, Rb). S obzirom na koeficijente korelacije (tablica 7) koncentracije elemenata i stupnja oštećenja, zaključujemo da je najveći doprinos korelaciji od elemenata Mn, Sr, Fe i Ca.

Taj porast kreće se od 1,2 puta u slučaju K, 1,3 puta za Zn, Cu i Cr, 1,4 puta za željezo i olovo 1,6 i 1,7 puta Ca, odnosno Rb, dok su najveći porasti nađeni za Sr 4,2 puta i Mn 14,2 puta. Nasuprot zastupljenosti elemenata, stupanj oštećenja bio je otprilike sedam puta manji u kontrolnim uzorcima u odnosu na eksperimentalne uzorke. To se može protumačiti velikom zastupljenošću mangana i stroncija.

Na lokaciji Donja Dobra, kao čistom staništu, koncentracija elemenata bila je veća u prošlogodišnjim iglicama. To podupire mišljenje mnogih istraživača da je lakša akumulacija elemenata u mlađim iglicama (Tuovinen, 1979; Tuovinen i sur., 1993; Raitio i sur., 1995). Iz provedene statističke analize vidljivo je da je na lokaciji Risnjak, (u godinama uzorkovanja kao razdobljima uzorkovanja), prisutan trajni nedostatak nutritivnih elemenata u iglicama, što doprinosi njihovu oštećenju. Proporcionalno sa stupnjem oštećenja smanjuje se koncentracija nutritivnih elemenata. Na lokaciji Risnjak s povećanjem oštećenosti krošnje najviše se smanjivala koncentracija Mn, Sr, Fe i Ca.

Mikroelementi u medljikovcu na lokacijama Risnjak i Donja Dobra *Microelements in honeydew honey on the location Risnjak and Donja Dobra*

Da bi se dobila što potpunija slika o razlozima sušenja jele, provedena je i analiza mikroelemenata u medljikovcu koji je sakupljen u košnicama na Risnjaku i Donjoj Dobri. Za razliku od analiziranih tanina i mikroelemenata u iglicama, rezultati nisu pokazali značajnu razliku u količinama analiziranih mikroelemenata (tablica 8, slika 7).

Međutim, ovi podaci nisu dovoljno pouzdani s obzirom na broj uzoraka meda i pojavu medenja kod jele. Pojava medenja ne događa se svake vegetacijske sezone i nije jednakog intenziteta, tako da bi istraživanja trebalo provoditi u višegodišnjem periodu medenja jele. Razlog zbog kojeg se u medu ne očituje povišena koncentracija mikroelemenata koji se nalaze u okolišu,

Dosadašnja istraživanja koncentracije elemenata C, O, N, Mg i drugih, u godišnjim i prošlogodišnjim iglicama jele (rendgenskom X-mikroanalizom EDAX u skening elektronskom mikroskopu) pokazala su da je akumulacija elemenata, posebno teških, u obje godine veća u onečišćenom staništu Risnjak (Bačić i sur., 2005). Ovogodišnje iglice imale su dvostruko više elemenata u odnosu na prošlogodišnje.

Istraživanja utjecaja zračnog onečišćenja na crnogorične vrste drveća, koje je provedeno na području sjeverne Europe, gdje je prisutno izrazito industrijsko onečišćenje, pokazala su da se različiti zračni polutanti talože na površini iglica i uzrokuju oštećenja u strukturama na površini i u samoj unutrašnjosti (Maie i sur., 2003). Plinoviti polutanti, kao što su SO_2 i O_3 , ulaze kroz puči i uzrokuju promjene najprije u u izvanstaničnoj tekućini, kasnije na membranama i potom na unutarstaničnoj strukturi. Deponiranje kiselina uzrokuje propadanje kutikule, što vodi pojačanom curenju staničnog sadržaja. Prevelika depozicija sumpora i teških metala uzrokuje abnormalnosti u statusu nutrijenata, što dovodi do folijarnih oštećenja (Adamowicz i sur., 1993; Kukkola i sur., 1995, 1996; Soikkeli i Tuovinen, 1979; Soikkeli, 1981a i b).

Analiza tanina pokazala je statistički značajnu razliku za većinu varijabli između dviju lokacija, a slično je utvrđeno i za mikroelemente. Unutar pojedine lokacije nije utvrđena signifikantna razlika na razini godišnjeg i periodičnog uzorkovanja. Na temelju toga možemo zaključiti da je na lokaciji Risnjak trajno prisutno taloženje kemijskih elemenata koji utječu na smanjenje korisnih biljnih nutrijenata. To sugeriraju i podaci o mjeranim količinama SO_2 u zraku i povećana kiselost tla (Komlenović i Rastovski, 1992).

može biti kratkoća pojave medenja ili pojave medne rose. Med se pokazao kao dobar pokazatelj opterećenosti biljaka radionuklidima nakon Černobila (Barišić i sur., 1992; Bunzl i sur., 1988). Stoga, možemo zaključiti da med daje sliku prosječnog stanja mikroelemenata u okolišu. U svakom slučaju med bi trebalo uključiti u sva istraživanja utjecaja zračnog onečišćenja na šume, što potvrđuju do sada provedena istraživanja u svijetu (Jones, 1987; Bromenshenk i sur., 1985; Veleminsky i sur., 1990).

Da bi se dobila što potpunija slika o razlozima sušenja jele u Gorskom kotaru, posebno na Risnjaku, gdje je i oštećenje krošanja najveće, otpočelo se i s mjerenjima radionuklida u različitim dijelovima jela

(iz kore i iglica), tala i u medu. Biljke unose radionuklide, kao i mikroelemente posredno preko korjena iz tala i izravnim taloženjem radionuklida na listu ili cvijetu (Baretta, 1994). Prisutnost ^{137}Cs u tlima na području Republike Hrvatske posljedica je nuklearnih pokusa u svijetu i radioaktivnih oborina nakon nesreće u nuklearnoj elektrani u Černobilu (Barišić i sur., 1987, 1991, 1999a i b; Lokobauer, 1988; Lokobauer i sur., 1998). U šumskom tlu glavni izvor ^{137}Cs je površinski organski sloj (Kruyts i Delvaux, 2002).

Rezultati mjerenja aktivnosti radionuklida pokazuju da je aktivnost ^{40}K u stablima na obje lokacije približno jednaka, a nisu uočene bitne razlike u aktivnostima kod oštećenih stabala u odnosu na zdrava stabla. Aktivnosti ^{137}Cs i ^7Be značajno se razlikuju (tablica 9 i 10). U kori s drvenastim dijelom zdravih stabala na Risnjaku aktivnosti ^{137}Cs kretale su se od 5.5 u najstarijim do 25.0 Bq/kg suhe težine u najmlađim dijelovima te u iglicama od 4.2 do 20.3 Bq/kg suhe težine. Iz dobivenih rezultata proizlazi da je aktivnost ^{137}Cs približno šest puta veća u oštećenim stablima nego u zdravim. Potpuno suprotni rezultati dobiveni su za ^7Be jer su izmjerene aktivnosti bile dva do tri puta veće u zdravim

stablima u odnosu na oštećena stabla na Risnjaku u obje vrste uzoraka. S obzirom da se berilij intenzivno ugrađuje u stanične membrane, pretpostavka je da se kod zdravih stabala tijekom vegetacijskog perioda ^7Be ugrađuje dva do tri puta intenzivnije nego li je to slučaj kod oštećenih stabala. Mjerenjem radionuklida u medljikovcu također je pokazana veza između radionuklida u tlu i medljikovcu, kao i da rezultati određivanja kalija ukazuju da se u većini slučajeva ne radi o čistim medljikama nego da se radi o miješanom (poliflornom) medu (tablica 38). Dobiveni rezultati u skladu su s mnogim provedenim istraživanjima u svijetu i kod nas koja ukazuju na vezu radionuklida u tlu i različitim dijelovima biljke, kao i medu iz istraživanog područja (Barišić i sur., 1994, 1999a i b; Baratta, 1994; Kruyts i Delvaux, 2002; Popijač i sur., 2004).

Rezultati ovih istraživanja pokazuju da i radionuklidi mogu biti indikator oštećenosti šumskog drveća. Njihovim praćenjem upotpunjuje se slika utjecaja različitih komponenata globalnog onečišćenja koje dodatno opterećuje šumske ekosustave, a koje za posljedicu ima sušenje šumskih vrsta drveća, u ovom slučaju jele.

ZAKLJUČI – Conclusions

Mikroskopska analiza strukture tanina u iglicama jele (*Abies alba* Mill.) pokazala je postojanje značajne razlike između staništa Risnjak i Donja Dobra. Promjene u strukturi tanina bile su vidljive puno ranije na Risnjaku nego na lokaciji Donja Dobra, već u svibnju mjesecu. Najveće strukturne promjene tanina bile su u epidermi, hipodermi, potom u mezofilu i središnjoj žili (ksilemu i floemu).

Nađena je i pozitivna korelacija između staništa i stupnja oštećenja iglica. S porastom stupnja oštećenja stabla strukturne promjene tanina su sve očitije. Između godina i razdoblja uzorkovanja na pojedinoj lokaciji razlike su manje značajne.

I koncentracija mikroelemenata u iglicama jele na lokaciji Risnjak statistički se značajno razlikuje od količine mikroelemenata na lokaciji Donja Dobra. Svi mjereni elementi pokazuju veće vrijednosti u uzorcima s lokacije Donja Dobra. Taj porast se kreće od 1,2 puta za Zn, Cu i Cr, 1,4 puta za Fe i Pb, 1,6 i 1,7 puta Ca odnosno Rb, dok je najveći porast nađen za Sr 4,2 puta i Mn 14,2 puta, pa se može zaključiti da su mangan i stroncij najindikativniji za stupanj oštećenosti krošnje. Proporcionalno s porastom stupnja oštećenja krošnje na lokaciji Risnjak smanjivale su se koncentracije nutritivnih elemenata. Toj korelaciji najviše doprinose Mn, Sr, Fe i Ca.

Koncentracija mjerenih mikroelemenata u medljikovcu na obje lokacije približno je jednaka. U uzorku s lokacije Risnjak nešto je veća koncentracija Pb i Cu,

dok je koncentracija ostalih mjerenih elemenata (Cr, Fe, Ni i Zn) nešto veća u uzorku s lokacije Donja Dobra.

Na temelju provedenih analiza tanina i mikroelemenata u iglicama jele i u medljikovcu na lokaciji Risnjak i Donja Dobra, možemo izvesti sljedeće zaključke:

- Između staništa i stupnja oštećenja iglica postoji pozitivna korelacija koja se očituje kroz vidljive promjene u strukturi tanina.
- Najveće promjene u strukturi tanina vidljive su u epidermskim stanicama i to u mladim iglicama, što ukazuje na prisutnost zračnih polutanata i njihov mogući utjecaj na površinu iglice i puči, što pak dovodi do degradacije stanica, a to djelomično objašnjava obrambeni mehanizam biljke.
- Promjene strukture tanina u iglicama pratila je smanjena koncentracija svih kemijskih elemenata, a mangan i stroncij pokazali su se najindikativniji za stupanj oštećenosti stabla.
- Pčelinji med, u našem slučaju medljikovac, nije dao očekivane rezultate s obzirom na oštećenost jele i dobivenu koncentraciju mikroelemenata u iglicama.

LITERATURA – Reference

- Adamowicz, A., JM. Skelly, LH. McCormick, 1993.: Temporal Changes in Norway Spruce Foliar Nutrients and Response to Fertilization. In: Huettl R. Mueller N (eds) Forest Decline in the Atlantic and Pacific region, Springer, Berlin, Heidelberg, New York pp 144–161.
- Bačić, T., Ž. Popović, 1998.: Preliminary Report on Epicuticular Wax Surface Condition on Stomata of *Abies alba* Mill. Needles from Risnjak National Park in Croatia. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 40: 25–31.
- Bačić, T., Z. Užarević, Lj. Grgić, J. Roša, Ž. Popović, 2003.: Chlorophylls and Carotenoids in Needles of Damaged Fir (*Abies alba* Mill.) from Risnjak National Park in Croatia. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 45/2: 87–92.
- Bačić, T., N. Ljubešić, Z. Užarević, Lj. Grgić, J. Roša, 2004.: TEM Investigations of Tannins and Chloroplasts Structure in Needles of Damaged Silver Fir trees (*Abies alba* Mill.). *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 46: 145–149.
- Bačić, T., Lj. Krstin, J. Roša, Ž. Popović, 2005.: Epicuticular Wax on stomata of Damaged Silver Fir Trees (*Abies alba* Mill.). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 74: 159–166.
- Bačić, T., Lj. Krstin, J. Roša, Ž. Popović, 2005.: Microanalysis of Relative Weight Elements Percentage in Needles of Damaged Silver fir Trees (*Abies alba* Mill.) at Two Sites. *Acta Botanica Hungarica* 47 (1–2): 1–8.
- Baratta, E. J., 1994.: Radionuclides in Food. In: Manuals of Food Quality Control. FAO of United Nations, Roma, 1979.
- Barišić, D., K. Košutić, K. Kvastek, S. Lulić, J. Tuta, A. Vertačnik, A. Vrhovac, 1987.: Procjena kontaminacije područja SR Hrvatske putem radioaktivnih oborina kao posljedica nesreće u NE “Lenin”. Zbornik radova XIV Jugoslavenski simpozij za zaštitu od zračenja. Jugoslavensko društvo za zaštitu od zračenja. Novi Sad, 77–82.
- Barišić, D., S. Lulić, A. Vertačnik, 1991.: Predčernobilski ^{137}Cs na području Republike Hrvatske u tlu do dubine 262,5 mm. Zbornik radova. XVI Jugoslavenski simpozij za zaštitu od zračenja. Jugoslavensko društvo za zaštitu od zračenja. Neum, 15–18.
- Barišić, D., S. Lulić, N. Kezić, A. Vertačnik, 1992.: ^{137}Cs in Flowers, Pollen and Honey From the Republic of Croatia Four Years After the Chernobyl Accident. *Apidologie* 23: 71–78.
- Barišić, D., K. Lazarić, S. Lulić, A. Vertačnik, M. Dražić, N. Kezić, 1994.: ^{40}K , ^{134}Cs and ^{137}Cs in Pollen, Honey and Soil Surface Layer in Croatia. *Apidologie* 25: 585–595.
- Barišić, D., A. Vertačnik, S. Lulić, 1999.: Cesium Contamination and Vertical Distribution in Undisturbed Soils in Croatia. *J. Environ. Radioact.* 46: 361–374.
- Barišić, D., A. Vertačnik, J. J. Bromenshenk, N. Kezić, S. Lulić, M. Hus, P. Kraljević, M. Šimpraga, Z. Seletković, 1999.: Radionuclides and Selected Elements in Soil and Honey From Gorski Kotar, Croatia. *Apidologie* 30: 277–287.
- Barišić, D., J. J. Bromenshenk, N. Kezić, A. Vertačnik, 2002.: The Role of Honey Bees in Environmental Monitoring in Croatia. In Honey Bees: Estimating the Environmental Impact of Chemicals ed. J. Devillers and M. Pham-Delégue, Taylor and Francis Inc. New York, ISBN 0-415-27518-0.
- Bayçu, G., 1998.: Cadmium Tolerance and Cadmium Binding Polypeptides in *Ailanthus altissima*. Teskos, M Moustakas (eds), Progress in Botanical Research, Kluwer Academic Publ. Dordrecht, The Netherlands, pp 273–276.
- Bayçu, G., M. Önal, 1992.: The Effects and the Accumulation of Cadmium in *Ailanthus altissima*. Abstract, *Physoil Plant* 85 Part 2: A74.
- Bayçu, G., M. Önal, 1993.: An Investigation of the Levels of Cadmium and Lead in the Soil and in the Leaves of Selected Specimens of *Ailanthus altissima* Found Growing Beside a Freeway in Istanbul. *The Journal of Biology*, Faculty of Science, Istanbul University Press, Istanbul, Turkey, Vol 56: 21–34.
- Beckman, CH., WC. Muller, WE. McHardy, 1972.: The Localization of Stored Phenols in lant hairs. *Physiology and Plant Pathology* 2: 69–74.
- Davies, ME., 1972.: Polyphenol synthesis in cell suspension cultures of Paul’s Scarlet rose. *Planta* 104: 50–65.
- Behrens, A., M. Nagamitsu, H. Knicker, I. Kögel-Knabner, 2003.: Maldi-Tof mass Spectrometry and PSD Fragmentation as Means for the Analysis of Condensed Tannins in Plant Leaves and Needles. *Phytochemistry* 62: 1159–1170.
- Bernadzki, E., 1983.: Zamieranie jodly w granicach naturalnego zasięgu. In: Jodla pospolita *Abies alba* Mill. Instytut Dendrologii PAN w Kórniku kolo Poznania, Warszawa-Poznan, 483–501.

- Bromenshenk, J. J., S. R. Carlson, J. C. Simpson, J. M. Thomas, 1985.: Pollution Monitoring of Puget Sound with Honey Bees. *Science* 227: 632–634.
- Bunzl, K., W. Kracke, G. Vorwohl, 1988.: Transfer of Chernobyl-derived ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{131}I , and ^{103}Ru , from Flowers to Honey and Pollen. *J. Environ. Radioact.* 6: 261–269.
- Dillon, W.R., M. Goldstein, 1984.: Methodes and Application. John Wiley and Sons, New York, 575.
- Feeny, P., 1970.: Seasonal Changes in Oak Leaf Tannins and Nutrients as Cause of Spring Feeding by Winter Moth Caterpillars. *Ecology*, 51: 565–581.
- Fischer, F., D. Kramer, H. Ziegler, 1973.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen SO_2 – begaster Blätter von *Vicia faba* L. Beobachtungen am Chloroplasten mit akuter Schädigung. *Protoplasma* 76: 83–96.
- Godzik, S., W. Knabe, 1973.: Vergleichende elektronmikroskopische Untersuchungen der Feinstruktur von Chloroplasten einiger *Pinus* Arten aus den Industriegebieten in der Ruhr und Oberschlesien. In: Proceedings of the Third International Clean Air Congress. A 161–170. VDI-Verlag GmbH, Düsseldorf.
- Godzik, S., M.A. Sassen, 1974.: Einwirkung von SO_2 auf die Feinstruktur der Chloroplasten von *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathologia* 79: 155–159.
- Huttunen, S., 1976a.: The Influence of Air Pollution on the Northern Forest Vegetation. In: Kärelampi L. (ed.), Proceedings of the Kuopio Meeting on Plant Damage Caused by Air Pollution, 97–101. Kuopio 1976.
- Huttunen, S., 1976b.: Current Research in Finland into the Effect of Air Pollution. In: Kärelampi L. (ed.), Proceedings of the Kuopio meeting on plant damage caused by air pollution, 102–109. Kuopio.
- Jones, K. C., 1987.: Honey as Indicator of Heavy Metal Contamination. *Water Air Soil Pollut.* 33: 179–189.
- Komelenović, N., P. Rastovski, 1992.: Research of Nutritional Status of Silver Fir (*Abies alba* Mill.) of Different Damage Degree. 6th IUFRO-Tannensymposium: 183–190.
- Kouki, M., Y. Manetas, 2002.: Resource Availability Affects Differentially of Gallotannins and Condensed Tannins in *Ceratonia siliqua*. *Biochemical Systematics and Ecology* 30: 631–639.
- Krutys, N., B. Delvaux, 2002.: Soil Organic Horizons as a Major Source for Radiocesium Biorecycling in Forest Ecosystems. *J. Environ. Radioact.* 58: 175–190.
- Kušan, V., Z. Kalafadžić, R. Pernar, Z. Horvatić, 1993.: Procjena oštećenosti šuma u nacionalnom parku “Risnjak” fotointerpretacijom infracrvenih kolornih aerosnimaka. Zbornik radova 40 godina nacionalnog parka “Risnjak” (1953–1993). “Stuba”, Zagreb.
- Kukkola, E., S. Huttunen, J. Bäck, 1995.: Effects of Heavy Metals and Acidic Precipitation on Pine Needles in the Subarctic. In: Wilken R-D, Förstner U, Knöchel A (eds.) Heavy Metals in the Environment, Vol 1. CEP Consultants Ltd, 375–378.
- Kukkola, E., S. Huttunen, J. Bäck, P. Rautio, 1997.: Scots Pine Needles Injuries at Subarctic Industrial Sites. *Trees-structure and function* 11: 378–387.
- Lamppu, J., S. Huttunen, 2001.: Scots Pine Needle Longevity and Gradation of Needle Shedding along Pollution Gradients. *Canadian Journal of Forest Research* 31: 261–267
- Lokobauer, N., 1988.: Radioaktivna kontaminacija i procjena rizika nakon nuklearnog accidenta. Disertacija. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
- Lokobauer, N., Z. Franić, A. Bauman, D. Marčić, D. Cesar, J. Senčar, 1998.: Radiation Contamination After Chernobyl Nuclear Accident and Effective Dose Received by the Population of Croatia. *J. Environ. Radioact.* 41: 137–146.
- Maie, N., H. Knicker, I. Kögel-Knabner, 2003.: Changes in the Structure and Protein Binding Ability of Condensed Tannins During Decomposition of Fresh Needles and Leaves. *Soil Biology and Biochemistry* 35: 577–589.
- Petz, B., 1985.: Osnovne statističke metode za ne matematičare. Sveučilišna naklada Liber, Zagreb, 409.
- Popijač, M., I. Seletković, M. Volner, I. Lovrenčić, D. Barišić, N. Kezić, 2004.: Dinamika kretanja ^{137}Cs i ^{40}K na stablima jele (*Abies alba* Mill.) na Sljemenu. *Šumarski list* br. 5–6, 2004, 269–277.
- Raitio, H., J. P. Tuovinen, P. Anttila, 1995.: Relation Between Sulphur Concentrations in the Scots Pine Needles and the Air in Northernmost Europe. *Water, Air and Soil Pollution* 85: 1361–1366.
- Soikkeli, S., 1978.: Seasonal Changes in Mesophyll Ultrastructure of Needles of Norway Spruce (*Picea abies*). *Canadian Journal of Botany* 56: 1932–1940.
- Soikkeli, S., 1980.: Ultrastructure of the Mesophyll in Scots Pine and Norway Spruce: Seasonal Va-

- riation and Molarity of the Fixative Buffer. *Protoplasma* 103: 241–252.
- Soikkeli, S., 1981a.: Comparison of Cytological Injuries in Conifer Needles from Several Polluted Industrial Environments in Finland. *Annales Botanici Fennici* 18: 47–61.
- Soikkeli, S. 1981b.: A Review of Structural Effects of the Air Pollution on Mesophyll Tissue in the Plants at the Light and Transmission Electron Microscope level. *Savonia* 4: 11–54.
- Soikkeli, S., T. Tuovinen, 1979.: Damage in Mesophyll Ultrastructure of Needles of Norway Spruce in the Industrial Environments in Central Finland. *Annales Botanici Fennici* 16: 50–64.
- Vukelić, J., D. Baričević, 2001.: Šumske zajednice obične jele u Hrvatskoj, Obična jela u Hrvatskoj (monografija), 162–196, Zagreb.
- Tuovinen, T., 1979.: Damage in Mesophyll Ultrastructure of Needles of Norway Spruce in Two Industrial Environments in Central Finland. *Annales Botanici Fennici* 16: 50–64.
- Tuovinen, J. P., T. Larila, H. Lättilä, A. Ryaboshapko, P. Brukhanov, S. Korovlev, 1993.: Impact of Sulfur Dioxide Sources in the Kola Peninsula on Air Quality in Northernmost Europe. *Atmosphere and Environment* 27A (9).
- Veleminsky, M., P. Laznička, P. Stary, 1990.: Honeybees (*Apis mellifera*) as Environmental Monitors of Heavy Metals in Czechoslovakia. *Acta Entomologica Bohemoslov* 87: 37–44.

SUMMARY: Air pollution has a great impact on the damage and the vitality decrease of fir trees (Abies alba Mill.). The damage of fir trees is largely visible in Gorski Kotar in the Risnjak National Park. More than 50 % of trees have significant crown damage. Their decline is connected with air pollution and the heavy metal elements found in the forest ground. The research on fir damage was carried out through structure analysis of the tannins in the cells of fir needles, in reference to the quantity of the microelements in the needles, and as to the kind and quantity of microelements in bee honey.

The research included one-year-old fir tree needles (Abies alba Mill.), which were collected in natural conditions in the years 2000 and 2001 on two locations. The first was Risnjak, which represented a polluted site of experimental type. The second was Donja Dobra, representing a clean site of a control or reference type. The needles were collected from the trees with various stage of damage, during three periods of time: May, July, and September of each sample year.

On the Risnjak site, the needles were collected from the crowns with significant damage. This means that these trees had over 20 % of needle loss. The trees with crown damage of 35 %, 45 %, 55 %, 75 % and 85 % were chosen on this site. The needles from the trees with slightly damaged crowns, between 5 % and 10 %, were collected on the site of Donja Dobra.

The needles used for the analysis of microelements were collected from the trees on both locations.

Bee honey, in this case honeydew honey, was collected at the end of vegetation season from the beehives near the location where the needles were collected.

The needles were moulded in paraffin wax and coloured using a special technique. The appearance of tannin, the shape and spreading, as well as the cell structure were analysed using a light microscope.

The analysis of the microelements in the needles was carried out for ten elements (Ca, Fe, Rb, Sr, Cu, Zn, Pb, Ni, Mn and Cr), the concentrations of which were determined by X-ray fluorescence using energetic dispersion, Energy Dispersive X-Ray Fluorescence, and the EDXRF method. The bee honey was analysed by the same method. In addition, the contents of radionu-

clides ^7Be ^{137}Cs and ^{40}K were determined on the same sample by the method of gamma spectrometry.

The results collected were statistically processed by the computer program STATISTICA 6.0.

The analysis of the structure of tannins in fir-tree needles (*Abies alba* Mill.) showed the existence of significant differences between the sites of Risnjak and Donja Dobra. The changes in the tannin structure on Risnjak location were visible earlier than the ones on the Donja Dobra location, i.e. already in May. The biggest changes of the tannin structure were found in the epidermis, hypodermis and also in the mezzophyll and the central rib (xylem and phloem). A positive correlation between the site and stage of damage of the needles was established. The structural changes of the tannin are evident with the increase of the stage of needle damage. The differences are less significant between the years and the periods of sample on the individual locations.

The concentrations of microelements in the fir needles on Risnjak location statistically significantly differ from the one of the Donja Dobra location. All measured concentrations of the elements show higher values in the samples from the Donja Dobra location. The increase of Zn, Cu and Cr was by 1.2 times; Fe and Pb increased by 1.4 times, while the respective values of Ca and Rb were higher by 1.6 and 1.7 times. The biggest increase was found with Sr (4.2 times) and Mn (14.2 times). It can be concluded that the concentrations of manganese and strontium are best indicators for the degree of crown damage. The concentration of nutritive elements decreases proportionally with the increase of crown damage on Risnjak location. This correlation is mostly supported by Mn, Sr, Fe and Ca.

The concentration of the measured microelements in honeydew honey on both locations is approximately equal. The concentration of Pb and Cu is slightly bigger in the sample from the Risnjak location, but the concentration of other measured elements (Cr, Fe, Ni and Zn) is slightly bigger on the location Donja Dobra.

Based on the research, we can conclude that the tannins are good indicators for the observation of tree needles. Their morphological characteristics are correlated with the concentration of microelements and the stage of tree damage. The concentration of the microelements in honeydew honey did not show any significant differences between the different locations.