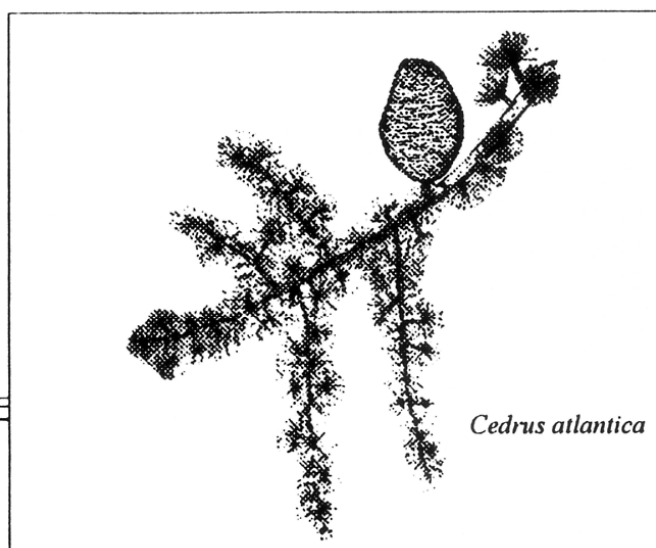


BIOINDICATORI



ATTIVITÀ PEROSSIDASICA IN CONIFERE UTILIZZATE PER IL MONITORAGGIO DELL'INQUINAMENTO IN AMBIENTE URBANO

Daniela Cesaroni¹, Vita D'Erchia¹

Uno strumento di grande utilità per la valutazione della qualità dell'ambiente è il biomonitoraggio il cui fine non è la misura di una emissione, ma la valutazione dell'assunzione e del danno subito da un organismo.

La lettura e l'interpretazione dei cambiamenti cui sono soggetti gli organismi è una valida strategia per la qualificazione e la quantificazione dell'inquinamento: studiando le alterazioni fisiologiche, morfologiche e anatomiche degli organismi, valutando la rarefazione delle comunità e segnalando la scomparsa di specie, è possibile individuare aree in cui l'inquinamento ha raggiunto livelli di pericolosità.

È interessante ricordare che una delle prime osservazioni sulla qualità dell'aria, è stata compiuta da Nylander nel 1866 grazie agli studi delle popolazioni licheniche, considerate efficaci e sensibili indicatori. Oggi la maggior parte degli studi è effettuata al di fuori dell'ecosistema urbano perché all'interno dello

stesso si riscontra quasi sempre una condizione di "deserto lichenico" dovuto alla contaminazione generalizzata dell'atmosfera da parte di inquinanti (CAMUFFO e coll., 1988a e 1988b; CANIGLIA e coll., 1988a e 1988b; LEBLANC e coll., 1970; KAUPPI e coll., 1980; PIERVITTORI e coll., 1980/81).

Molti vegetali, grazie alla loro elevata sensibilità e capacità di accumulo sono stati utilizzati come mezzi di indagine (BAGNI e coll., 1993; LORENZINI, 1981); grazie a questi studi sono state individuate alcune modifiche metaboliche dovute alla presenza di inquinanti. Alterazioni enzimatiche sono state rilevate su piante di interesse agronomico e forestale (GODZIK, 1967; LEE e coll., 1966).

In particolare, è stato dimostrato un incremento di attività dell'enzima perossidasi in piante esposte a gas inquinanti, prima ancora che siano presenti danni visibili (DAVIS e coll., 1968; LEE e coll., 1966; KELLER, 1974; WODD e coll., 1972).

Le prime ricerche sulla perossidasi sono state condotte da SANDERS (1964): ad essa sono state ascritte numerose funzioni nella fisiologia della pianta (GA-

¹ Azienda USL Città di Bologna, P.M.P., settore Bio-Tossicologico

SPAR e coll., 1982) e nelle relative reazioni chimiche in cui è coinvolta (DUNFORD e coll., 1976).

La perossidasi, la super ossido dismutasi e l'acido ascorbico giocano un ruolo importante nel mantenimento di un adeguato potenziale redox nelle cellule delle foglie e possono proteggere la membrana cellulare dagli ossidanti attivi provenienti da fonti esogene (CASTILLO e coll., 1987).

L'attività perossidasi è anche influenzata da stress abiotici o biotici (CASTILLO, 1986; CASTILLO e coll., 1987; DECLEIRE e coll., 1984; HARPER e coll., 1978; BECKER e coll., 1990; LANGEBAEELS e coll., 1989; MANES e coll., 1986 e MANES e coll., 1987).

Esiste una correlazione molto stretta tra l'aumento dell'attività perossidasi ed i processi di *wall-stiffening* (ispessimento della parete) e di lignosubificazione, dovuti di solito a stress da ferite (ANGELINI, 1983-86; ANGELINI e coll., 1989; ESPELIE e coll., 1985; GOLDBERG e coll., 1983; GOLDBERG e coll., 1985; LAMPORT, 1986; FRY, 1986; MADER e coll., 1975; SIEGEL, 1955).

La perossidasi è coinvolta anche in alcuni processi biochimici di detossificazione e di senescenza (BURRIS, 1960; CADENAS, 1980; GALSTONE e coll., 1968; PATRA, 1979).

Partendo dall'esperienza di alcuni autori (BRAGALONI e coll., 1993; MANES e coll., 1989) ci siamo proposti di valutare l'utilizzo della perossidasi come indicatore biologico per indagini sia su base locale, in riferimento a specifici episodi di inquinamento, sia nell'ambito di programmi integrati di controllo della qualità dell'aria.

MATERIALI E METODI

Selezione delle zone campionate

Le zone di campionamento sono state individuate in base ai dati forniti dalle centraline S.A.R.A. (Sistema Automatizzato Rilevamento Ambientale) per il controllo della qualità dell'aria nel territorio urbano di Bologna, in conformità alla legislazione vigente in materia (DPCM 28.3.83 e DPR 203/88).

Su tale base sono state individuate: una zona poco esposta (+) al traffico veicolare, comprendente un grosso parco cittadino e un'area esterna, sui colli che circondano la città; una zona molto esposta (+++), delimitata da viali alberati alla periferia cittadina; una

zona mediamente esposta (++) , non monitorata dalla centralina, ma situata tra le altre due zone.

Campionamento del materiale vegetale

Per la sua diffusa presenza locale è stato scelto il *Cedrus atlantica* var. *glauca*. La scelta degli esemplari campione è una fase delicata e di estrema importanza: per garantire risultati affidabili e confrontabili sono stati scelti individui il più possibile omogenei tra loro per età, sviluppo ed ambiente edafico, selezionandoli scrupolosamente tra quelli privi di ogni tipo di alterazione, causata sia da agenti abiotici che biotici.

A ogni pianta campione sono stati prelevati 10 rametti terminali di circa 15-20 cm in porzioni diverse della chioma. Considerate le dimensioni degli esemplari i prelievi del materiale fogliare sono stati effettuati, con l'ausilio di uno sveltatoio, a tre diverse altezze: 3 metri (chioma inferiore-A), 4 metri (chioma media-B) e 5 metri (chioma superiore-C); i campionamenti sono stati effettuati nei mesi di settembre e di novembre 1994.

In ogni stazione sono state misurate la temperatura e l'umidità relativa atmosferica, elementi importanti per una valutazione completa di ogni luogo preso in esame.

Estrazione e determinazione enzimatica

I campioni, trasportati in un frigorifero portatile, in laboratorio sono stati pesati e omogeneizzati in mortaio con una soluzione tampone a pH 7,2 rispettando un rapporto di 5 ml di soluzione tampone per 1 g di tessuto fresco.

L'omogenato ottenuto è stato sottoposto a centrifugazione a 4 °C (12.000 giri/minuto per 10 minuti) e il supernatante è stato utilizzato per la determinazione della perossidasi.

L'attività della perossidasi, espressa in unità enzimatiche per grammo di tessuto fresco, è stata determinata seguendo la formazione del tetraguaiacolo secondo ANGELINI e FEDERICO (1989), aggiungendo guaiacono come substrato.

RISULTATI

Nelle tab. 1 e 2 sono riportati i parametri chimici monitorati dalle centraline SARA, relativi ai mesi di settembre e novembre, per la zona più esposta e al mese di novembre per la zona meno esposta.

Tab. 1 - Parametri rilevati dalle centraline SARA nella zona Fiera, la più esposta (+++)^(a)

		Settembre '94			Novembre '94		
		Massimo mensile	Medio mensile	Minimo mensile	Massimo mensile	Medio mensile	Minimo mensile
SO ₂	(µg/m ³)	59	11	0	74	21	0
NO ₂	(µg/m ³)	205	100	29	185	84	33
CO	(mg/m ³)	8.9	1.8	0	10.2	2.4	0.1
PTS	(µg/m ³)	-	-	-	344	127	2

^(a) Zone poco (+), mediamente (++) e molto (+++) esposte al traffico veicolare.

Tab. 2 - Parametri rilevati dalle centraline SARA ai Giardini Margherita, la zona meno esposta (+)^(a)

		Novembre '94		
		Massimo mensile	Medio mensile	Minimo mensile
SO ₂	(µg/m ³)	51	11	2
NO ₂	(µg/m ³)	187	59	2
CO	(mg/m ³)	3.4	0.3	0
O ₃	(µg/m ³)	75	16	1
PTS	(µg/m ³)	187	76	30

^(a) Zone poco (+), mediamente (++) e molto (+++) esposte al traffico veicolare.

I risultati dell'attività perossidasi sono riportati nella tabella 3.

La figura 1 mostra il confronto tra la zona più esposta (+++) e quella collinare (+), campionate in settembre.

La figura 2 confronta i valori di novembre dello stesso albero della zona più esposta (+++) preso in esame in settembre con quelli dell'albero del parco cittadino (+).

La figura 3 mostra il confronto dell'attività perossidasi della zona più esposta (+++) fra il mese di settembre e novembre.

La figura 4, riassuntiva per tutte le zone campionate, mostra con evidenza i diversi livelli di perossidasi.

DISCUSSIONE

Prima di commentare il dato biologico, ottenuto dagli alberi campionati, è opportuno prendere in esame il dato chimico proveniente dalle centraline SARA considerate.

Da questi dati (Tab. 1), è evidente la diversa

qualità dell'aria per la zona più esposta (+++), rispetto ai mesi considerati (settembre-novembre). A novembre i parametri monitorati sono più alti rispetto al mese di settembre, a riprova dell'influenza delle condizioni climatiche e dell'incremento del traffico veicolare dopo la pausa estiva.

Nel novembre la realtà del parco cittadino è qualitativamente migliore: anche il monitoraggio precedente di questa centralina, confrontato con le altre, considera questa area come la meno inquinata.

Una prima analisi del dato biologico conferma i diversi livelli di attività perossidasi in relazione ai livelli di inquinamento (BRAGALONI e coll., 1993; MANES e coll., 1989; KELLER, 1974).

Nonostante siano state considerate poche aree, i diversi livelli di attività enzimatica sono stati ben rilevati dalla metodologia di saggio adottata.

In generale è stato registrato un gradiente di attività nell'ambito della specie considerata e delle zone scelte. Per il potenziale idrico, che determina la fuoriuscita della linfa dal picciolo fogliare, sono stati riscontrati valori leggermente più elevati nelle zone più soggette a traffico come confermano altri Autori (BRAGALONI e coll., 1993).

La zona più esposta (+++) è stata confrontata con una zona fuori dall'area urbana, per valutare l'incremento dell'attività perossidasi in area urbana rispetto alla suburbana (Fig. 1; Tab. 3A e 3B). Successivamente, il confronto è stato individuato in area urbana (Fig. 2; Tab. 3C e 3D). L'incremento dell'umidità relativa in novembre, in zona suburbana, non ci ha permesso di utilizzare lo stesso albero campionato a settembre poiché la perossidasi è influenzata da alti livelli di umidità (KELLER, 1974).

Nella zona molto esposta non sono state osservate differenze significative dell'attività perossidasi tra

Tab. 3 - Quadro riassuntivo dei dati misurati: A e C nella zona meno esposta; B e D nella zona più esposta; E nella zona mediamente esposta. A e B nel settembre '94; C, D ed E nel novembre '94.

		A - Villa Ghigi (Sett. '94) (+) ^(a)					B - Fiera (Sett. '94) (+++) ^(a)				
Chioma	Camp. N°	T °C	U.R. ^(b) %	Pressione bar ^(c)	Perossi-dasi U/g	Media	T °C	U.R. ^(b) %	Pressione bar ^(c)	Perossi-dasi U/g	Media
A (inferiore)	1	22	68	14	1.71		25	65	20	2.42	
	2	22	68	15	1.48		25	65	19	2.62	
	3	22	68	14	1.40		25	65	19	1.50	
	4	22	68	13	1.09	1.42	25	65	18	2.62	2.29
B (media)	5	22	68	15	1.09		25	65	18	2.33	
	6	22	68	16	0.70		25	65	18	1.94	
	7	22	68	14	1.09	0.96	25	65	18	2.23	2.16
C (superiore)	8	22	68	16	1.71		25	65	22	1.84	
	9	22	68	15	1.71		25	65	21	1.36	
	10	22	68	16	1.01	1.47	25	65	22	2.52	1.90
		C - Giardini Margherita (Nov. '94) (+) ^(a)					D - Fiera (Nov. '94) (+++) ^(a)				
Chioma	Camp. N°	T °C	U.R. ^(b) %	Pressione bar ^(c)	Perossi-dasi U/g	Media	T °C	U.R. ^(b) %	Pressione bar ^(c)	Perossi-dasi U/g	Media
A (inferiore)	1	10	90	11	1.35		9	90	14	2.87	
	2	10	90	11	1.25		9	90	16	2.87	
	3	10	90	12	1.32		9	90	14	2.64	
	4	10	90	10	1.47	1.34	9	90	15	2.15	2.63
B (media)	5	10	90	12	1.08		9	90	13	1.92	
	6	10	90	11	1.02		9	90	15	2.15	
	7	10	90	10	1.07	1.05	9	90	16	2.25	2.10
C (superiore)	8	10	90	12	0.95		9	90	15	2.25	
	9	10	90	12	0.81		9	90	15	1.80	
	10	10	90	14	1.21	0.99	9	90	16	1.80	1.95
		E - Porta Saragozza (Nov. '94) (++) ^(a)									
Chioma	Camp. N°	T °C	U.R. ^(b) %	Pressione bar ^(c)	Perossi-dasi U/g	Media					
A (inferiore)	1	13	85	15	1.86						
	2	13	85	16	1.86						
	3	13	85	16	1.25						
	4	13	85	16	1.55	1.63					
B (media)	5	13	85	14	1.20						
	6	13	85	15	1.95						
	7	13	85	14	1.60	1.58					
C (superiore)	8	13	85	13	1.55						
	9	13	85	14	1.90						
	10	13	85	15	1.96	1.80					

^(a) Zone poco (+), mediamente (++) e molto (+++) esposte al traffico veicolare.

^(b) U.R. = Umidità Relativa

^(c) I valori di pressione sono riportati in valore assoluto

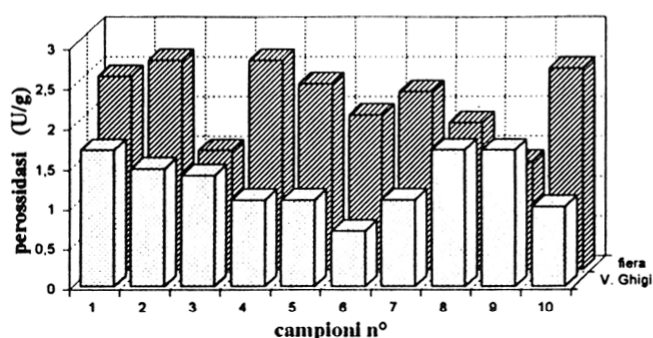


Fig. 1 - Confronto dell'attività perossidasi nel mese di settembre

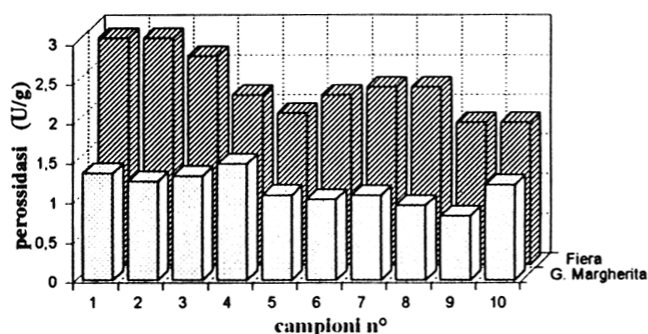


Fig. 2 - Confronto dell'attività perossidasi nel mese di novembre

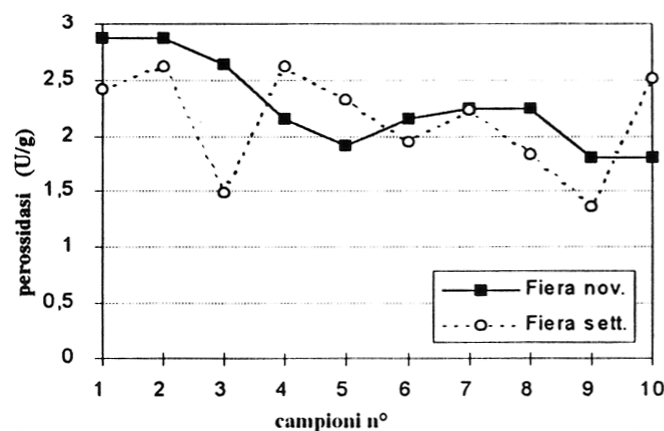


Fig. 3 - Confronto dell'attività perossidasi stagionale

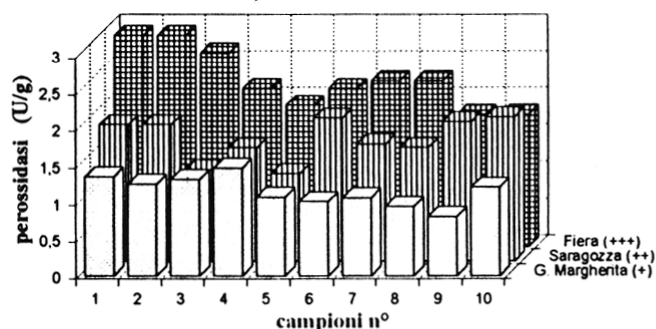


Fig. 4 - Confronto dell'attività perossidasi nel mese di novembre in tutte le zone campionate

il mese di settembre e novembre (Fig. 3; Tab. 3B e 3D). In questo caso il dato biologico non coincide con il dato chimico; ciò potrebbe dipendere dalla tipologia dei dati.

La mancata correlazione tra il dato biologico e quello chimico, infatti, potrebbe essere legata al carattere istantaneo e molto variabile nel tempo di quest'ultimo, come risulta evidente dal confronto tra valori minimo, medio e massimo mensile (Tab. 1 e 2). Va osservato tuttavia che l'aumento dei livelli medi mensili di inquinamento tra settembre e novembre non è considerevole. Il mancato riscontro di un incremento dell'attività perossidasi potrebbe dunque essere attribuibile ad una minore sensibilità della risposta biologica o ad un "ritardo" della risposta stessa oppure ad una risposta non lineare che diviene evidente solo al di sopra di una certa soglia di inquinamento.

Sarebbe interessante poter seguire l'andamento della perossidasi nell'arco di un intero anno, per valutare l'entità e i tempi di risposta a variazioni considerevoli dei parametri chimici, periodi di interruzione e di ripresa del traffico.

Tuttavia il confronto dell'attività perossidasi tra le zone a diverso livello di inquinamento (fig. 4, tab. 3C, 3D e 3E) consente di considerare la perossidasi come un indice predittivo del danno da inquinamento (MANES e coll., 1989).

Nella zona più esposta (+++) l'attività perossidasi risulta infatti circa doppia rispetto alla meno esposta (+) mentre i valori intermedi si rilevano nella zona a media esposizione all'inquinamento.

CONCLUSIONI

La metodica applicata sembra ben predisposta per evidenziare situazioni di rischio ambientale.

L'utilizzo dell'indicatore biologico "perossidasi", contenuto in una centralina naturale, "l'albero", può fornire giudizi sintetici sulla qualità dell'aria e può rappresentare una quantificazione dell'impatto ambientale non solo sui vegetali ma anche sull'uomo, da confrontare e/o contrapporre ai dati puntiformi rilevati su pochi componenti chimici, in poche stazioni di rilevamento.

La scelta di una specie sempreverde e largamente diffusa nei viali e parchi cittadini consente di effettuare il monitoraggio anche nel periodo invernale in cui, anche per il ristagno di aria fredda e la presenza di

nebbia, l'inquinamento da traffico è più preoccupante. I dati biologici acquisiti possono fornire importanti elementi di valutazione da integrare con i dati chimici provenienti dalle centraline automatiche di rilevamento dell'inquinamento urbano.

Ringraziamenti

Si ringrazia per il prezioso aiuto il dr. Giuliano Cotti, il dr. Mario Filicori e il Sig. Giampaolo Baglioni del Settore Bio-Tossicologico e la dr.ssa Maurizia Zanini del Settore Fisico Ambientale del P.M.P. di Bologna.

BIBLIOGRAFIA

- ANGELINI R., 1983-1986. Aspetti fisiologici del catabolismo delle poliammine negli organismi vegetali. Tesi di Dottorato in Biologia Evoluzionistica.
- ANGELINI R., FEDERICO R., 1989. Histochemical evidence of polyamine oxidatio and generation of hydrogen peroxide in the cell wall. *J. Plant Physiol.*, **135**: 212-217.
- BAGNI N., SCARAMAGLI S., BREGOLI A.M., ANTOGNONI F., DINNELLA C., 1993. Inquinamento atmosferico e bioindicatori vegetali nell'area urbana di Bologna. *Inquinamento*, n. 9.
- BECKER K.H., BROCKMAN K.J., BECHARA J., 1990. Production of hydrogen peroxide in forest by reaction of ozone with terpenes. *Nature*, **346**: 256-258.
- BRAGALONI M., GARROU, PUCCINELLI P., 1993. Verifica di una metodica di monitoraggio dell'inquinamento atmosferico con piante di interesse forestale in ambiente urbano e suburbano. *Biologia Ambientale-Bollettino C.I.S.B.A.*, **31**: 9-15.
- BURRIS R.H., 1960. Hydroperoxidases (peroxidases and catalases). In: *Encycl. Pl. Physiol.*, Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, **XIII/I**: 365-400.
- CADENAS E., 1980. Biochemistry of oxygen toxicity. *Ann. Rev. Biochem.*, **58**: 79-110.
- CAMUFFO D., BERNARDI A., BACCI P., NOVO A., ONGARO A., 1988a. Aspetti chimico-fisici del trasporto transfrontaliero di inquinanti atmosferici in un valico delle Alpi Orientali. *Atti Conv. L'inquinamento atmosferico e il suo impatto sull'ambiente. Sep. Pollution*, Padova: 87:-108.
- CAMUFFO D., BERNARDI A., ONGARO A., BACCI P., NOVO A., 1988b. Condizioni meteorologiche favorevoli al trasporto di inquinanti atmosferici attraverso il passo del Brennero. *Atti Conv. Trasporto transfrontaliero di inquinanti atmosferici e stato dell'ambiente in zona alpina, Bressanone 27-28 ott.*, 32 pp.
- CANIGLIA G., BUSNARDO A., LUCHESCHI E., DE BENEDETTI M., 1988a. Licheni epifiti, bioindicatori di inquinamento atmosferico in Val di Isarco (BZ). *Atti Conv. L'inquinamento atmosferico e il suo impatto sull'ambiente, Sep. Pollution*, Padova: 333-338.
- CANIGLIA G., DE BENEDETTI M., BUSNARDO A., LUCHESCHI E., 1988b. La vegetazione lichenica epifita, indice ambientale in valle Isarco (BZ). *Thalassia Salentina*, Lecce, 18.
- CASTILLO F.J., 1986. Extracellular peroxidases as markers of stress? In *Molecular and physiological aspects of plant peroxidases*. H.Greppin, C.Penel, Th. Gaspar (eds) University Geneva, Switzerland.
- CASTILLO F.J., MILLER P.R., GREPPIN H., 1987. Extracellular biochemical markers of photochemical oxidant air pollution damage to Norway spruce. *Experientia*, **43**: 111-115.
- DAVIS D.D., WOOD F.A., 1968. Relative sensitivity of twenty-two tree species to ozone. *Phytopath.*, **58**: 399.
- DECLAIRE M., DE CAT W., DE TEMMERMAN L., BAETEN H., 1984. Modifications de l'activité des peroxidases, catalase et superoxide dismutase dans des feuilles d'épinard traitées à l'ozone. *J. Plant. Physiol.*, **116**: 147-152.
- DUNFORD H.B., STILLMAN J.S., 1976. On the function and mechanism of action of peroxidase. *Coord. Chem. Rev.*, **19**: 187-251.

- FRY S., 1986. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annal. Rev. Plant Physiol.*, **37**: 165-186.
- GALSTON A.W., LAVEES S., SIEGEL B.Z., 1968. The induction and repression of peroxidase isoenzymes by 3-indoloacetic acid. In *Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances*. Wightman F., Setterfield G. (eds), Runge, Ottawa: 455-472.
- GODZIK S., 1967. Polyphenol oxidase activity in vegetation injured by industrial air pollution. *Biul. Zakl. Badan Nank., GOP PAN*, **10**: 103-114.
- GASPAR TH., PENEL C., THORPE T., GREPPIN H., 1982. Peroxidases 1970-1980. A survey of their biochemical and physiological roles in higher plants. Univ. Geneve 324p.
- GOLDBERG R., CATESSON A.M., CZANINSKIY Y., 1983. Some properties of syringaldazine oxidase, a peroxidase specifically involved in the lignification process. *Z. Pflanzenphysiol.*, **110**: 267-79.
- GOLDBERG R., LE T., CATESSON A.M., 1985. Localization and properties of cell wall enzyme activities related to the final stages of lignin biosynthesis. *J. Exp. Bot.*, **36**: 503-10.
- B.M.R., 1978. Mechanism of paraquat tolerance in perennial ryegrass. II. Role of superoxide dismutase, catalase and peroxidase. *Plant Cell Environ.*, **1**: 211-215.
- KAUPPI M., MIKKONEN A., 1980. Floristic versus single species analysis in the use of epiphytic lichens as indicators of air pollution in boreal forest region. *Flora*, **169**: 225-281.
- KELLER T., 1974. The use of peroxidase activity for monitoring and mapping air pollution areas. *Eur. J. For. Path.*, **4**: 11-19.
- LAMPORT D.T.A., 1986. Roles of peroxidase in cell wall genesis. In H. Greppin, C. Penel, Th. Gaspar (eds.) University Geneve, Switz.
- LANGERBARTELS C., FUIRER G., HACKL B., HELLER W., KLOOS M., 1989. Dose-dependent biochemical reactions of Norway spruce to ozone fumigation. In *Air Pollution and Forest Decline*, ed J.B. Bucher, I. Bucher-Wallin, Birmensdorf, IUFRO: 466-469.
- LEBLANC F., DE SLOOVER J., 1970. Relation between industrialisation and distribution and growth of epiphytic lichens and mosses in Montreal. *Can. J. Bot.*, **48**: 1485-1496.
- LEE C.J., MILLER G.W., WELKIE G.W., 1966. The effects of hydrogen fluoride and wounding on respiratory enzymes in Soybean leaves. *Int. J. Air Pollut.*, **10**: 169.
- LORENZINI G., 1981. *L'informatore Agrario*. **37**: 17191-17201.
- MADER M., MEYER Y., BOPP M., 1975. Lokalisation der Peroxidase-Isoenzyme in den Protoplasten und Zellwänden von *Nicotiana tabacum* L. *Planta*, **122**: 259-268.
- MANES F., FEDERICO R., BRUNO F., 1986. Peroxidase activity in *Nicotiana Tabacum* L. treated with simulated acid rain. *Phytopath. Medit.*, **25**: 76-79.
- MANES F., ALTIERI A., BOFFA F., FEDERICO R., 1987. Early diagnosis of injuries in *Pinus pinaster* AITON treated with simulated acid rain. *Ann. Bot.*, **45**: 71-79.
- MANES F., ALTIERI A., BRUNO F., TRIPODO P., 1989. Plants as monitor of environmental pollution in the urban system of Rome. I. Man and Environment, The plant components in antropic systems, S.B.I. Working Group on Ecology, Rome 24 ott.
- PATRA K., 1979. Pyrophosphatase, Peroxidase and Polyphenoloxidase Activities during Leaf Development and senescence. *Plant Physiol.*, **63**: 318-323.
- MONTACCHINI F., 1980/81. Regressione della presenza lichenica in zone montane per effetto della progressiva urbanizzazione. Bardonecchia, *Allionia*, **24**: 139.
- SANDERS B.C., HOLMES-SIEDLE A.G., STARK B.P., 1964. Peroxidase. The properties and uses of a versatile enzyme and some related catalysts. London, Butterworths, 271 p.
- SIEGEL S.M., 1955. The biochemistry of lignin formation. *Physiol. Plant*, **8**: 20-32.
- WOOD F.A., CAPPOLINO J.B., 1972. The influence of ozone on deciduous forest tree species. *Mitt. Forstl. Bundes-Vers. Aust. Wien*, **97/I**: 233-253.