

BIOMONITORING PRÍZEMNÉHO OZÓNU VO VYSOKÝCH TATRÁCH

SVETLANA VARŠOVÁ¹, VERONIKA LUKASOVÁ¹, MILAN ONDERKA^{1,2}, DUŠAN BILČÍK¹

¹ Ústav vied o Zemi SAV vied, v.v.i., Dúbravská cesta 9, 840 05 Bratislava

² Slovenský hydrometeorologický ústav, Jeséniova 17, 833 15 Bratislava

Korešpondenčný autor: Svetlana Varšová (geofsvet@savba.sk)

*The concentration of ground-level ozone (O_3) and derived O_3 metrics for assessing the adverse impact of O_3 on vegetation are important parts of air quality monitoring. Measurement of O_3 concentration is usually carried out by using standard automatic analysers, however, the limitation due to demanding operating conditions in complex terrain evoked the need for using alternative passive methods based on the diffusion of ambient air into special passive samplers. In this work, we present the example of the integration of the passive diffusion sampler (P) into automatic measurement (A) to calculate O_3 metrics (exposure index AOT40, and modelled ozone dose MO_3D or $PODy$). Passive monitoring was carried out with the use of an O_3 -sensitive indigo filter (IF) placed into newly developed holder with protection against wind and rainfall effects. Experimental passive IF samplers were located in the meteorological booth at Observatory Skalnaté Pleso (ObSP) in High Tatra Mts where control automatic active O_3 measurement was running at the same time. The time of exposure reflected the growing season (GS) length as the period without snow cover occurrence (June – September 2023). After field exposition and following photometric laboratory analysis of IF, the seasonal values of aggregated AGG- O_3 (P) and the average AVG- O_3 (P) concentrations were derived based on the calibration equation. Both values were approximately 7% higher than AGG- O_3 (A) and AVG- O_3 (A) derived from the active measurement. A comparison of O_3 metrics showed a substantially higher difference for AOT40 (42.4%) than for MO_3D (6.4%) when using AVG- O_3 (P) instead of the measured 1h O_3 concentration (A). The passive IF method can therefore be considered an acceptable alternative for MO_3D modelling, on the contrary, the higher level of uncertainty significantly limits the use of the passive IF samplers for calculating AOT40. The biological response to the oxidising effect of O_3 was tested on needle samples of dwarf mountain pine (*Pinus mugo*), the dominant tree species of the alpine ecotone zone in the High Tatras. In laboratory conditions, we tested the oxidative stability (OxS) of plant material for different levels of ozonation. Based on the relationship between OxS and AGG- O_3 , an interval of $11.9 \text{ mmol m}^{-2} \leq MO_3D \leq 33.3 \text{ mmol m}^{-2}$ was projected for the range $0 \geq OxS \geq -0.05$ with minimal harmful O_3 effect. MO_3D based on standard (10.9 mmol m^{-2}), as well as passive (11.6 mmol m^{-2}) O_3 measurements for the 2023 vegetation period, did not exceed the indicated projected level, therefore mountain pine can be considered to be the tree with relatively good resistance to O_3 pollution at higher altitudes in the High Tatras.*

*Koncentrácia prízemného ozónu (O_3) a odvodené metriky pre hodnotenie škodlivého účinku O_3 na vegetáciu sú dôležitou súčasťou monitoringu kvality ovzdušia. Na meranie koncentrácie O_3 sa štandardne používajú automatické analyzátory, avšak technické obmedzenia pre ich použitie v terénnych podmienkach vyvolali požiadavku na meranie pomocou alternatívnych tzv. pasívnych metód založených na voľnej difúzii okolitého vzduchu do špeciálnych vzorkovačov. V tejto práci uvádzame príklad kombinácie aktívneho (A) a pasívneho (P) spôsobu merania pre potreby výpočtu O_3 metrik, ako sú expozičný index AOT40 a modelovaná ozónová dávka MO_3D , resp. $PODy$. Na pasívny monitoring boli použité O_3 -senzitivné indigové filtre (IF) umiestnené v novo vyvinutom držiaku s ochranou proti vetru a vymývaniu zrážkami. Pasívne IF vzorkovače boli exponované vo Vysokých Tatrách v blízkosti observatória pri Skalnatom plese (ObSP), kde súčasne prebiehalo aj meranie O_3 pomocou automatického analyzátora. Doba expozície zodpovedala vegetačnému obdobiu bez výskytu snehovej pokrývky (jún – september 2023). Po ukončení expozície a následnej fotometrickej laboratórnej analýze IF boli podľa kalibračnej rovnice vypočítané sezónne hodnoty pre agregovanú AGG- O_3 (P) a priemernú AVG- O_3 (P) koncentráciu. Obe hodnoty prevýšili príslušné charakteristiky z automatického merania AGG- O_3 (A) a AVG- O_3 (A) približne o 7%. Porovnanie O_3 metrik s použitím AVG- O_3 (P) a 1h koncentrácií O_3 z automatického merania (A) poukazuje na podstatne vyšší rozdiel pre AOT40 (42.4%) ako pre MO_3D (6.4%). Pasívnu IF metódu preto možno považovať za akceptovateľnú alternatívu pre modelovanie MO_3D , naopak, vyššia miera neistoty výrazne limituje použitie pasívnych IF snímačov pre výpočet AOT40. Biologická odozva rastlinného materiálu na O_3 bola sledovaná na vzorkách ihličia borovice horskej (*Pinus mugo*), ktorá je dominantnou drevinou alpskej ekotónovej zóny vo Vysokých Tatrách. V laboratórnych podmienkach sme testovali oxidačnú stabilitu (OxS) rastlinného materiálu pre rôzne úrovne ozonizácie. Na základe zisteného vzťahu medzi OxS a AGG- O_3 bola pre interval $0 \geq OxS \geq -0,05$ projektovaná úroveň ozónových dávok $11,9 \text{ mmol m}^{-2} \leq MO_3D \leq 33,3 \text{ mmol m}^{-2}$ s minimálnym škodlivým účinkom O_3 . MO_3D odvodené na základe štandardného ($10,9 \text{ mmol m}^{-2}$) ako i pasívneho ($11,6 \text{ mmol m}^{-2}$) merania O_3 pre vegetačné obdobie 2023 neprekročili uvedenú projektovanú úroveň, preto možno borovicu horskú považovať za drevinu s pomerne dobrou odolnosťou voči O_3 znečisteniu vo vyšších polohách Vysokých Tatier.*

Key words: ozone dose, indigo passive sampler, oxidative stability, *Pinus mugo*

1 ÚVOD

Prízemný ozón (O_3) je dôležitou súčasťou monitoringu kvality ovzdušia. Dlhodobé pôsobenie O_3 môže mať škodlivý účinok na ľudské zdravie i vegetáciu. Vplyv O_3 na vegetáciu

sa podľa platnej európskej smernice EU (2008) hodnotí na základe merania koncentrácie O_3 s vyjadrením expozičného indexu AOT40, pričom sa sleduje prekročenie cieľovej hodnoty a dlhodobého cieľa. V posledných rokoch je pri hodno-

tení uprednostňovaný indikátor fyto-toxickej ozónovej dávky (PODy), založený na modelovaní stomatálneho toku O₃, ktorý preniká cez otvorené prieduchy do asimilačných orgánov rastlín (Mills et al., 2011). Výpočet obidvoch metrík AOT40 i PODy si vyžaduje kvalitné údaje zo štandardných O₃ analyzátorov s nepretržitým meraním a záznamom koncentrácie O₃ v hodinovom kroku. Použitie takýchto zariadení v terénnych podmienkach má určité obmedzenia, preto boli na stanovenie expozície O₃ vyvinuté alternatívne tzv. pasívne snímače (Krupa et al., 2001; Yuska, 2003; Maruo et al., 2009). V porovnaní s aktívnymi monitormi sú síce cenovo dostupnejšie, menej náročné na prevádzku, avšak poskytujú iba časovo agregované hodnoty koncentrácie O₃ s menšou presnosťou (Pitar et al., 2018). Kombináciou aktívneho a pasívneho spôsobu merania by bolo možné získať reprezentatívne údaje o expozícii O₃ na viacerých miestach v teréne v čase vegetačnej sezóny, kedy je príjem O₃ vegetáciou najintenzívnejší.

Vplyv O₃ na rastlinu okrem úrovne expozície O₃ závisí taktiež od citlivosti jednotlivých rastlinných druhov na oxidačný stres vyvolaný O₃. Pre vyhodnotenie škodlivosti expozície O₃ je nevyhnutné stanoviť vzťah medzi O₃ metrikou odvodenou z meraní koncentrácie O₃ v teréne a biologickou zmenou organizmu, podľa ktorého je možné určiť tzv. kritickú úroveň. Určenie kritickej úrovne vychádza prevažne z experimentov v kontrolovaných podmienkach ako napr. FACE (Free Air Controlled Exposure), ktoré sledujú fyziologickú odozvu rastlín na zvýšenú fumigáciu O₃ v otvorených komorách (Paolletti et al., 2016). Vzhľadom k výskytu možných neistôt vyplývajúcich z rozdielnych podmienok v kontrolovanom a voľnom priestore (Fuhrer et al., 1997) je dôležité skúmať biologickú odozvu vegetácie aj v jej prirodzenom prostredí (Sicard et al., 2016).

V našej práci sme sa zamerali na biomonitoring O₃ v alpskej ekotónovej zóne Vysokých Tatier s dominantným rozšírením borovice horskej - kosodreviny (*Pinus mugo*). Hlavným cieľom bolo overiť možnosť použitia pasívnej indigovej metódy pre výpočet O₃ metrík a preskúmať biologickú odozvu borovice horskej na O₃ expozíciu vo vysokohorskom prostredí. Podľa našich poznatkov, škodlivý účinok O₃ na porasty borovice horskej v jej prirodzenom prostredí nebol doteraz preskúmaný, prezentovaný výskum tak môže poskytnúť cenné údaje o biologicko-odozve vegetácie na O₃ znečistenie vo vyšších horských polohách.

2 METODIKA A ÚDAJE

2.1 Výskumná plocha

Skúmaná oblasť sa nachádza v alpskom ekotónovom pásme Vysokých Tatier, ktorej súčasťou je observatórium pri Skalnatom plese (ObSP), (49,18928°N, 20,23410°E, 1778 m n. m.), (Obr. 1a). Na ObSP sú od roku 1943 nepretržite vykonávané klimatické pozorovania a od roku 2000 aj merania koncentrácie O₃. V poslednom normálovom období 1991–2020 priemerná ročná teplota vzduchu dosiahla hodnotu 2.8 °C a atmosférické zrážky s normálovým ročným úhrnom 1477 mm boli pozorované v priemere 154 dní v roku (Lukasová et al., 2023). Priemerné koncentrácie O₃ v období vegetačnej aktivity (April–September) kolíšu

okolo 51,6 ppb a maximálne hodinové hodnoty často prekračujú úroveň 90 ppb (Lukasová et al., 2022). V okolí ObSP je rozšírená borovica horská, ktorá je dominantnou drevinou subalpínskeho pásma medzi 1500 až 1800 m n. m. Borovica horská je v tejto štúdií považovaná za hlavný bioindikátor pôsobenia O₃ na vysokohorskú vegetáciu.

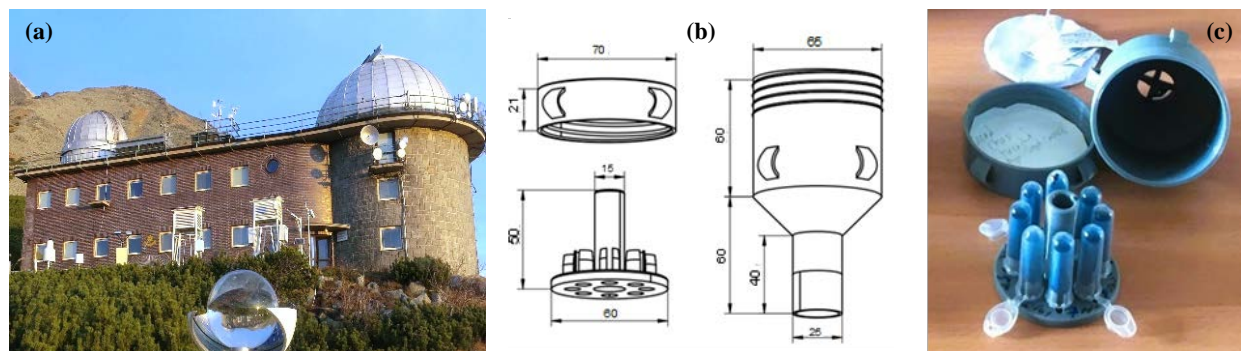
2.2 Monitoring koncentrácie O₃ – aktívny a pasívny spôsob merania

Koncentrácia O₃ sa štandardne meria pomocou automatických analyzátorov, ktoré pracujú na princípe absorpcie UV žiarenia molekulami O₃ pri vlnovej dĺžke 254 nm. Vyjadrenie hodnoty koncentrácie O₃ vychádza z Lambert-Beerovho zákona, ktorý matematicky definuje vzťah medzi zmenou žiarivého toku a koncentráciou látkového množstva absorbujúcej zložky. Ide o tzv. aktívny spôsob, kde meranie O₃ vyžaduje kontinuálny a kontrolovaný prívod vzduchu z okolitého priestoru, pričom na prevádzku je potrebné zabezpečiť zdroj energie a umiestnenie zariadenia v klimatizovaných priestoroch. V našom experimente bol na aktívny monitoring využitý O₃ analyzátor typu Thermo Scientific 49C Ozone Monitor s automatickým záznamom koncentrácie O₃ (ppb) v hodinovom kroku. Prístroj bol umiestnený v budove ObSP so zabezpečením prívodu vzduchu z vonkajšieho prostredia.

Metódy pasívneho monitoringu kvality ovzdušia sú vo všeobecnosti založené na chemickej reakcii aktívnej látky impregnovanej na vhodnom nosiči, ktorá pri expozícii vo vonkajšom prostredí selektívne reaguje so sledovaným plyným polutantom. V tejto práci sme využili selektívnu reakciu indiga s ozónom: $C_{16}H_{10}N_2O_2 + O_3 \rightarrow 2 C_8H_5NO_2 + O$, kde O₃ pôsobí ako silné oxidačné činidlo so schopnosťou štiepiť molekulu indiga na dve molekuly izatínu (Maruo et al., 2009). Ako aktívna látka bola použitá zlúčenina indigokarmín ($C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$, CAS 860-22-0). Ide o organickú soľ, ktorá vzniká po aromatickej sulfonácii indiga s cieľom dosiahnuť lepšiu rozpustnosť indigovej zložky vo vode. Aktívna látka bola fixovaná na chromatografický papier typu Whatman 3001-653, a to vo forme vodného roztoku s nasledovným zložením: 0,45 g indigokarmín (0,9 %) + 3,5 g kyselina citrónová (7,0 %) + 12,5 g glykol (25,0 %) + 33,55 g destilovaná H₂O (67,1 %), (Maruo et al., 2009). Na laboratórnych váhach Libra s presnosťou 0,001g bolo do mikroskúmavky typu Eppendorf s objemom 1,5 ml pomocou injekčnej striekačky po kvapkách navážené presné množstvo roztoku indiga 0,100 ± 0,001 g, ktorý vztláním prešiel na vložený chromatografický papier rozmeru štvorca s veľkosťou 2,5 x 2,5 cm. Po voľnom vysušení impregnovaného filtra (IF) do konštantnej hmotnosti boli mikroskúmavky uzavreté a do začiatku vonkajšej expozície uskladnené na tmavom mieste pri izbovej teplote. Na začiatku vonkajšej expozície boli mikroskúmavky s IF umiestnené v špeciálnom držiaku vyrobenom pomocou 3D tlače (Obr. 1b, c). Držiak má v hornej časti nepriepustné veko so závitom a v spodnej časti kónický tvar pre ochranu pred vymytím aktívnej látky pri intenzívnych dažďoch. Pasívne snímače boli počas expozície umiestnené v štandardnej meteorologickej búde na ObSP. Koncentrácia O₃ bola paralelne monitorovaná pasívnym i aktívnym spôsobom.

Obrázok 1. Observatórium pri Skalnatom plese (ObSP) – výskumná plocha na meranie koncentrácie O_3 aktívnym i pasívnym spôsobom (a); schéma vzorkovača na pasívny monitoring O_3 (b) pomocou indigových filtrov (IF) umiestnených v mikroskú-mavke typu Eppendorf (c).

Figure 1. Observatory Skalnaté Pleso (ObSP) – a study area for measuring O_3 concentrations by both, active and passive methods (a); scheme of sampler used for passive O_3 monitoring (b) based on indigo filters (IF) placed in an Eppendorf microtube (c).



Doba expozície (jún – september 2023) zodpovedá obdobiu bez výskytu snehovej pokrývky v alpínskej ekotónovej zóne.

Po ukončení expozície boli IF podrobené laboratórnej analýze. V prvom kroku došlo k rozpusteniu reakčného produktu, a to výluhovaním IF v 10 ml destilovanej H_2O . Ďalej nasledovalo meranie absorbancie výluhu pomocou prenosného fotometra WTW typu pFotoFlex® STD, pri vlnovej dĺžke 517 nm (A-517nm). Na základe nameranej hodnoty A-517nm bola podľa kalibračnej rovnice vypočítaná agregovaná koncentrácia AGG- O_3 (ppm). Kalibračný vzťah medzi AGG- O_3 a A-517nm bol určený experimentálne v laboratórnych podmienkach. AGG- O_3 (ppm) predstavuje sumu priemerných hodinových koncentrácií O_3 pre definovaný počet hodín expozície. Pri určovaní kalibračnej závislosti bola sledovaná farebná odozva IF (A-517nm) na extrémne vysoké koncentrácie O_3 (cca 150 ppm) generované umelým zdrojom (prístroj Koizon 300, Gemke Technik GmbH) pre rôzne doby expozície (0, 0,5 h, 1 h, 1,5 h, 2 h). Koncentrácie O_3 použité pre výpočet kalibračných hodnôt AGG- O_3 boli merané pomocou aktívneho analyzátora typu Thermo Scientific 49C.

2.3 Metriky odvodené z meraní koncentrácie O_3

Vplyv O_3 na vegetáciu sa v súčasnosti posudzuje podľa metrick AOT40 alebo MO_3D , resp. PODY. Expozičný index AOT40 predstavuje sumu kladných odchýlok 1h koncentrácií O_3 od referenčnej úrovne 40 ppb ($80 \mu g m^{-3}$) zaznamenaných počas dňa (od 8:00 do 20:00 h SEČ) v priebehu vegetačného obdobia (od 1. 5. do 31. 7. všeobecne pre vegetáciu a od 1. 4. do 30. 9. pre lesné dreviny). Cieľová hodnota pre ochranu vegetácie 9 ppm h ($18 000 \mu g m^{-3}$) sa vzťahuje k priemeru 5 za sebou idúcich kalendárnych rokov, dlhodobá cieľová hodnota je na úrovni 3 ppm h ($6 000 \mu g m^{-3}$, EU, 2008). Pre ochranu lesných ekosystémov bola stanovená kritická úroveň 5 ppm h ($10 000 \mu g m^{-3}$), (CLRTAP, 2017).

Vedeckou komunitou (Emberson et al., 2000; Karlsson et al., 2007; Ducker et al., 2018) je odporúčaná metrika fyto-toxickej ozónovej dávky (PODy). Koncept PODy je založený na výpočte stomatálneho toku O_3 s využitím multiplikatívneho algoritmu (Jarvis, 1976; Emberson et al., 2000).

Uvedený modelový mechanizmus okrem koncentrácie O_3 zohľadňuje aj vplyv ďalších meteorologických faktorov ako teplota vzduchu AT ($^{\circ}C$), sýtosťný doplnok VPD (kPa), slnečné globálne žiarenie R ($W m^{-2}$) alebo fotosyntetický aktívne žiarenie PAR ($\mu mol m^{-2} s^{-1}$) a pôdny vodný potenciál SWP (MPa) na stomatálnu vodivosť rastliny. PODY ($mmol m^{-2}$) tak predstavuje sumu stomatálneho toku O_3 (Fst, $nmol m^{-2} s^{-1}$) po prekročení limitnej hodnoty Y. Pre lesné dreviny bola určená hodnota $Y = 1 nmol m^{-2} s^{-1}$ (CLRTAP, 2017) a to s ohľadom na prirodzenú detoxikačnú kapacitu lesných drevín. Navrhnutá kritická úroveň POD_1 pre smrek má hodnotu $9,2 mmol m^{-2}$ (CLRTAP 2017).

V tejto práci boli obidve metriky AOT40 i PODY vypočítané pomocou depozičného modelu DO_3SE (Deposition of Ozone for Stomatal Exchange, SEI, 2023) s parametrizáciou pre borovicu horskú (Bičárová et al., 2019). Modelovaná ozónová dávka (MO_3D , $mmol m^{-2}$) je totožná s modelovým výstupom POD_0 . Hodnota $Y = 0$ bola zvolená z dôvodu chýbajúcich údajov o detoxikačnej kapacite pre borovicu horskú, použitie POD_0 odporúča tiež Sicard et al. (2016). Doba expozície bola rovnaká ako v prípade expozície IF, t.j. od 1. júna do 30. septembra 2023. Do výpočtu MO_3D okrem koncentrácie O_3 vstupovali meteorologické údaje (teplota vzduchu, atmosférické zrážky, relatívna vlhkosť vzduchu, globálne žiarenie, tlak vzduchu a rýchlosť vetra) merané na ObSP pomocou automatickej stanice vybavenej datalogerom PROlog (Physicus, SK) s 10 minútovým záznamom nameraných údajov. Pre porovnanie aktívneho (A) a pasívneho (P) systému monitorovania O_3 boli vypočítané dve hodnoty MO_3D . V prvom prípade MO_3D (A) do výpočtu vstupovali hodinové koncentrácie O_3 zaznamenané automatickým analyzátorom. Pri druhom výpočte MO_3D (P) boli priemerné hodinové koncentrácie nahradené priemernou koncentráciou O_3 pre celé vegetačné obdobie $AVG-O_3(ppb) = AGG-O_3(ppm) * 1000 / \Sigma hod$ na základe vyhodnotenia pasívnych IF exponovaných na ObSP počas vegetačného obdobia 2023. Podobným spôsobom boli vyhodnotené AOT40 (A) a AOT40 (P). Model DO_3SE pri výpočte 1h hodnôt Fst a OT40 (kladná odchýlka od referenčnej úrovne 40 ppb) rozlišuje dve výškové hladiny koncentrácie O_3 . Vstupné údaje koncentrácie O_3 v normalizovanej

výške merania (20 m) sú prepočítané na hladinu korunovej výšky pre daný typ dreviny (CLRTAP, 2017). Dá sa predpokladať, že pri korunovej výške borovice horskej (2 m) budú koncentrácie O_3 v tejto hladine nižšie ako vstupné údaje z aktívneho i pasívneho merania O_3 . Presnosť výpočtu AOT40 môžu zásadným spôsobom ovplyvniť rozdiely v dennom chode O_3 : variabilný pre AVG- O_3 (A) a vyrovnaný pre AVG- O_3 (P). Monitoring O_3 vo Vysokých Tatrách však ukázal, že s rastúcou nadmorskou výškou denná amplitúda O_3 postupne slabne a vo vyšších polohách na úrovni ObSP je denný chod O_3 pomerne vyrovnaný (Bičárová et al. 2005). Takmer konštantné koncentrácie počas dňa s miernym poklesom v dopoludňajších hodinách uvádzajú tiež Štefánik a Šedivá (2022) pre dve vysokohorské pozad'ové regionálne stanice (Chopok, 1958 m n. m. a Kojšovská hoľa, 1230 m n. m.). Štatistický softvér Statistica od Tibco bol použitý na analýzu vplyvu koncentrácie O_3 a meteorologických faktorov (AT, VPD, R alebo PAR, SWP) na stomatálny tok (Fst) a MO_3D .

2.4 Biomonitoring – oxidačná stabilita borovice horskej

Biologická odozva O_3 na vysokohorskú vegetáciu bola sledovaná na borovici horskej voľne rastúcej v alpínskom ekotónovom pásme. Citlivosť tejto dreviny na oxidačný stres sme testovali pomocou indikátora oxidačnej stability (OxS). Testovanie OxS sa uskutočnilo na vzorkách odobraných z troch dospelých jedincov v okolí ObSP na konci vegetačného obdobia 2023. Vzorka približne 20 ihlič bola po odbere zabalená do hliníkovej fólie a umiestnená do uzatvárateľného plastového vrečka. V priebehu toho istého dňa boli odobrané ihlice laboratórne spracované podľa postupu pre modifikovanú EL metódu (Bičárová et al., 2023). Metóda EL (electrolyte leakage) je založená na princípe kontroly úniku elektrolytu pri poškodení rastlinných buniek (Flint et al., 1967) a vychádza z predpokladu, že $EL(\%) = [(C_f - C_i) / (C_t - C_i)] \times 100$ je priamo úmerné poškodeniu bunkových membrán skúmaného rastlinného materiálu. Hodnoty C predstavujú nameranú elektrickú vodivosť pre ultračistú vodu (C_i) a vodný výluh vzorky pred (C_f) a po (C_t) úplnom kolapse bunkových membrán, ktorý sa očakáva po deštrukcii vzoriek v autokláve (121 °C, 20 min). Modifikácia pôvodnej metódy EL spočíva v tom, že vzorky ihlič sú pred vylúhovaním vystavené extrémne vysokým dávkam umelo generovaného O_3 v prietokovej laboratórnej komore. Sledujú sa hodnoty indexu poškodenia $INX = EL(\%)$ pre nulovú (INX_0) a rôzne úrovne expozície O_3 ($INX-O_3$). INX_0 je odvodený na základe regresného vzťahu medzi $y = INX-O_3$ a $x = AGG-O_3$ pre $x = 0$. Oxidačná stabilita je definovaná ako $OxS = INX_0 - INX-O_3$. Hodnoty OxS sa pohybujú v intervale od -1 do 1, $OxS = 0$ znamená, že rastlinné tkanivo je oxidačne stabilné, hodnoty $OxS < 0$ indikujú negatívny, resp. $OxS > 0$ pozitívny účinok ozonizácie na skúmaný rastlinný materiál. Prvé výsledky použitia modifikovanej EL metódy naznačili pomerne nízku citlivosť borovice horskej na oxidačný stres vyvolaný O_3 dávkami prijatými v prirodzenom prostredí (Bičárová et al., 2023). V tomto experimente sme preto vzorky vystavili podstatne vyšším dávkam, a to postupne pre 6 úrovní AGG- O_3

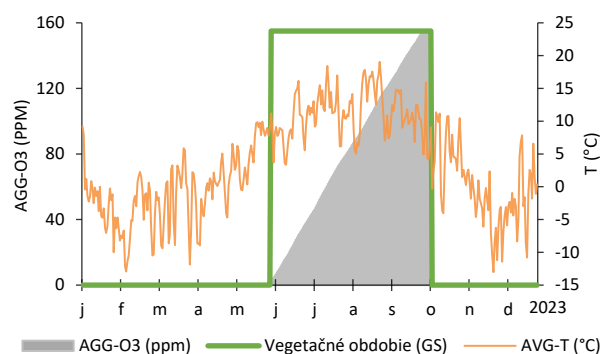
od 100 do 2 100 ppm. Pri odvodení závislosti medzi AGG- O_3 a OxS bola uvažovaná aj O_3 expozícia vzoriek v prírodnom prostredí počas vegetačného obdobia 2023. Zo zisteného vzťahu je možné určiť hraničné hodnoty AGG- O_3 , AVG- O_3 a MO_3D , ktoré prislúchajú $0 \geq OxS \geq -0,05$ s minimálnym škodlivým účinkom O_3 . Koncentrácia O_3 pre odvodenie vzťahu medzi AGG- O_3 a OxS bola kontrolovaná automatickým analyzátorom Thermo Electron Environmental 49C, EL vodivosť bola meraná kalibrovaným konduktometrom TDS Testr 11, zariadením Eutech Instrument, Singapur, súčasť Thermo Fisher Scientific Inc., ktorý je vhodný na meranie veľmi malých množstiev vzorky.

3 VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pôsobenie O_3 na vegetáciu má sezónny charakter. Intenzívny účinok O_3 sa prejavuje predovšetkým vo vegetačnom období s priaznivými bioklimatickými podmienkami pre fyziologické procesy rastlín. Dĺžka vegetačného obdobia je v horskom prostredí v porovnaní s teplejšími nížinnými oblasťami kratšia a skraca sa s rastúcou nadmorskou výškou. Vhodné bioklimatické podmienky pre rast vysokohorskej vegetácie nastupujú po úplnom roztopení snehovej pokrývky, zvyčajne v druhej polovici mája a trvajú do začiatku nástupu chladnejšieho obdobia v októbri, kedy normálne priemerné teploty vzduchu klesajú pod úroveň 5 °C (Lukasová et al., 2023). V roku 2023 obdobie bez snehovej pokrývky s priemernými dennými teplotami vzduchu v rozsahu od 5 do 20 °C trvalo od začiatku júna do konca septembra (Obr. 2). Pre dané obdobie, t. j. od 1. júna do 30. septembra, boli na základe prístrojového merania priemerných hodinových koncentrácií O_3 na ObSP odvodené hodnoty agregovanej AGG- O_3 (154,4 ppm) a priemernej koncentrácie AVG- O_3 (52,7 ppb \pm 7,1) (Tab. 1), ktoré možno považovať za reprezentatívne pre alpínske ekotónové pásmo s dominantným rozšírením borovice horskej.

Obrázok 2. Agregovaná hodnota koncentrácie O_3 (AGG- O_3 , ppm) počas vegetačného obdobia 2023 odvodená z meraní priemerných hodinových koncentrácií O_3 pomocou aktívneho O_3 analyzátoru na ObSP; vegetačné obdobie (zelená čiara > 0) predstavuje obdobie bez výskytu snehovej pokrývky s priemernou dennou teplotou vzduchu AVG-T od 5 do 20 °C.

Figure 2. Aggregated hourly O_3 concentration (AGG- O_3 , ppm) recorded by active O_3 analyser at ObSP during the growing season (GS) 2023; GS covered warm months from June to September without the occurrence of snow cover (green line > 0) and mean daily air temperature AVG-T in the range from 5 to 20 °C.

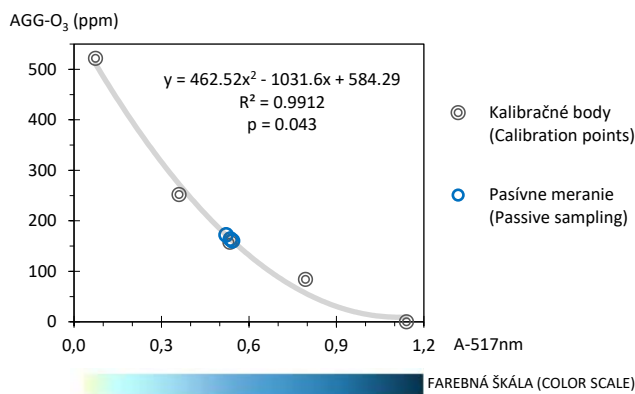


Obrázok 3.

Polynomický regresný vzťah medzi agregovanou koncentraciou O₃ (AGG-O₃, ppm) a absorpciou A-517nm odvodený na základe kalibračného merania v laboratórnych podmienkach (kalibračné body) a hodnoty A-517nm pre IF exponované vo vonkajšom prostredí na ObSP počas vegetačného obdobia 2023 (modré krúžky).

Figure 3.

Polynomial regression between aggregated O₃ concentration (AGG-O₃, ppm) and A-517nm of IF based on calibration measurement in laboratory conditions (calibration points) and A-517nm for IF exposed in the field conditions at ObSP during GS 2023 (blue circles).



Monitoring O₃ realizovaný pomocou aktívneho merania na ObSP bol doplnený pasívnymi snímačmi na báze IF. Testovanie citlivosti IF na AGG-O₃ v laboratórnych podmienkach potvrdilo predpokladanú chemickú odozvu indiga na O₃, ktorá je identifikovateľná aj vo farebnej škále od tmavomodrej (bez expozície O₃) až po bledožltú (extrémne vysoká expozícia O₃). Kalibračná krivka (Obr. 3) definovaná polynomickou rovnicou $y = 462,52x^2 - 1031,6x + 584,29$ ukazuje silnú korelačnú závislosť ($R^2 = 0,9912$, p -hodnota $< 0,05$) medzi sledovanými veličinami: $y = \text{AGG-O}_3$ (ppm), $x = \text{A-517nm}$. Hodnoty absorpcie A-517nm pre IF exponované počas vegetačného obdobia 2023 na ObSP sa pohybovali na úrovni $0,534 \pm 0,011$ (Obr. 3). Po prepočte podľa kalibračnej rovnice sme získali sezónne koncentrácie AGG-O₃ (P) = 165 ppm, resp. AVG-O₃ (P) = 56,3 ppb. Sú to podstatne vyššie hodnoty ako priemerné sezónne koncentrácie O₃ monitorované pasívnymi snímačmi na báze indiga v období 2015–2020 v lesnom prostredí Kremnických vrchov (20 až 30 ppb; Janík et al., 2023). Uvedené výsledky sú však v súlade s údajmi z monitorovacej siete O₃ na Slovensku, ktoré potvrdzujú nárast priemerných ročných koncentrácií O₃ s nadmorskou výškou (Štefánik a Šedivá, 2022; SHMÚ, 2023). Odchýlky medzi pasívnym a aktívnym meraním na ObSP pre AGG-O₃, resp. AVG-O₃, boli podstatne nižšie (+7 %, Tab. 1) v porovnaní s inými metódami pasívneho monitoringu, kde sa rozdiely pohybovali v rozsahu –14 % až 77 % (Pitar et al., 2018).

Výsledky testovania biologickej odozvy borovice horskej na O₃ pomocou modifikovanej EL metódy potvrdili nárast poškodenia INX-O₃ so zvyšujúcou sa expozíciou AGG-O₃ (Obr. 4 vľavo). $\text{INX}_0 = 11,32\%$ odvodený z regresného

vzťahu $y(\text{INX}_0) = 11,3153\exp(0,0007x)$ pre $x(\text{AGG-O}_3) = 0$ bol použitý na výpočet OxS a odvodenie závislosti medzi OxS a AGG-O₃ (Obr. 4 vpravo). Z uvedeného vzťahu vyplýva, že mierne narušenie oxidačnej stability $0 \geq \text{OxS} \geq 0,05$ sa môže prejavovať pri pomerne vysokých hodnotách $171,1 \text{ ppm} \leq \text{AGG-O}_3 \leq 478,9 \text{ ppm}$ (Tab. 1). Výrazný pokles OxS $< -0,40$ sme zaznamenali pri AGG-O₃ $> 2100 \text{ ppm}$ (Obr. 4 vpravo). Agregované hodnoty AGG-O₃ od 500 do 2100 ppm prepočítané na priemerné sezónne hodinové AVG-O₃ v rozsahu od 171 do 717 ppb predstavujú približne 3 až 13 násobok dlhodobého priemeru 51,6 ppb (Lukasová et al., 2022). Výskyt takýchto extrémne vysokých koncentrácií O₃ v prízemnej vrstve atmosféry je vysoko nepravdepodobný, preto riziko poškodenia borovice horskej oxidačným stresom z O₃ sa javí ako nízke.

Porovnanie výstupov DO₃SE modelu pre AOT40, Fst a MO₃D s použitím vstupných údajov z aktívneho (A) a pasívneho (P) monitoringu O₃ znázorňuje Obr. 5. Priebeh Fst poukazuje na mierne vyššie hodnoty Fst (P) ako Fst (A) v druhej polovici vegetačného obdobia, čo spôsobilo, že MO₃D (P) = 11,6 mmol m⁻² na konci vegetačného obdobia prevýšila MO₃D (A) = 10,9 mmol m⁻² asi o 6,4 % (Tab. 1). Korelačné koeficienty (Tab. 2) zdôrazňujú tesnejšiu závislosť medzi Fst a meteorologickými faktormi (AT, VPD, PAR) ako medzi Fst a koncentraciou O₃ (korunová výška 2 m). Hodnotu MO₃D tak viac ovplyvňujú meteorologické podmienky ako samotný O₃. Pri modelovaní MO₃D je preto možné uvažovať aj s použitím AVG-O₃ z pasívnych IF. Naopak, podstatne vyšší rozdiel (+42,4 %) v prípade AOT40 (Tab. 1) naznačuje, že výpočet tejto metriky s použitím AVG-O₃ (P) má orientačný charakter.

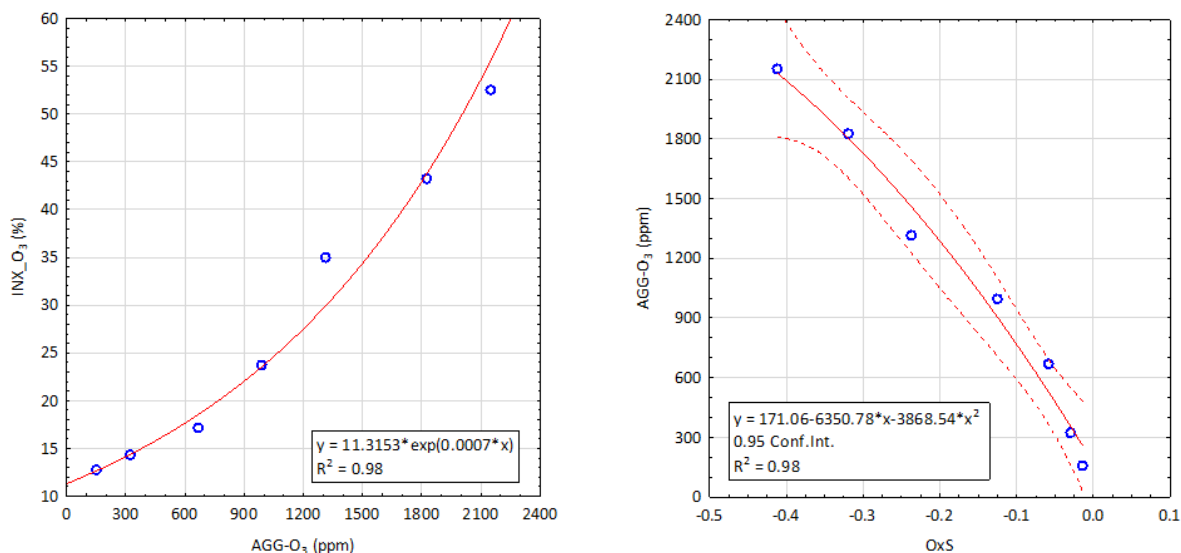
Tabuľka 1. Koncentrácie O₃ (agregovaná AGG-O₃ a priemerná AVG-O₃) a odvodené O₃ metriky (MO₃D a AOT40) na hodnotenie účinku O₃ na borovicu horskú pre dva odlišné spôsoby monitorovania O₃ (aktívny – A, pasívny – P) na ObSP počas vegetačného obdobia 2023; projekcia predstavuje odhad jednotlivých ukazovateľov v prípade OxS = 0 (limitná úroveň) a OxS = –0,05 (pokles oxidačnej stability o 5 %).

Table 1. Comparison of O₃ concentrations (aggregated AGG-O₃, average AVG-O₃) and derived O₃ metrics (MO₃D, AOT40) to assess the effect of O₃ on dwarf mountain pine for two different O₃ monitoring methods (active A, passive P) at ObSP during of GS 2023; projection represents estimation of presented characteristic for OxS = 0 (limit value) and OxS = –0.05 (decrease of oxidation stability by 5%).

	OxS	AGG-O ₃ (ppm)			AVG-O ₃ (ppb)			MO ₃ D (mmol m ⁻²)			AOT40 (ppm h)		
		(A)	(P)	Δ	(A)	(P)	Δ	(A)	(P)	Δ	(A)	(P)	Δ
Vegetačné obdobie (GS) 2023	OxS > 0	154,4	165	6,9%	52,7 ± 7,1	56,3	6,8%	10,9	11,6	6,4%	6,6	9,4	42,4%
Projekcia (Projection)	OxS = 0	171,1	:	:	58,4	:	:	≈ 11,9	:	:	:	:	:
	OxS = –0,05	478,9	:	:	163,6	:	:	≈ 33,3	:	:	:	:	:

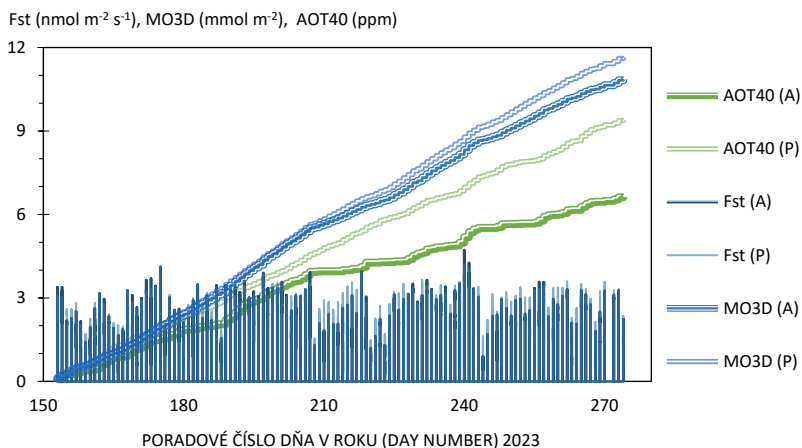
Obrázok 4. Regresné vzťahy medzi agregovanou koncentráciou O_3 (AGG- O_3 , ppm) a indexom poškodenia INX- O_3 (vľavo) a oxidačnou stabilitou (OxS) (vpravo) odvodené na základe simulácie oxidačného stresu na vzorke ihličia borovice horskej na konci vegetačného obdobia 2023; oxidačný stres bol simulovaný v laboratórnych podmienkach s použitím umelo generovaného O_3 pri kontrolovanej koncentrácii O_3 s rôznou dobou expozície (1h, 3h, 5h, 7h, 10h, 12 h).

Figure 4. Relationships between aggregated O_3 concentration (AGG- O_3 , ppm) and injury index INX- O_3 (left) and oxidative stability (OxS) (right) based on the simulation of oxidative stress on dwarf mountain pine needle samples collected at the end of GS 2023; oxidative stress was simulated in laboratory conditions using artificially generated O_3 at a controlled O_3 concentration with different exposure times (1h, 3h, 5h, 7h, 10h, 12 h).



Obrázok 5. Výsledky modelu DO_3SE pre stomatálny tok O_3 (Fst) a O_3 metriky (AOT40, MO_3D) pre borovicu horskú odvodené na základe vstupných údajov z aktívneho (A) a pasívneho (P) spôsobu monitorovania koncentrácie O_3 na ObSP počas vegetačného obdobia 2023.

Figure 5. Results of DO_3SE model for stomatal O_3 flux (Fst) and O_3 metrics (AOT40, MO_3D) and derived for dwarf mountain pine considering two different O_3 monitoring methods: active (A) and passive (P) used at the study site ObSP during GS 2023.



Hodnota AOT40(A) = 6,6 ppm h (Tab. 1) znamená prekročenie kritickej úrovne AOT40 pre lesnú vegetáciu (5 ppm h) a naznačuje škodlivý účinok O_3 na borovicu horskú vo vyšších polohách Vysokých Tatier. Táto kritická úroveň bola v priemere za obdobie 2018–2022 prekročená aj na ďalších horských lokalitách, ktoré sú začlenené do monitorovacej siete kvality ovzdušia SHMÚ. Priemerné hodnoty pre Kojšovskú hoľu (6,8 ppm h) a Chopok (12,3 ppm h) však reprezentujú AOT40 na ochranu vege-

tácie s kratšou dĺžkou vegetačného obdobia (máj – júl) a sú posudzované podľa cieľovej hodnoty AOT40 pre ochranu vegetácie (18 000 $\mu\text{g m}^{-3}$ alebo 9 ppm h). Podľa tohto kritéria, škodlivý účinok O_3 by sa mal prejavíť iba na vegetácii v oblasti Chopku. Ak by sme pre ObSP uvažovali vstupnú koncentráciu O_3 v normalizovanej výške 20 m a skrátené 3 mesačné obdobie (jún – august), potom hodnota AOT40 (A) = 12,0 ppm h by bola na úrovni porovnateľnej s lokalitou Chopok.

Veľká časť európskych lesov je vystavená O_3 koncentráciám, ktoré vedú k prekročeniu cieľovej hodnoty AOT40 (Horálek et al., 2020). Hoci AOT40 je legislatívne záväzným ukazovateľom pre hodnotenie vplyvu O_3 na vegetáciu, v posledných rokoch je preferovaná metrika PODY (Emberson et al., 2000; Karlsson et al.,

2007; Ducker et al., 2018). Hodnotenie fytotoxického účinku ozónovej dávky prijatej rastlinou v jej prirodzenom prostredí však vyžaduje ďalší výskum zameraný na sledovanie biologickej odozvy rastliny na O_3 . Ozónová dávka prijatá rastlinou cez otvorené prieduchy môže vytvárať reaktívne formy kyslíka (ROS) a nežiadúcou oxidáciou narušiť tok elektrolytu v bunke. Metóda úniku elektrolytu je metodika používaná na testovanie integrity bunkovej membrány rastlín v stresových podmienkach

(Levitt, 1972; Lee and Zhu, 2010). Výsledky modifikovanej EL metódy (Bičárová et al., 2023) ukázali pomerne dobrú odolnosť borovice horskej na O₃ dávky prijaté v prirodzenom prostredí ako aj pri umelej ozonizácii. Podľa modelového výpočtu, borovica horská vo vonkajších podmienkach pri koncentráciách AGG-O₃ (A) = 154,4 ppm, resp. AVG-O₃ (A) = 52,7 ± 7,1 ppb prijala počas vegetačného obdobia 2023 dávku MO₃D (A) = 10,9 mmol m⁻² (Tab. 1). Táto hodnota neprevýšila spodnú úroveň MO₃D ≤ 11,9 mmol m⁻² projektovanú pre O_xS = 0 (Tab. 1). Testovanie vzoriek v laboratórnych podmienkach naznačuje výraznejšie poškodenie sprevádzané poklesom O_xS pri podstatne vyšších hodnotách AGG-O₃ (Obr. 4). Je možné predpokladať, že škodlivý účinok O₃ v dôsledku narušenia oxidačnej stability sa začne prejavovať pri hodnotách MO₃D ≥ 33,3 mmol m⁻². Podobné hodnoty kritickej úrovne ozónovej dávky (19 a 32 mmol m⁻²) boli odvodené na základe vzťahu medzi POD₀ a poškodením pozorovaným na povrchu ihličiek pre ihličnany s vysokou (borovica limbová, *Pinus cembra*) a strednou citlivosťou na O₃ (borovica lesná, *Pinus sylvestris*), (Sicard et al., 2016). V juhozápadnej Európe sú lesné spoločenstvá vystavené vysokým koncentráciám O₃ a spolu s ďalšími negatívnymi faktormi (deficit zrážok, pôdne sucho) predstavujú závažné riziko zhoršenia ich zdravotného stavu.

Tabuľka 2. Štatisticky významné korelácie ($p < 0,05$) vyjadrené Pearsonovým korelačným koeficientom (r) medzi modelovaným stomatálnym tokom O₃ – Fst a vstupnými údajmi: koncentrácia O₃ z aktívneho merania prepočítaná na korunnú výšku – O₃ (A), teplota vzduchu – AT, sýtosťný doplnok – VPD, fotosynteticky aktívne žiarenie – PAR a potenciál pôdnej vody – SWP), ktoré sú relevantné pre výpočet MO₃D.

Table 2. Statistically significant correlations ($p < 0.05$) expressed by Pearson's coefficient (r) between modelled stomatal O₃ flux – Fst and model input variables: O₃ concentration from active monitoring recalculated at canopy height – O₃ (A), air temperature – AT, vapour pressure deficit – VPD, photosynthetically active radiation – PAR and soil water potential – SWP, relevant for the calculation of MO₃D.

Modelové premenné (Model variables)	O ₃ (A) (ppb)	AT (°C)	VPD (kPa)	PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	SWP (MPa)
Fst (nmol m ⁻² s ⁻¹)	0,34	0,61	0,55	0,78	-0,14

4 ZÁVER

Cieľom tejto práce bolo overiť možnosť použitia pasívnej indigovej metódy pre výpočet O₃ metrík (MO₃D, AOT40) a pomocou bioindikátora O_xS preskúmať citlivosť borovice horskej na expozíciu O₃ vo vysokohorskom prostredí. Výsledky poukazujú na porovnateľné výsledky AGG-O₃ (ppm) a AVG-O₃ (ppb) pre aktívny i pasívny spôsob merania. Výraznejšie rozdiely sa prejavili pri modelovom výpočte O₃ metrík. Nahradenie automatických meraní O₃ priemernou sezónnou AVG-O₃ (P) spôsobilo zvýšenie MO₃D o 6,4 % a ATO40 o 42,4 %. Uvedené rozdiely môžu byť ovplyvnené charakterom denného chodu O₃. Zhladený denný priebeh v prípade AVG-O₃ (P) nezohľadňuje variabilitu 1-h koncen-

trácií O₃ počas dňa a do O₃ metrík vnáša určité neistoty, ktoré sa prejavili najmä pri výpočte AOT40, kde má koncentrácia O₃ kľúčový význam. Koncentrácia O₃ je dôležitá aj pri výpočte MO₃D, avšak ako naznačuje korelačná analýza, vplyv meteorologických faktorov je výraznejší. AVG-O₃ (P) preto môže byť prijateľnou alternatívou pre MO₃D, pričom výpočet AOT40 má len orientačný charakter. Hodnotenie škodlivého účinku O₃ na borovicu horskú v oblasti ObSP na základe AOT40 (A) = 6,6 ppm h indikuje prekročenie kritickej úrovne pre ochranu lesných drevín (5 ppm h) v priebehu vegetačného obdobia 2023. Testovanie citlivosti asimilačných orgánov borovice horskej v laboratórnom prostredí však ukázalo, že tento druh vysokohorskej dreveniny veľmi dobre odoláva oxidačnému stresu. Zistili sme, že MO₃D prijatá borovicou horskou počas vegetačného obdobia 2023 bola v obidvoch prípadoch, t. j. z aktívneho (10,9 mmol m⁻²) i pasívneho (11,6 mmol m⁻²) monitoringu O₃ nižšia ako hodnota MO₃D (11,9 mmol m⁻²) projektovaná pre O_xS = 0. Výraznejší škodlivý účinok O_xS < -0,05 by sa mohol prejavovať po prekročení hodnoty MO₃D = 33,3 mmol m⁻².

PodĎakovanie

Táto práca vznikla s podporou Vedeckej grantovej agentúry Slovenskej republiky, projekt VEGA 2/0093/21. Autori ďakujú Slovenskému hydrometeorologickému ústavu za spoluprácu pri zabezpečení meraní na observatóriu Skalnaté Pleso, Ústavu hydrologie SAV za zapožičanie prístrojového vybavenia a Ing. J. Adamčákovi za technickú pomoc pri konštrukcii pasívneho snímača použitého v tejto práci.

5 LITERATÚRA

- Bičárová, S.–Lukasová, V.–Adamčíková, K.–Žatková, L.–Milovský, R.–Shashikumar, A.–Pažitný, J.–Buchholcerová, A.–Bilčík, D., 2023, Modified electrolyte leakage method for testing the oxidative stability of *Pinus mugo* Turra under ozone-induced stress. *Folia Oecologica*, 50/1, 1–15. <https://doi.org/10.2478/foecol-2023-0001>.
- Bičárová, S.–Sitková, Z.–Pavlenková, H.–Fleischer, P. Jr.–Fleischer, P. Sr.–Bytnerowicz, A., 2019, The role of environmental factors in ozone uptake of *Pinus mugo* Turra. *Atmospheric Pollution Research*, 10, 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2018.08.003>.
- Bičárová, S.–Sojáčková, M.–Burda, C.–Fleischer, P., 2005, Summer ground level ozone maximum in Slovakia in 2003. *Contributions to Geophysics and Geodesy*, 35, 265–279.
- CLRTAP, 2017, Mapping Critical Levels for Vegetation, Chapter III of Manual on methodologies and criteria for modelling and mapping critical loads and levels and air pollution effects, risks and trends. UNECE Convention on Long range Transboundary Air Pollution, www.icpmapping.org.
- Ducker, J.A.–Holmes, C.D.–Keenan, T.F.–Fares, S.–Goldstein, A.H.–Mammarella, I.–Munger, J.W.–Schnell, J., 2018, Synthetic ozone deposition and stomatal uptake at flux tower sites. *Biogeosciences*, 15, 5395–5413. <https://doi.org/10.5194/bg-15-5395-2018>.
- Emberson, L.D.–Ashmore, M.R.–Cambridge, H.M.–Simpson, D.–Tuovinen, J.P., 2000, Modelling stomatal ozone flux across Europe. *Environ. Pollut.*, 109, 403–413. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00043-9](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00043-9).

- EU, 2008, *EU directive 2008/50/EC of the European parliament and of the council on Ambient Air Quality and Cleaner Air for Europe*. <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2008/50/oj>.
- Flint, H.L.–Boyce, B.R.–Beattie, D.J., 1967, *Index of injury—a useful expression of freezing injury to plant tissues as determined by the electrolytic method*. *Canadian Journal of Plant Sciences*, 47, 229–230, <https://doi.org/10.4141/cjps67-043>.
- Fuhrer, J.–Skärby, L.–Ashmore, M.R., 1997, *Critical levels for ozone effects on vegetation in Europe*. *Environmental Pollution*, 97/1–2, 91–106, [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(97\)00067-5](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(97)00067-5).
- Horálek, J.–Schreiberová, M.–Vlasáková, L.–Marková, J.–Kurfürst, P.–Schováňková, J.–Schneider, P.–Tognet, F.–González Ortiz, A.–Guerreiro, C., 2020, *European air quality maps for 2018*. Eionet Report ETC/ATNI 2020/10 <https://sdi.eea.europa.eu/catalogue/srv/eng/catalog.sear.ch#metadata/282ed4e9-d58a-44ae-8c48-e688bdfed281>.
- Janík, R.–Kubov, M.–Schieber, B., 2023, *The ground-level ozone concentration in forest and urban environments in central Slovakia*. *Environ Monit Assess* 195, 24, <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10605-8>.
- Jarvis, P. G., 1976, *The interpretation of the variations in leaf water potential and stomatal conductance found in canopies in the field*. *Philos. T. Roy. Soc. Lond. B*, 87, 593–610, <https://doi.org/10.1098/rstb.1976.0035>.
- Karlsson, P.E.–Braun, S.–Broadmeadow, M.–Elvira, S.–Emberson, L.–Gimeno, B.S.–Le Thiec, D.–Novak, K.–Oksanen, E.–Schaub, M.–Uddling, J.–Wilkinson, M., 2007, *Risk assessments for forest trees: The performance of the ozone flux versus the AOT concepts*, *Environ. Pollut.*, 146, 608–616, <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.06.012>.
- Krupa, S.–Nosal, M.–Peterson, D.L., 2001, *Use of passive ambient ozone (O₃) samplers in vegetation effects assessment*, *Environmental Pollution*, 112/3, 303–309, [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00228-1](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00228-1).
- Lee, B.–Zhu, J.K., 2010, *Phenotypic analysis of Arabidopsis mutants: electrolyte leakage after freezing stress*. *Cold Spring Harbor Protocols*(pdb.prot4970), <https://doi.org/10.1101/pdb.prot4970>.
- Levitt, J., 1972, *Responses of plants to environmental stresses*. New York: Academic Press, xiv, 698 pp.
- Lukasová, V.–Bičárová, S.–Buchholcerová, A.–Adamčíková, K., 2022, *Low sensitivity of Pinus mugo to surface ozone pollution in the subalpine zone of continental Europe*. *Int J Biometeorol* 66, 2311–2324, <https://doi.org/10.1007/s00484-022-02359-2>.
- Lukasová, V.–Varšová, S.–Buchholcerová, A.–Onderka, M.–Bilčík, D., 2023, *Changes in the high-altitude climate of High Tatra Mts. evaluated by climatic normals from the Skalnaté Pleso Observatory*. *In Meteorological Journal*, 26/1, 47–52.
- Maruo, Y.Y.–Kunioka, T.–Akaoka, K.–Nakamura, J., 2009, *Development and evaluation of ozone detection paper*, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 135/2, 575–580, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2008.09.016>.
- Mills, G.–Pleijel, H.–Braun, S.–Bueker, P.–Bermejo, V.–Calvo, E.–Danielsson, H.–Emberson, L.–Gonzalez Fernandez, I.–Gruenhage, L.–Harmens, H.–Hayes, F.–Karlsson, P.E.–Simpson, D. (2011). *New stomatal flux-based critical levels for ozone effects on vegetation*. *Atmospheric Environment*, 45(28), 5064–5068, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2011.06.009>.
- Paoletti, E.–Materassi, A.–Fasano, G.–Hoshika, Y.–Carriero, G.–Silaghi, D.–Badea, O., 2016, *A new-generation 3D ozone FACE (Free Air Controlled Exposure)*. *Science of The Total Environment*, 575: 1407–1414, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.217>
- Pitar, D.–Popa, I.–Leca, S.–Badea, O., 2018, *Passive vs. active: Applicability of Loibl function in modelling hourly ozone concentrations from passive samplers in Romanian Intensive Monitoring Network*. *In International conference on ozone and plant ecosystem*, 21–25 May, 2018. Florence : ICP Vegetation, p. 32.
- SEI, 2023, *DO₃SE (Deposition of ozone for stomatal exchange)*. <https://www.sei-international.org/do3se>.
- SHMÚ, 2023, *Správa o kvalite ovzdušia v roku 2022*. https://www.shmu.sk/File/oko/rocniky/2022_Sprava_o_KO_v_SR_v1.pdf.
- Sicard, P.–De Marco, A.–Dalstein-Richier, L.–Tagliaferro, F.–Renou, C.–Paoletti, E., 2016, *An epidemiological assessment of stomatal ozone flux-based critical levels for visible ozone injury in Southern European forests*, *Sci. Total Environ.*, 541, 729–741, <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.113>.
- Štefánik, D.–Šedivá, T., 2022, *Denný chod koncentrácií NO₂, NO a O₃ na staniciach národnej monitorovacej siete kvality ovzdušia v rokoch 2010–2020*, https://www.shmu.sk/File/ExtraFiles/MET_CASOPIS/1658950036_MC_2022-1.pdf.
- Yuska, D.E.–Skelly, J.M.–Ferdinand, J.A.–Stevenson, R.E.–Savage, J.E.–Mulik, J.D.–Hines, A., 2003, *Use of bio-indicators and passive sampling devices to evaluate ambient ozone concentrations in north central Pennsylvania*, *Environmental Pollution*, 125/1, 71–80, [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00096](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00096).