

GIMNAZIJA VELENJE
TRG MLADOSTI 3, 3320 VELENJE

MLADI RAZISKOVALCI ZA RAZVOJ ŠALEŠKE DOLINE

RAZISKOVALNA NALOGA

**UGOTAVLJANJE ONESNAŽENOSTI ZRAKA OB DRŽAVNIH CESTAH S POMOČJO
EPIFITSKIH LIŠAJEV**

Tematsko področje: EKOLOGIJA Z VARSTVOM OKOLJA

Avtorica:

Anja Mavrič, 4. Letnik

Mentorici:

doc. dr. Helena Poličnik, univ. dipl. biol.

Klavdija Jug, univ. dipl. biol.

Velenje, 2014

Mavrič, A. Ugotavljanje onesnaženosti zraka vzdolž prometnih cest s pomočjo epifitskih lišajev
Raziskovalna naloga, Gimnazija Velenje, 2014

Raziskovalna naloga je bila opravljena na Inštitutu za ekološke raziskave ERICo Velenje in na Gimnaziji Velenje.

Mentorici: doc. dr. Helena Poličnik, univ. dipl. biol.

Klavdija Jug, univ. dipl. biol

Datum predstavitve:

Mavrič, A. Ugotavljanje onesnaženosti zraka vzdolž prometnih cest s pomočjo epifitskih lišajev
Raziskovalna naloga, Gimnazija Velenje, 2014

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Gimnazija Velenje, 2013-2014
- KG epifitski lišaji / težke kovine / aktivni biomonitoring / državne ceste
- AV MAVRIČ, Anja
- SA POLIČNIK, Helena / JUG, Klavdija
- KZ 3320 Velenje, SLO, Trg mladosti 3
- ZA Gimnazija Velenje
- LI 2014
- IN **UGOTAVLJANJE ONESNAŽENOSTI ZRAKA OB DRŽAVNIH CESTAH S POMOČJO EPIFITSKIH LIŠAJEV**
- TD Raziskovalna naloga
- OP VI, 23 str., 2 pregl., 15 sl., 29 vir.
- IJ SL
- Jl sl/en
- AI Mobilnost človeka je zelo povezana z vozili na motorni pogon. Podatki za Slovenijo kažejo, da je z izgradnjo novih prometnih povezav in zaradi hitrejšega dostopa do oddaljenih lokacij dnevna migracija ljudi bistveno večja, kot je bila pred obdobjem hitre gradnje avtocest. Zaradi tega se je kljub naprednejšim tehnologijam v avtomobilih prispevek prometa k celokupnemu onesnaževanju okolja povečal. Najpomembnejša onesnažila, katerih vir je danes promet so tako težke kovine (izgorevanje fosilnih goriv, obraba pnevmatik, zavornih ploščic), policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH-i) in metil-terc-butil eter (MTBE). V sklopu naloge smo različno obremenjenost območij vzdolž prometnic ugotavljali s pomočjo bioindikatorskih organizmov. In sicer smo izbrali metodo aktivne akumulacijske bioindikacije, pri čemer smo uporabili vrsto epifitskega lišaja *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. – napihnjeno hipogimnijo. Na sedmih različnih odsekih s prometom različno obremenjenih cest smo za obdobje 6 mesecev izpostavili steljke lišajev, ki smo jih nabrali skupaj s podlago (vejami smreke) na relativno neonesnaženem območju, na Rogli (referenčno območje). Na vsaki lokaciji smo opravili izpostavitev na dveh različnih oddaljenostih od roba cestišča, in sicer je bil 1. pas izpostavitve neposredno ob robu cestišča, 2. pas pa približno 200 m od roba cestišča. Ugotovili smo, da gostota prometa vpliva na kopičenje težkih kovin in PAH-ov v steljkah lišajev, s čimer zaključujemo, da promet pomembno vpliva na pojavljanje teh onesnažil v okolju. Onesnaženje s PAH-i pa sega na posameznem odseku dalj od roba cestišča kot to velja za težke kovine, saj so PAH-i lažji in zato potujejo v nižjih plasteh zraka dalj stran od samega vira.

Mavrič, A. Ugotavljanje onesnaženosti zraka vzdolž prometnih cest s pomočjo epifitskih lišajev
Raziskovalna naloga, Gimnazija Velenje, 2014

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Gimnazija Velenje, 2013/2014
- CX epiphytic lichens / heavy metal / active biomonitoring / state roads
- AU MAVRIČ, Anja
- AA POLIČNIK, Helena / JUG, Klavdija
- PP 3320 Velenje, SLO, Trg mladosti 3
- PB Gimnazija Velenje
- PY 2014
- TI **THE ASSESSMENT OF AIR POLLUTION ALONG ROADS WITH THE USE OF EPIPHYTIC LICHENS**
- DT RESEARCH WORK
- NO VI, 23 p., 2 tab, 15 fig., 29 ref.
- LA SL
- AL sl/en
- AB Human mobility is closely related to motorized vehicles. Data for Slovenia show that after the construction of a new transport system and the easier access to the remote locations, daily commuting in Slovenia has increased significantly compared to the period before the rapid construction of highways. Consequently, despite the advances in car technologies the total contribution of traffic to the environmental pollution has increased. The most important pollutants in traffic are heavy metals (burning of fossil fuels, tire wear, brake pads), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), and methyl tert-butyl ether (MTBE). In this thesis, different degrees of pollution along the roads were tested by using bioindicator organisms. We chose the method of active accumulation bioindication, using an epiphytic lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. Lichens were exposed at seven different road sections with different traffic density for a period of 6 months. The lichens on spruce branches that were used in the test had been collected in a relatively unpolluted area on Rogla (the reference area). At each location we tested exposures at two different distances from the edge of the road. The first exposure zone was very close to the edge of the road, the second zone was approximately 200 m from the edge of the road. We found that the amount of traffic was in direct correlation with the accumulation of heavy metals and PAH's in lichens. Thus we conclude that traffic has a significant impact on the occurrence of these pollutants in the environment. In each section the contamination with PAHs was detected farther from the edge of the road than in the case of the contamination with heavy metals, as PAHs are lighter and can therefore travel in the lower layers of air farther from the source.

KAZALO

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO SLIK IN TABEL	VI
1 UVOD	1
1.1 Namen in cilj raziskave	1
1.2 Hipoteze	2
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 Splošno o lišajih	2
2.2 Bioindikacija	5
2.2.1 Aktivni biomonitoring.....	6
2.3 Vsebnosti težkih kovin v lišajih in bioindikacija.....	6
3 MATERIAL IN METODE	7
3.1 Območje raziskovanja	7
3.2 Uporabljena vrsta lišajev	9
3.3 Določevanje vsebnosti težkih kovin v lišajih	10
3.3.1 Vzorčenje.....	10
3.3.2 Priprava vzorcev in kemijske analize	12
4 REZULTATI IN RAZPRAVA.....	14
4.1 Začetne vsebnosti onesnažil v lišajih.....	14
4.2 Vsebnosti PAH-ov v izpostavljenih lišajih	15
4.3 Vsebnosti Pb v lišajih	17
4.4 Vsebnosti As v lišajih	18
4.5 Vsebnosti Zn v lišajih	19
4.6 Vsebnosti Cd v lišajih.....	20
5 ZAKLJUČKI.....	21
6 ZAHVALA.....	21
7 VIRI	22

KAZALO SLIK

Slika 1: Skorjasti lišaji (foto: A. Mavrič).	3
Slika 2: Listasti lišaji (foto: A. Mavrič).	4
Slika 3: Grmičasti lišaj (foto: A. Mavrič).	5
Slika 4: Grafični prikaz dnevnega letnega prometa.....	9
Slika 5: Napihnjena hipogimnija (foto: H. Poličnik).	9
Slika 6: Prikaz izbranih lokacij za ugotavljanje vpliva prometa na onesnaženje okolja.	10
Slika 7: Nabiranje vzorcev na Rogli (foto: H. Poličnik).	11
Slika 8: Namestitev lišajev na drevesa (foto: H. Poličnik).	11
Slika 9: Ločevanje steljk lišajev od podlage – veje smreke (foto: A. Mavrič).	12
Slika 10: Večje število steljk je bilo potrebno nabrati za pripravo enega vzorca (foto: A. Mavrič).	12
Slika 11: Prikaz vsebnosti PAH-ov [mg/kg]v steljkah lišajev iz Rogle (začetno stanje – rdeča črta) in po šestih mesecih izpostavitve na izbranih lokacijah.	15
Slika 12: Prikaz vsebnosti Pb [mg/kg]v steljkah lišajev iz Rogle (začetno stanje – rdeča črta) in po šestih mesecih izpostavitve na izbranih lokacijah.	17
Slika 14: Prikaz vsebnosti As [mg/kg]v steljkah lišajev iz Rogle (začetno stanje – rdeča črta) in po šestih mesecih izpostavitve na izbranih lokacijah.	18
Slika 15: Prikaz vsebnosti Zn [mg/kg]v steljkah lišajev iz Rogle (začetno stanje – rdeča črta) in po šestih mesecih izpostavitve na izbranih lokacijah.	19
Slika 16: Prikaz vsebnosti Cd [mg/kg]v steljkah lišajev iz Rogle (začetno stanje – rdeča črta) in po šestih mesecih izpostavitve na izbranih lokacijah.	20

KAZALO TABEL

Tabela 1: Preglednica cest z povprečnim dnevnim letnim prometom.	7
Tabela 3: Vrednosti težkih kovin v lišajih na Rogli (primerjava med leti 2001-2006 in 2013)	14

1 UVOD

Današnji svet vedno bolj teži k čim večji mobilnosti, učinkovitosti in tudi centralizaciji. Tako lahko v Sloveniji že opažamo centralizacijo in z njo povezane dnevne migracije v naše glavno mesto Ljubljano, kamor na delo odhaja vedno več ljudi. Zaradi slabe urejenosti javnega prometa ter zelo raznolikega delavnega časa ogromno ljudi za prevoz uporablja osebni avtomobil. Leta 2012 smo imeli v Sloveniji registriranih kar 1.010.520 vozil, ki so jih upravljale fizične osebe. To je kar 0,49 avtomobila na prebivalca. S količino prometa je povezana tudi stopnja onesnaženja našega okolja. Pomembna skupina onesnažil, katerih vir je tudi promet, so težke kovine in tudi policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH-i).

Ker so naprave za merjenje onesnaženosti zraka zelo drage ter na prostem izpostavljene nepridipravom, je raziskovanje na ta način finančno obremenjujoče in tvegano. Prav tako zgolj z meritvami količine onesnažil v abiotskih medijih (tleh, vodi, zraku) ne dobimo pomembnih podatkov o biološki pomembnosti onesnažil, saj zgolj njihova prisotnost v okolju še ne pomeni, da lahko na žive organizme tudi vplivajo. Zato so se v svet razvile metode bioindikacije. Bioindikatorji so organizmi ali združbe, ki na obremenitev s škodljivimi snovmi odgovorijo s spremembami svojih življenjskih funkcij oz. to škodljivo snov kopičijo (Arndt in sod., 1987; Batič, 1994, 1997a, 1997b). Bioindikatorji so lahko "odzivni" oz. "reakcijski" in "zbiralni" oz. "akumulacijski". Pri akumulacijskih bioindikatorjih na količino onesnažil v okolju sklepamo glede na vsebnosti teh onesnažil v njih, saj le-te v sebi kopičijo. Njihova prednost pa je, da z njimi dobimo zelo natančne in specifične podatke, meritve so enostavne, enostavnejša je interpretacija rezultatov.

1.1 Namen in cilj raziskave

Namen raziskovalne naloge je bil ugotoviti onesnaženost zraka vzdolž nekaterih državnih cest in avtocest s pomočjo epifitskih lišajev. Rezultate smo interpretirali na podlagi podatkov dnevnega letnega prometa ter območja, kjer smo lišaje izpostavili. Na vzorce lišajev, ki smo jih izpostavili na različnih lokacijah, lahko vpliva mnogo dejavnikov, kot so: (i) oddaljenost od ceste; (ii) daljinski transport; (iii) poškodovanje steljke ob transportu; (iv) objedenost lišajev zaradi divjadi; (v) dvigovanje občestnega prahu neposredno v bližini izpostavljenih vzorcev lišajev; bližina travnika, kar predstavlja problem zaradi gnojenja. V epifitskih lišajih smo izmerili vsebnosti težkih kovin (arzena (As), cinka (Zn), kadmija (Cd), svinca (Pb)) ter policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH-ov). Meritve smo opravili pred začetkom izpostavitve lišajev (izhodiščna vrednost) in po šestih mesecih izpostavitve. Lišaje smo izpostavili na sedem različnih lokacij, na vsaki v dveh različnih oddaljenostih od roba cestišča, in sicer tik ob cesti in 200m od roba cestišča. Izbrali smo lokacije z različno gostoto prometa, tako ob regionalnih cestah (Velike Lašče, Hotemež, Frankolovo, Slovenj Gradec in Črnova), kot tudi ob avtocestah (Vransko in Pinče). Vsebnosti smo primerjali z začetnimi vrednostmi v lišajih, nabranih na Rogli, ki velja za z onesnažili neobremenjeno območje Slovenije (referenčno območje).

1.2 Hipoteze

- Zaradi različne gostote prometa so količine onesnažil, ki so emitirane v okolje, različne. Na lokacijah z večjo gostoto prometa so količine onesnažil večje, kar se kaže v večjih vsebnostih onesnažil v lišajih.
- Težke kovine in PAH-i imajo različne mase, zato se pričakujejo različni vzorci odlaganja. PAH-i so lažji, zato lahko potujejo dlje od vira onesnaženja.
- Med različnimi oddaljenostmi od ceste (različni pasovi izpostavitve) na istih lokacijah prihaja do razlik v vsebnostih onesnažil v lišajih; težke kovine se v večji meri kopičijo v lišajih izpostavljenih tik ob cesti, medtem ko se vsebnosti PAH-ov bolj povečajo v lišajih, izpostavljenih dlje od roba cestišča.
- Vsebnosti PAH-ov, Cd, Zn, Pb, ki so značilni za izpuste iz prometa bodo bolj odražale gostoto prometa kot onesnažila, katerih emisije zaradi prometa so manjše (na primer As).

2 PREGLED OBJAV

2.1 Splošno o lišajih

Lišaji so simbioza več organizmov. Njihovo telo – steljka je vedno zgrajena iz ene vrste glive (mikobionta) in ene vrste zelene alge ali cianobakterije (fotobionta). Simbioza je za glive obvezna. Preprosto telo lišaja (steljka) ni sposobno uravnati svojega vodnega stanja tako kot višje rastline pravimo, da so poikilohidri organizmi. Aktivni so le kadar je steljka navlažena. Poznamo epifitske in epilitske lišaje. Epifitski lišaji rastejo na lesnatih rastlinah, predvsem na deblu in vejah dreves in grmov. V teh razmerah so še posebej prilagojeni za zbiranje vode in hranil iz zraka, v primeru onesnaženega zraka tudi zračnih onesnažil. Lišaji so počasi rastoče stelčnice, ki kopičijo škodljive snovi v daljših časovnih obdobjih kot višje rastline. Vsi ti dejavniki poleg še nekaterih drugih (Nimajo pravih tkiv in organov, torej ne morejo aktivno nadzorovati sprejema snovi v njihovo steljko. Vse poteka pasivno, odvisno od dejavnikov v okolju. Višje rastline imajo npr. listne reže nekatere na listih tudi kutikulo, ki omogoča zelo dober nadzor privzema v list. Tega pri lišajih ni. Prav tako nimajo korenin in ne morejo nadzorovati privzema iz tal.) so vzrok, da lišaji v onesnaženem zraku propadejo prej kot višje rastline. Občutljivost lišajev na onesnažen zrak je povezava z rastno obliko njihove steljke, delno pa tudi z občutljivostjo posameznih vrst gliv, alg in cianobakterij, ki tvorijo lišaj. Spremljanje stanja onesnaženosti zunanjega zraka je ena od najstarejših in v svetu največkrat uporabljenih bioindikacijskih metod. Pokrovnost treh osnovnih rastnih tipov epifitskih lišajev (skorjasti, lisasti in grmičasti) odraža stanje okolja. Prisotnost vseh treh lišajskih tipov pomeni boljše razmere za njihovo uspevanje in s tem tudi čistejši zrak, odsotnost listnatih in grmičastih pomeni napredujoče onesnaževanje. Popolna odsotnost lišajev, tudi skorjastih, pomeni močno onesnažen zrak. Seveda pa onesnažen zrak ni edini dejavnik uspevanja epifitskih lišajev. Na njihovo uspevanje vplivajo še lastnosti dreves (fizikalno kemijske in mehanske lastnosti skorje, lastnosti krošnje), starost dreves, gospodarjenje z drevesi in klimatski dejavniki (Batič, Kastelec, 2011).

Skorjasti lišaji

Se delijo na dve površini, zgornjo in spodnjo. Spodnja se čvrsto pritrja na skorjo dreves in jih brez poškodb steljke ne moremo odstraniti od podlage. Glede na zgornjo površino je omejena izguba vode. Organizacija steljke je lahko homeomerna ali heteromerna. Najmanj kompleksno zgradbo imajo prahasti skorjasti lišaji, najbolj kompleksno pa luskasti.



Slika 1: Skorjasti lišaji (foto: A. Mavrič).

Listasti lišaji

Listasti lišaji, kot že ime pove, so podobni listom ter so ploski. Na podlago so pritrjeni s pričvrščevalnimi strukturami – rizinami, popkom ali z deli spodnje povrhnjice. Prav tako kot skorjaste lišaje tudi listaste delimo na homeomerne in heteromerne. Njihovo povrhnjico pa prav tako delimo na zgornjo in spodnjo. Za njih je značilna velika razlika v velikosti ter tudi vrstna pestrost.



Slika 2: Listasti lišaji (foto: A. Mavrič).

Grmičasti lišaji

Poznamo več oblik steljke pri grmičastih lišaji, ki so lahko lasaste, jermenaste, grmičaste, ploščate ali cilindrične oblike. Vedno štrlijo stran od podlage. Nekatere steljke se delijo kot pri skorjastih ter listastih nekatere pa so radialno simetrične. Tam, kjer so grmičasti lišaji močno razrasli, se pokaže veliko razmerje med površino in volumnom, kar vpliva na hitrejše sušenje in močenje ter tudi na večji prevzem onesnažil in zato večjo občutljivost na onesnažen zrak.



Slika 3: Grmičasti lišaj (foto: A. Mavrič).

2.2 Bioindikacija

Bioindikator je organizem, ki odraža okoljske danosti, spremembe (ekološke/okoljske dejavnike: svetloba, toplota, pH, prebitek ali pomanjkanje hranil, kombinacijo okoljskih dejavnikov, delovanje živali, človeka). So organizmi, ki s svojimi življenjskimi funkcijami odražajo razmere v okolju (npr. epifitski lišaji); (Arndt in sod. 1987). Potencialno so vsi organizmi indikatorji, še posebej pa tisti, ki so pritrjeni (rastline, glive, mikroorganizmi, ...). Da lahko govorimo o organizmu kot bioindikatorju, mora le – ta izpolnjevati določene pogoje, kot so: odzivnost na spremembe v okolju, značilnost odziva za določene okoljske spremembe, merljivost odziva, pogostost bioindikatorja, lahka prepoznavnost, možnost gojenja v nadzorovanih razmerah, hitra rast, velika biomasa, reprezentativnost odziva za : ekosistem ali njegov del, zdravje ljudi. Seveda noben indikator ne ustreza vsem opisanim pogojem. Indikator si izberemo glede na namen raziskave, vrste sprememb/onesnaženja, vrste ekosistema, habitata (Batič, 2012).

2.2.1 Aktivni biomonitoring

Primerna uporaba biomonitoringa, torej presaditev lišajev na raziskovalno območje za določeno obdobje, je takrat, kadar želimo spremljati odlaganje elementov v točno določenem času. Vsebnost težkih kovin in/ali radionuklidov v steljkah izpostavljenih lišajev (ugotavljamo njihovo kopičenje) in na podlagi le te sklepamo na njihovo prisotnost v okolju. Znana je preprosta soodvisnost med količino onesnažila v lišajih in okolju. Zelo pogosta je uporaba aktivnega biomonitoringa na območjih večjih točkovnih virov onesnaževanja, kot na primer v okolici termoenergetskih objektov ali večjih industrijskih središč (Poličnik, 2008). Potrebno je upoštevati več različnih dejavnikov, ki lahko vplivajo na odlaganje in kopičenje težkih kovin, pri uporabi aktivnega monitoringa. Pazljivo moramo izbrati vrsto lišaja, ki ga bomo uporabili kot bioindikator. Potrebno je bilo preučiti tudi dva pomembna dejavnika, ki bi lahko vplivala na rezultate in sicer vpliv lege in neposrednega vpliva padavin. Na kopičenje vpliva predvsem lega, nekoliko manj pa neposredna izpostavljenost padavinam.

Rezultate je mogoče podajati kot razliko med končno vsebnostjo v presajenih lišajih in začetno vsebnostjo glede na vrednost referenčne lokacije, iz katere so bili lišaji presajeni (Mikhailova, 2002; Poličnik in sod., 2004). To metodo smo pri tej raziskovalni nalogi tudi uporabili. Lahko pa rezultate podajamo tudi kot razmerje med končnimi in začetnimi vsebnostmi – EC razmerje (Jeran in sod., 1996; Jeran in Jaćimović, 1997; Ferati in sod., 2005).

2.3 Vsebnosti težkih kovin v lišajih in bioindikacija







Lišaji so eni izmed najpogosteje uporabljenih organizmov za biomonitoring v študijah onesnaženosti zraka s kovinami. Lišaji v veliko primerih ob akumulaciji težkih kovin ostanejo neprizadeti (Garty, 1993), lahko pa je pri tem prizadeta tako njihova morfologija kot tudi fiziologija. Van Dobben in sod. (2001) so ugotovili, da večina testiranih elementov ni imela znatnega vpliva na številčnost lišajskih vrst, razen Br, Ca, Sb in As, od katerih z neposredno toksičnostjo povezujejo sledenja dva. Pri izbiri biomonitorja upoštevamo tudi vrsto in količino onesnažila, ki ga želimo spremljati (Riga – Karandinos in Karandinos, 1998), saj različna onesnažila iz termoenergetskih objektov vplivajo na različne fiziološke parametre pri različnih vrstah lišajev različno. Akumulacija elementov v steljkah lišajev je povezana z količino onesnažil in tipom steljke; količina žvepla, ki se akumulira v stelkah lišajev, je za razliko od vsebnosti težkih kovin neodvisna od tipa steljke lišaja (St. Clair in sod., 2002a, 2002b). Lišaji so bili uporabljeni v mnogih državah, za namene bioindikacije onesnaženosti okolja, kot so Slovenija, Bosna in Hercegovina, Grčija, Singapur, Nizozemska, Italija, Izrael, Arizona, ZDA, Romunija, Francija. Bioakumulatorji morajo imeti določene značilnosti, ki jih lišaji imajo: kopičijo onesnažilo, ki pri sprejetih količinah ne povzroča odmiranja; zanje je značilna velika geografska razširjenost; so zelo številčni; vzorčenje lahko poteka skozi vse leto; lahko jih je nabirati in uporabljati za študije v laboratorijskih razmerah; vsebnosti onesnažil v lišajih so lahko zelo velike; znana je preprosta soodvisnost med količino onesnažila v lišajih in okolju; ugotovljena soodvisnost velja na vseh območjih raziskovanja in v vseh razmerah (Poličnik, 2008). Pristop zbiranja vzorcev kot tudi analitika je zelo pomembna da je zelo usklajena, ker vsi raziskovalci ne uporabljajo enakih vrst organizmov za namene bioindikacijskih študij.

3 MATERIAL IN METODE







3.1 Območje raziskovanja

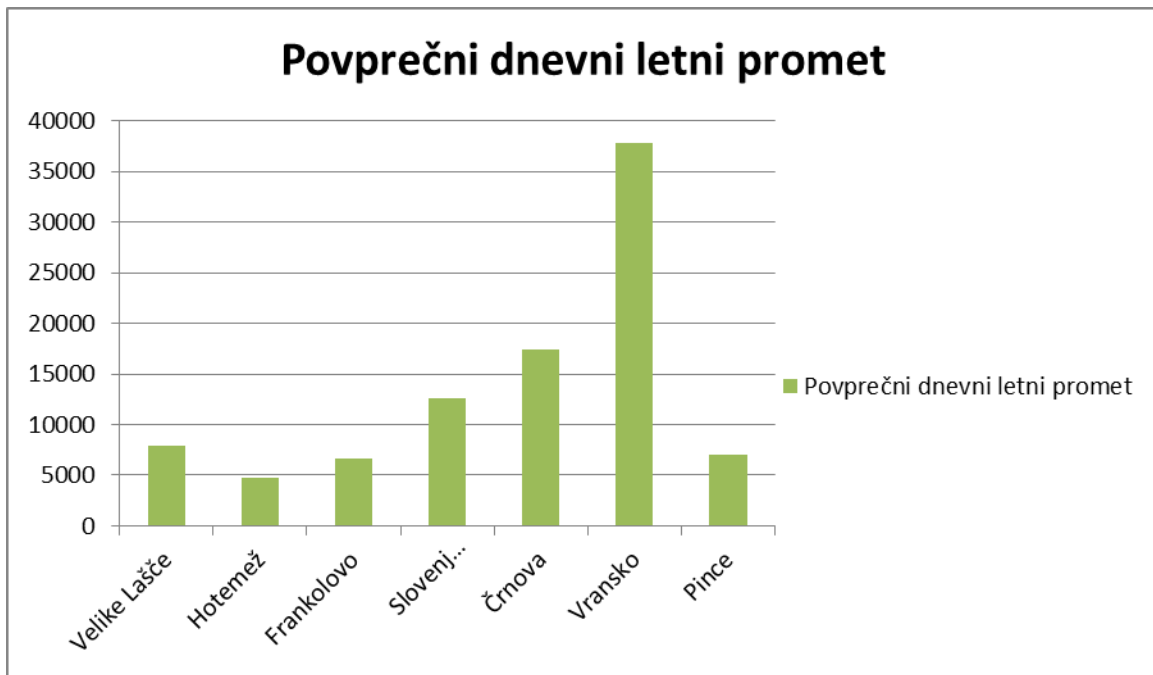
Naše območje raziskovanja je obsegalo več večjih regionalnih državnih cest ter dve avtocesti. Regionalne ceste so bile: Velike Lašče, Hotemež, Frankolovo, Slovenj Gradec, Črnova. Avtocesti pa: Vransko ter Pince.

Tabela 1: Preglednica cest z povprečnim dnevnim letnim prometom.

Kraj	Relacija	Kategorija ceste	Povprečni dnevni letni promet
Velike Lašče	Rašica–Velike Lašče	G2	7894
			
Hotemež	Zidani most–Krško	G1	4685
			
Frankolovo	Stranice–Višnja vas	R2	6253
			
Slovenj Gradec	Mislinja–Slovenj Gradec	G1	12300

Mavrič, A. Ugotavljanje onesnaženosti zraka vzdolž prometnih cest s pomočjo epifitskih lišajev
Raziskovalna naloga, Gimnazija Velenje, 2014

			
Črnova	Velenje–Črnova	G1	16936
			
Vransko	Trojane–Vransko	AC	37838
			
Pince	Lendava–Pince	AC	7046



Slika 4: Grafični prikaz dnevnega letnega prometa.

3.2 Uporabljena vrsta lišajev

Za raziskavo smo uporabili le eno vrsto epifitskega lišaja, in sicer napihnjeno hipogimnijo-*Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. Za presaditev smo izbrali epifitski lišaj *Hypogymnia physodes* (napihnjena hipogimnija), ki je relativno odporen na onesnaženje s SO_2 (Hawsworth in Rose, 1970) in je v Sloveniji pogost; za tovrstne raziskave je zelo primerna tudi zato, ker je to lišaj z listastim tipom steljke in ga je lahko ločiti od podlage (Jeran, 1995).

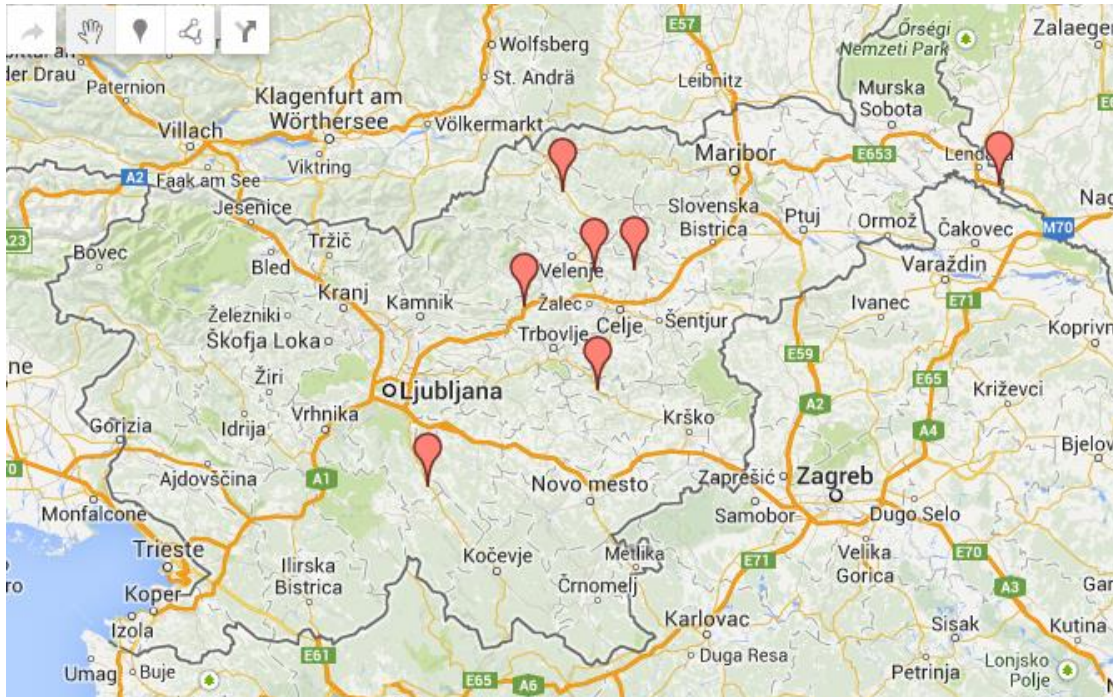


Slika 5: Napihnjena hipogimnija (foto: H. Poličnik).

3.3 Določevanje vsebnosti težkih kovin v lišajih

3.3.1 Vzorčenje

Z uporabo epifitskih lišajev smo preverjali onesnaženost zraka vzdolž državnih cest in sicer regionalnih: Velike Lašče, Hotemež, Frankolovo, Slovenj Gradec, Črnova, ter dveh avtocest: Vransko, Pince. Uporabili smo metodo presaditve lišajev iz relativno neonesnaženega območja na izbrane lokacije – aktivno bioindikacijo (Poličnik, 2008).



Slika 6: Prikaz izbranih lokacij za ugotavljanje vpliva prometa na onesnaženje okolja.

Lišaje smo za obdobje 6 mesecev premestili iz relativno neonesnaženega okolja na Rogli na izbrane lokacije vzdolž državnih cest. Lišaje smo nabrali skupaj z podlago na kateri so rastle. Glede na to, da je na Rogli smrekov gozd, smo se odločili, da bomo nabrali lišaje na vejah smreke. Vsi vzorci so morali biti iz ene drevesne vrste, saj smo tako izločili morebiten vpliv drevesne vrste na vsebnost težkih kovin in PAH-ov v lišajih. Z napihnjeno hipogimnijo bogato obrastle veje smrek smo odžagali in jih nato premestili na izbrane lokacije; izbrali smo končne dele obraslih vej v dolžini 40–60 cm. Za vsako lokacijo izpostavitve smo odžagali praviloma 12 vej. Lišaje smo skupaj s podlago prenesli na izbrane lokacije in jih s plastičnimi vezalkami pritrdili na zunanje robne dele vej lokalnih dreves ca. 2m od tal (Poličnik, 2008); to je pomembno za zadostno izpostavitve svetlobi, saj so le tako lahko potekali pomembni fiziološki procesi v steljkah lišajev (Garty, 2002). Veje smo razdelili v dve različni oddaljenosti od cest. V prvi pas (v neposredni bližini ceste) smo namestili 6 vej in v drugega (200m od ceste) 6 vej.

Mavrič, A. Ugotavljanje onesnaženosti zraka vzdolž prometnih cest s pomočjo epifitskih lišajev
Raziskovalna naloga, Gimnazija Velenje, 2014



Slika 7: Nabiranje vzorcev na Rogli (foto: H. Poličnik).



Slika 8: Namestitev lišajev na drevesa (foto: H. Poličnik).

Mavrič, A. Ugotavljanje onesnaženosti zraka vzdolž prometnih cest s pomočjo epifitskih lišajev
Raziskovalna naloga, Gimnazija Velenje, 2014

3.3.2 Priprava vzorcev in kemijske analize

Veje smrek z lišaji smo po 6 mesecih pobrali iz lokacij ter jih prenesli v laboratorij. Tam smo s pomočjo plastične pincete in destilirane vode iz vej pobrali napihnjeno hipogimnijo. Destilirano vodo smo uporabili, da smo lišaje poškopili in jih tako lažje odstranili od podlage. Pri ločevanju smo pazili, da smo odstranili vse sledi skorje dreves, ter tudi druge vrste lišajev. Po istem postopku smo pripravili tudi vzorce ničelnega stanja – lišaje iz Rogle. Lišaje smo ustrezno označili in jih posušili do konstantne teže v sušilni omari pri 36°C.



Slika 9: Ločevanje steljk lišajev od podlage – veje smreke (foto: A. Mavrič).



Slika 10: Večje število steljk je bilo potrebno nabrati za pripravo enega vzorca (foto: A. Mavrič).

Mavrič, A. Ugotavljanje onesnaženosti zraka vzdolž prometnih cest s pomočjo epifitskih lišajev
Raziskovalna naloga, Gimnazija Velenje, 2014

Vzorci lišajev smo zmleli z visokofrekvenčnim mlinčkom s keramičnim nožem (Büchi-Mixer B-400). Vsebnosti težkih kovin Pb, Zn, Cd in As so bile po mokrem sežigu (zatehta vzorca 0,400g; reagent: 5 ml HNO₃) določene v laboratoriju ERICo Velenje z uporabo tehnike induktivno sklopljene plazme z masnospektrometrično detekcijo (ICP-MS; ICP-MS Aglient 7500c), ki je tehnika za določevanje vsebnosti kovin v tekočih vzorcih. Za določevanje vsebnosti kovin za rastlinske vzorce z IPC-MS Application Note: 228-312, 228-314, 228-343 ter standardu DIN 38406-E29. Celoten sistem (avtosampler, sistem za vnos vzorca, plazma, masna separacija, detekcija in obdelava podatkov) je krmiljen z zmogljivim osebnim računalnikom. Elemente po tej metodi določamo z umeritveno krivuljo v osmih točkah (+slepa vrednost). Kot kontrolni vzorec smo uporabili referenčni material IAEA 336 (trace and minor elements in lichen), katerega smo prej pripravili po enakem postopku kot ostale vzorce (razklop) (Poličnik, 2008).

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 Začetne vsebnosti onesnažil v lišajih

Kopičenje kovin v rastlinah je odvisna od številnih dejavnikov, kot so starost, zdravstveno stanje, vrste razmnoževanje, in drugih takih parametrov, kot so temperatura, vlaga, značilnosti substrata (Conti in Cecchetti, 2000). Na samo kopičenje lahko vpliva mnogo zunanjih dejavnikov, kot so poškodovana steljka, objedenost zaradi divjadi, pretirano spiranje z dežjem, megla. Na splošno lahko večjo akumulacijo težkih kovin v steljke najdemo po polletnem obdobju, saj lahko govorimo o povečani hidrataciji, ki izhaja iz jesenskih padavin (Conti in Cecchetti, 2000).

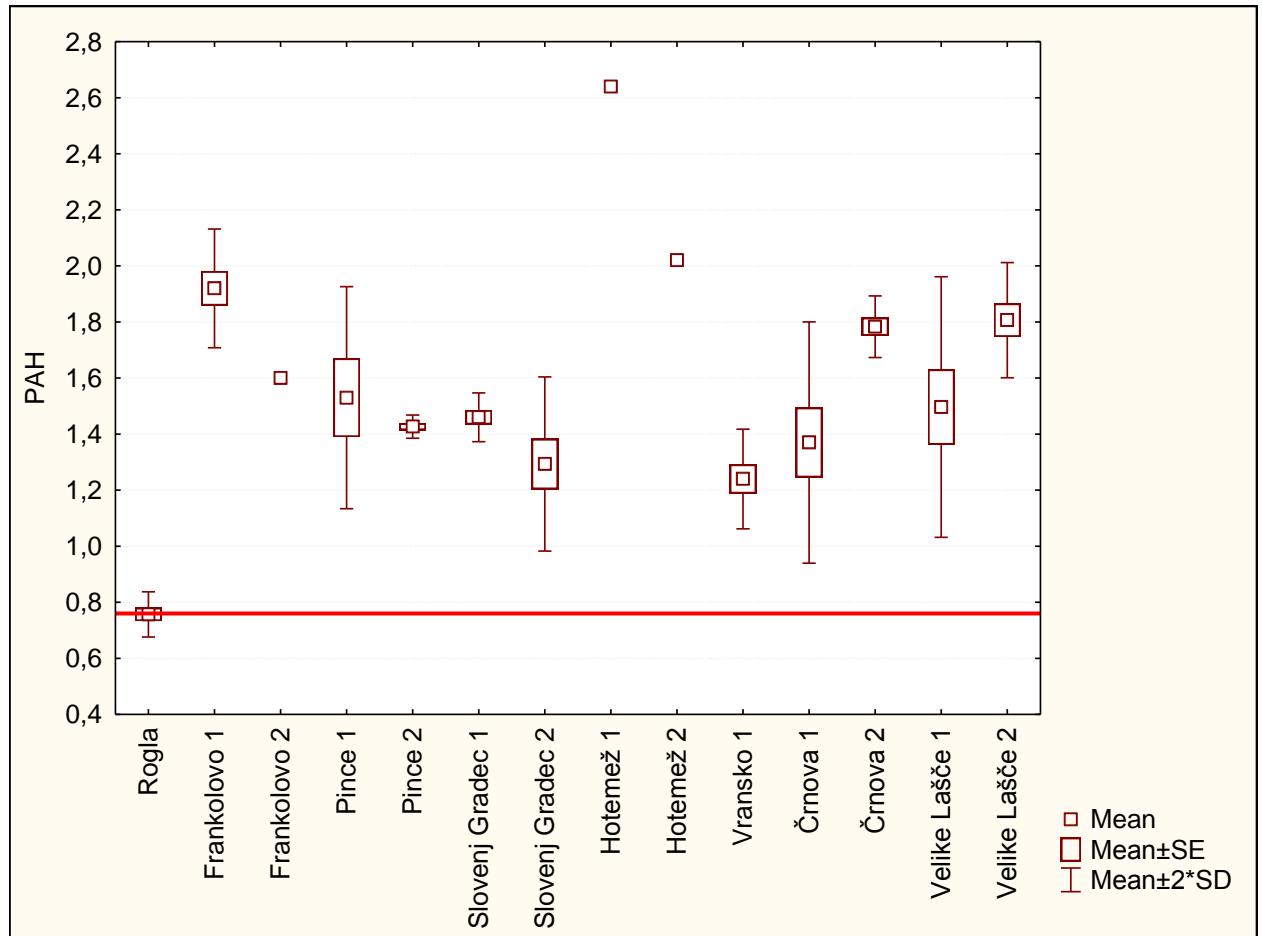
Pri obdelavi rezultatov smo prišli do zanimivega spoznanja, in sicer da je bila začetna vsebnost kovin v lišajih iz Rogle manjša, kot je večletno povprečje za to lokacijo (Poličnik, 2008). Natančni rezultati meritev so podani v spodnji preglednici (Tabela 3).

Tabela 2: Vrednosti težkih kovin v lišajih na Rogli (primerjava med leti 2001-2006 in 2013)

Težka kovina	Povprečna vrednost v letih 2001–2006	Povprečna vrednost leta 2013
As	0,69±0,07	0,39±0,06
Cd	0,62±0,06	0,41±0,04
Pb	19,01±0,59	13,23±1,43
Zn	105±9	77,67±5,40

Podatki kažejo, da so se vsebnosti težkih kovin občutno zmanjšale v primerjavi s preteklimi leti. Menimo, da je to posledica zmanjšanja daljinskega transporta težkih kovin – prenosa z zračnimi masami na velike razdalje, kar bi lahko bilo tudi posledica zmanjšanih emisij iz Termoelektrarne Šoštanj in tudi nekaterih težkih industrij iz drugega največjega mesta Slovenije Maribora. Ker ima Termoelektrarna - Šoštanj dimnike speljane visoko v zrak, vse težke kovine ostanejo na višjih predelih in tako s pomočjo stalnega gibanja zračnih mas potujejo na velike razdalje. Ker je Rogla v neposredni bližini Šaleške doline, sklepamo da jo lahko dosežejo tudi emisije iz Termoelektrarne Šoštanj, čeprav v manjšem obsegu. Ker so v preteklih letih veliko investirali v zmanjšanje emisij onesnažil v zrak, so se pozitivni učinki pokazali tudi v okolju v neposredni okolici Termoelektrarne Šoštanj; to kažejo tako raziskave srnjadi (Pokorny, 2003), gozdnega ekosistema (Ribarič Lasnik in sod., 2005) kot tudi popisi prisotnosti lišajev (Poličnik, 2008). Ne nazadnje tudi raziskave iz avstrijskega Gradca kažejo na bistveno izboljšanje kakovosti zraka v samem mestu po izgradnji čistilnih naprav v Šoštanju (Wilfling in sod., 2003).

4.2 Vsebnosti PAH-ov v izpostavljenih lišajih

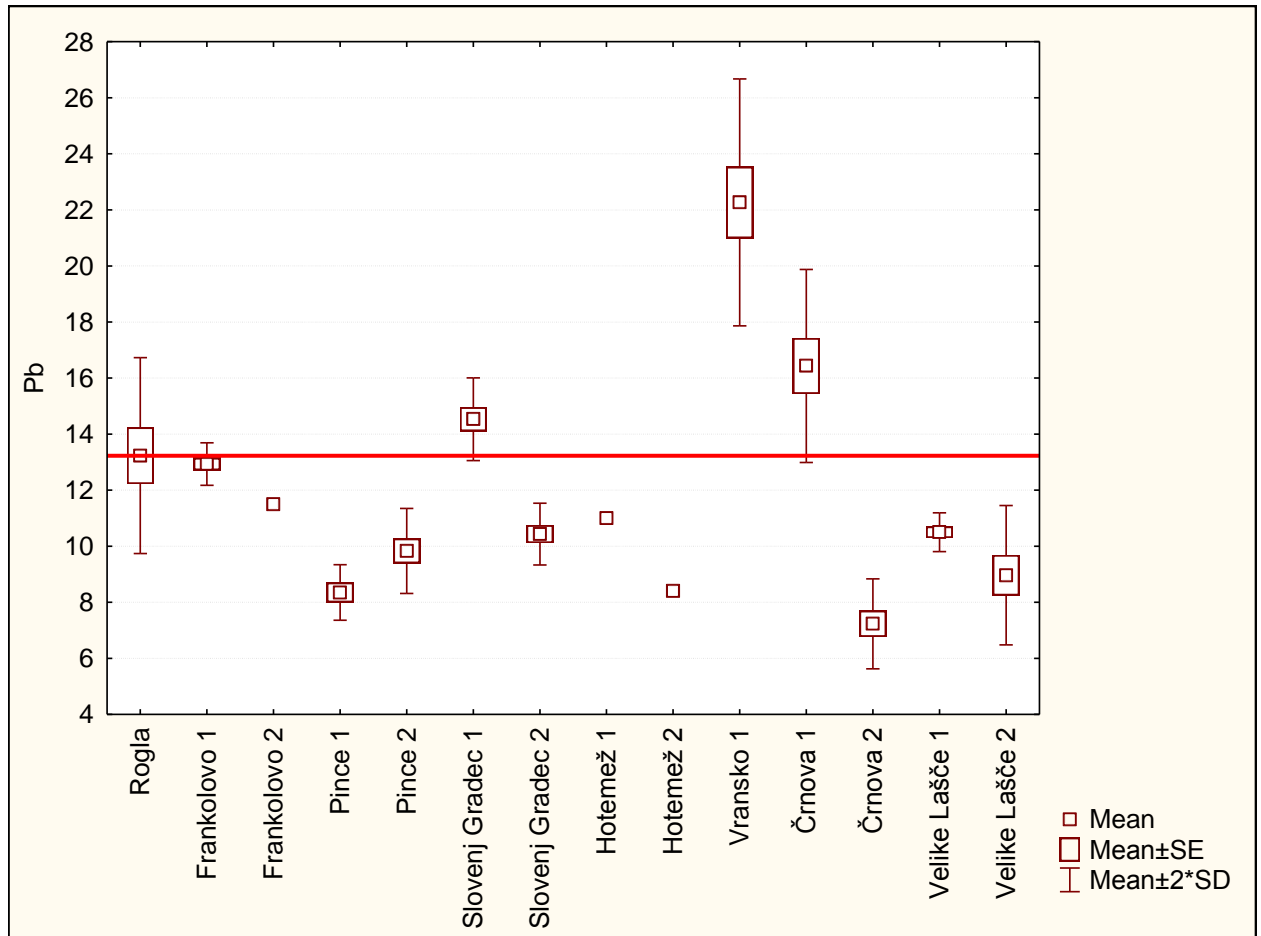


Slika 11: Prikaz vsebnosti PAH-ov [mg/kg]v steljkah lišajev iz Rogle (začetno stanje – rdeča črta) in po šestih mesecih izpostavitve na izbranih lokacijah.

PAH-i so strupene snovi, ki jih oddaja več antropogenih virov, ki imajo velik vpliv na človeško zdravje. Prostorske strukture modelov za različne PAH-ov so odvisne od naslednjih dejavnikov: velikosti in hidrofiličnih znakov različnih PAH-ov, vrsta virov emisij (točkovnih ali ne točkovnih) in disperzija povezana z delci različnih velikosti (Augusto in sod., 2009). Kot je razvidno iz slike je na vseh lokacijah občutno povečanje PAH-ov, saj so le-ti značilni za izpuste iz prometa. Rezultati kažejo na to, za povečanje PAH-ov ni bil ključen le promet. Največja gostota prometa je namreč na Vranskem, tam pa ni prišli do največjega povišanja vsebnosti PAH-ov. Do največjega povečanja je prišlo v Frankolovem v prvem pasu, Frankolovo pa je po gostoti prometa predzadnje torej je številka občutno manjša, kot na Vranskem in sicer kar za 93% vozil na dan. Prav tako lahko opazimo, da je na lokacijah Črnova ter Velike Lašče v drugem pasu, ki je 200m oddaljen od ceste, vsebnost PAH-ov kot v prvem pasu (neposredno zraven ceste). Glede na to da so PAH-i izredno lahka onesnažila, takšno dejstvo niti ne preseneča, saj je bilo pričakovati, da se to onesnažilo ne bo »usedlo« na tla takoj ob viru, ampak bo potovalo vsaj nekaj 100 m stran od vira onesnaženja. Na lokacijah Slovenj Gradec in Pince pa so vsebnosti, v drugem pasu manjše kot v prvem, vendar se kljub temu ne opazi bistvene razlike. Med vsebnostmi PAH-ov v različnih pasovih znotraj posameznih lokacij so razlike tako majhne, da niso

statistično značilne. Na lokacijah Frankolovo 2 ter Hotemež 1, 2, je bilo steljk lišajev dovolj zgolj za eno analizo (ne za tri, kar je bilo predvideno), zato za te lokacije ne moremo narediti statističnih analiz. Razloge za manjšo količino vzorca po sami izpostavitvi iščemo v poškodovanosti steljke, lahko tudi zaradi velikih emisij iz prometa in posledično je sledilo odmiranje lišaja, ki je odporen predvsem na kislina onesnažila. Možno je tudi, da je lišaje požrla divjad, čeprav tega dejstva nismo preverjali na samem terenu. Zaključimo torej lahko, da promet zagotovo je pomemben vir PAH-ov v okolju, saj so se vsebnosti v lišajih na vseh lokacijah povečale v primerjavi z začetnim stanjem v lišajih z Rogle. **Lišaji so se pokazali kot dober bioindikator za ugotavljanje onesnaženosti s PAH-i.** Glede na to, da so PAH-i tudi manj obstojne molekule kot to velja za elemente (težke kovine), lahko na izmerjene vsebnosti le-teh vpliva tudi čas, ki poteče od vzorčenja lišajev v naravi in dejanske analize vzorcev. Za čim bolj natančne rezultate bi bilo smiselno vzorce takoj po tem, ko smo jih prinesli v laboratorij tudi pripraviti za laboratorijske analize in jih tudi takoj analizirati – s tem bi močno zmanjšali potencialni vpliv priprave vzorcev na same rezultate.

4.3 Vsebnosti Pb v lišajih

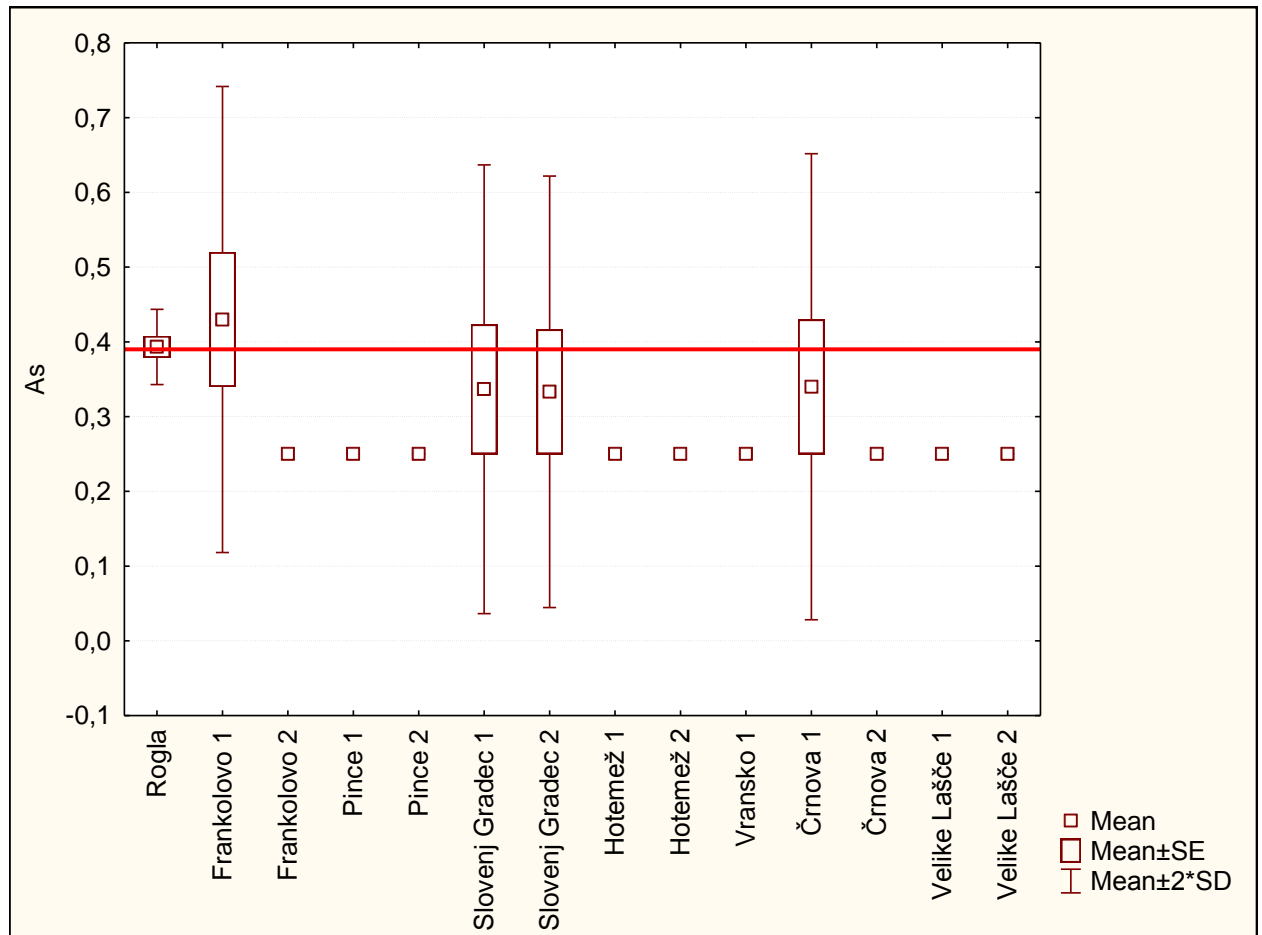


Slika 12: Prikaz vsebnosti Pb [mg/kg] v steljkah lišajev iz Rogle (začetno stanje – rdeča črta) in po šestih mesecih izpostavitve na izbranih lokacijah.

Rezultati vsebnosti Pb v steljkah lišajev kažejo na to, da se vsebnosti Pb v izpostavljenih lišajih niso povsod povečale. Promet danes namreč ni več pomemben vir svinca saj danes uporablja neosvinčen bencin. Vsebnosti svinca so se zmanjšale na petih lokacijah in sicer Pince 1,2, Slovenj Gradec 2, Črnova 2 ter Velike Lašče 1,2. Vsebnosti so se povečale le na treh lokacijah, in sicer Slovenj Gradec 1, Vransko 1 in Črnova 1. Na slednjih dveh lokacijah zelo, na prvi pa malo majn. Razlog je lahko tudi samo mesto izpostavitve lišajev saj smo imeli na zadnjih dveh lokacijah lišaje izpostavljene v bližini makadamske ceste in travnika. Za svinec (in tudi ostale kovine) je značilno, da v naravi ostaja zelo dolgo. Zaradi mnogo let trajajočih emisij svinca zaradi prometa, je tudi v tleh vzdolž cest povečana vsebnost Pb (Poličnik in sod., 2009). Pb tako ostaja v obcestnem prahu in z vožnjo po makadamskih poteh ali bankinah, se tam odložen svinec dviguje in je tako ponovno na razpolago za prevzem v steljke lišajev. Prav tako kot makadamske poti, so tudi travniki oz. zemlja travnikov lahko vir Pb; s košnjo in obračanjem trave lahko prihaja do dvigovanja zemlje, seveda tudi do dvigovanja svinca in zato tako povišane vsebnosti le--tega.

Iz rezultatov lahko zaključimo, da so lišaji primerni bioindikatorji onesnaženosti okolja s Pb, saj bistvenih povečanj vsebnosti Pb nismo ugotovili, kar je tudi povsem v skladu s pričakovanji, saj promet danes ni več pomemben vir Pb v okolje.

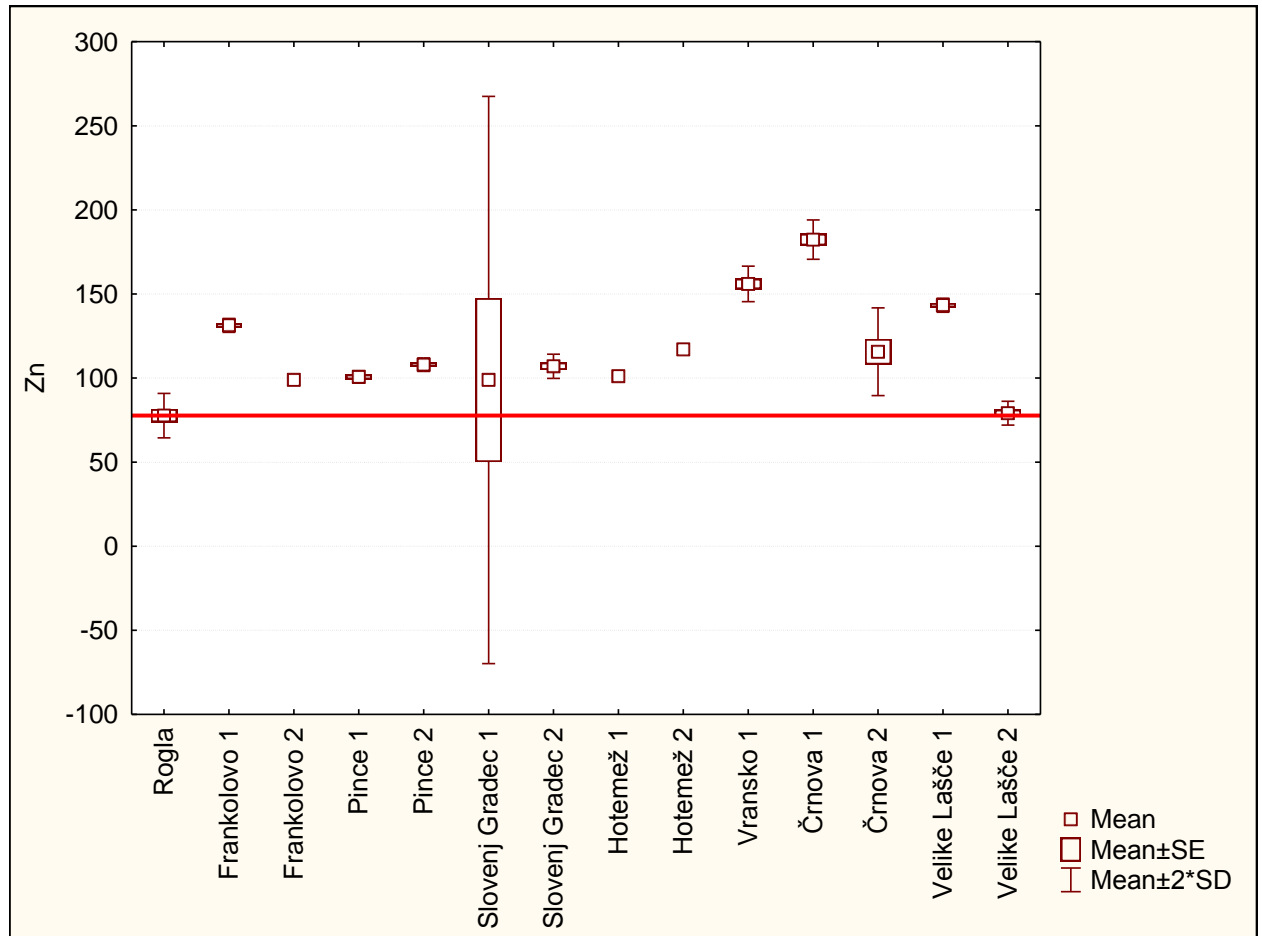
4.4 Vsebnosti As v lišajih



Slika 13: Prikaz vsebnosti As [mg/kg] v steljkah lišajev iz Rogle (začetno stanje – rdeča črta) in po šestih mesecih izpostavitve na izbranih lokacijah.

Vsebnosti As so bile v vseh vzorcih lišajev izredno majhne, večinoma so bile pod mejo detekcije analitske metode. Glede na to, da so lišaji odlični bioindikatorji onesnaženosti okolja tudi s As (Poličnik in sod., 2004; Poličnik, 2008) lahko zaključimo, **da promet ne prispeva bistveno k onesnaženju okolja s As**, saj so bile vsebnosti tako zelo majhne.

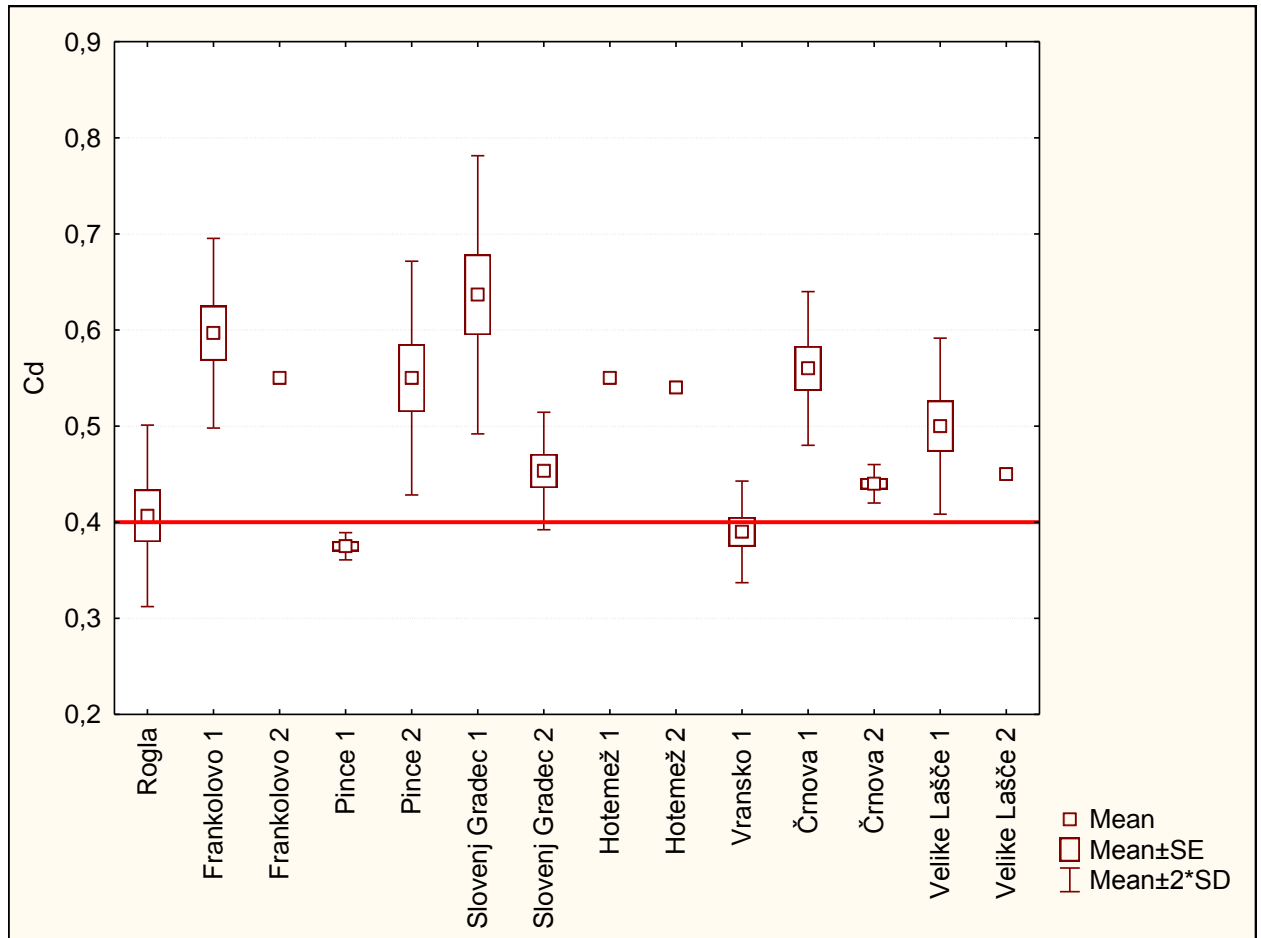
4.5 Vsebnosti Zn v lišajih



Slika 14: Prikaz vsebnosti Zn [mg/kg] v steljkah lišajev iz Rogle (začetno stanje – rdeča črta) in po šestih mesecih izpostavitve na izbranih lokacijah.

Iz slike (Slika 12) je razvidno, da so se vsebnosti Zn v vseh vzorcih povečale v primerjavi z začetnimi vsebnostmi v lišajih z Rogle. Zato zaključujemo, da je promet pomemben vir Zn v naše okolje. Do največjega povečanja je prišlo v Črnovi, ki pa ni najbolj prometna cesta. Je pa zelo pomembno vedeti, da je vir Zn pri prometu obraba zavornih ploščic in obrabe avtomobilskih gum (VIR), zaradi česar je torej pričakovati, da vsebnosti ne bodo odvisne zgolj od gostote prometa, temveč tudi od načina vožnje na določeni lokaciji in tudi od tipa cestne podlage (različni asfalt). Vendarle **rezultati kljub temu relativno dobro odražajo gostoto prometa**. Največja gostota prometa je na cestah Vransko, Črnova in Slovenj Gradec, na prvih dveh je prišlo do največjega povečanja vsebnosti cinka. Le na lokaciji Velike Lašče 2 ni prišlo do povečanja vsebnosti, kar je lahko tudi posledica izbire lokacije za izpostavitve lišajev – izpostavitveno mesto je bilo na nekoliko dvignjenem mestu, saj je od ceste do izpostavitve bil dvignjen teren; za težke kovine (torej tudi Zn) je pričakovano tudi odlaganje bližje samemu viru onesnaženja, še posebej v tem primeru, ko se Zn v okolje ne izpušča iz izpušnimi plini, temveč je vir neposredno pri tleh (obraba pnevmatik in torej ni izpuha in dviga v ozračje, od koder bi onesnažilo lahko potovalo na nekoliko večje razdalje).

4.6 Vsebnosti Cd v lišajih



Slika 15: Prikaz vsebnosti Cd [mg/kg] v steljkah lišajev iz Rogle (začetno stanje – rdeča črta) in po šestih mesecih izpostavitve na izbranih lokacijah.

Prav tako kot za Zn tudi za Cd ugotavljamo povečanje vsebnosti v lišajih v primerjavi z začetnimi vsebnostmi v lišajih z Rogle. Cd je prav tako kovina, katere vsebnost v lišajih je povezana z gostoto prometa. Na vseh lokacijah, z izjemo Pinc 1 ter Vranskega 1, so se vsebnosti povečale, čeprav so ravno to lokacije z največjo gostoto prometa. Verjetno je na teh lokacijah povečanje manjše zato, ker so na avtocestah hitrosti dosti večje, promet poteka bolj tekoče, ni veliko zaviranja, cesta poteka naravnost, v primerjavi z regionalnimi cestami in prav zaradi tega prihaja do manjših emisij Cd, ki ga lahko najdemo v avtomobilskih zavornih sistemih.

5 ZAKLJUČKI

Z uporabo epifitskih lišajev in metodo aktivne akumulacijske bioindikacije smo ugotovili, da promet pomembno vpliva na onesnaževanje zraka, saj so se vsebnosti vseh onesnažil, z izjemo As, katerega promet ni pomemben vir, povečale v primerjavi z začetnimi vsebnostmi v lišajih z Rogle. Ker pa na kopičenje onesnažil v steljkah lišajev poleg same količine onesnažil v zraku vpliva še več drugih dejavnikov, rezultati niso enostavni za interpretacijo. Kljub temu lahko hipotezo, da so zaradi različne gostote prometa količine onesnažil, ki so emitirane v okolje, različne in so zato na lokacijah z večjo gostoto prometa količine onesnažil, ki se v steljkah lišajev kopičijo, večje, potrdimo. Na lokaciji Vransko, kjer je sicer gostota prometa največja, je npr. potrebno upoštevati, da je cesta z padajočim naklonom, ravna cesta in zato manj zaviranja. Tudi drugo hipotezo, ki govori o tem, da imajo težke kovine in PAH-i različne mase in zato se pričakujejo različni vzorci odlaganja– ker so PAH-i lažji, lahko potujejo dlje od vira onesnaženja, lahko potrdimo. Vsebnosti PAH-ov so v drugem pasu praviloma večje kot v pasu neposredno ob cesti, saj so lahki in lahko potujejo nekoliko dlje kot težke kovine. Med različnimi oddaljenostmi od ceste (različni pasovi izpostavitve) na istih lokacijah prihaja do razlik v vsebnostih onesnažil v lišajih; težke kovine se v večji meri kopičijo v lišajih izpostavljenih tik ob cesti, medtem ko se vsebnosti PAH-ov bolj povečajo v lišajih, izpostavljenih dlje od roba cestišča kar potrjuje našo tretjo delovno hipotezo. Prav tako pa lahko potrdimo tudi našo zadnjo, četrto hipotezo. Vsebnosti PAH-ov, Cd, Zn, Pb, ki so značilni za izpuste iz prometa bolj odražajo gostoto prometa kot onesnažila, katerih emisije zaradi prometa so manjše (na primer As). Vsebnosti težkih kovin Pb, Zn in Cd, ki so značilni za izpuste prometa ter PAH-ovi so se bolj povečale v primerjavi z začetnimi vsebnostmi v lišajih z Rogle kot arzen, ki ni onesnažil, katerega tipičen vir je promet.

6 ZAHVALA

Da je naloga uspešno končana je zaslužnih veliko ljudi, ki se jim moram tudi primerno zahvaliti. Najprej bi se zahvalila svoji mentorici Heleni Poličnik, ter so-mentorici Klavdiji Jug. Prav tako Inštitutu za ekološke raziskave ERICo Velenje kjer sem lahko opravljala raziskovalno nalogo. Zahvalila bi se še sošolcu Janu, ki mi je pomagal pri končni podobi raziskovalne naloge.

7 VIRI

1. http://www.dc.gov.si/si/delovna_podrocja/promet/ (preglednica 2012)
2. http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2711/Gradiva_Batic_P_MSc/Batic_P_MSc_A-UNI-Bioindikacija-11-12.pdf
3. Arndt, U., Nobel, W., Schweizer, B. Bioindikatoren: Möglichkeiten, Grenzen und neue Erkenntnisse. Stuttgart. 1987
4. Augusto S., Máguas C., Matos J., Pereira M.J., Soares A., Branquinho C. Spatial Modeling of PAHs in Lichens for Fingerprinting of Multisource Atmospheric Pollution. Environmental Science & Technology 43. 2009
5. Batič, F., Bioindikacija onesnaženosti zraka in njen pomen pri vzpostavitvi integralnega monitoringa. Zavod za tehnično izobraževanje. Ljubljana. 1994
6. Batič, F., Pomen bioindikacije pri spremljanju stanja okolja. Zbornik 1. mednarodnega simpozija. Rogaška Slatina. 1997a
7. Batič, F., Bioindikacija in stresna fiziologija – princip pri ekosistemskih raziskavah gozdnih ekosistemov. Gozdarski inštitut Slovenije. Ljubljana. 1997b
8. Batič, F., Kastelec, D. Spremljanje onesnaženosti zraka z uporabo epifitskih lišajev. 2009
9. Conti, M. E., Cecchetti, G. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment – a review. 2001
10. Frati, L., Brunialti, G., Loppi, S., Problem related to lichen transplants to monitor trace element deposition in repeated surveys: a case study from central Italy. Journal of Atmospheric Chemistry 52. 2005
11. Garty, J., Lichens as biomonitors for heavy metal pollution. WCH. Weinheim. 1993
12. Garty, J., Biomonitoring heavy metal pollution with lichens. Culturing, biochemistry, ecophysiology and use in biomonitoring. 2002
13. Hawksworth, D. L., Rose, F., Qualitative scale for estimating sulphur dioxide air pollution in England and Wales using epiphytic lichens, Nature 227. 1970
14. Jeran, Z., Epifitski lišaji – biološki indikatorji onesnaženosti zraka s kovinami in radionuklidi. Doktorska disertacija. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo. 1995
15. Jeran, Z., Jačimović, R. Lišaji kot biomonitorji onesnaženosti zraka s kovinami v okolici Termoelektrarne Šoštanj. 1997
16. Jeran, Z., Jačimović, R., Batič, F., Smodiš, B., Wolterbeek, H. Th., Atmospheric heavy metal pollution in Slovenia derived from results for epiphytic lichens. Journal of Analytical Chemistry 354. 1996
17. Mikhailova, I., Transplanted lichens for bioaccumulation studies. Nimis, P. L., Scheidegger, C., Wolseley, P. A., Monitoring with Lichens- Monitoring Lichens. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. 2002
18. Pokorny, B., Notranji organi in rogovje srnjadi (*Capreolus capreolus* L.) kot bioindikatorji onesnaženosti okolja z ioni težkih kovin. Doktorska disertacija. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire. 2003
19. Poličnik, H., Batič, F., Ribarič Lasnik, C., Monitoring of short-term heavy metal deposition by accumulation in epiphytic lichens (*Hypogymnia physodes* (L.) Nyl.). Journal of Atmospheric Chemistry 49. 2004

20. Poličnik, H., Ugotavljanje onesnaženosti zraka s kartiranjem epifitskih lišajev in z analizo akumulacije težkih kovin. Doktorska disertacija. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo. 2008
21. Poličnik, H., Kopušar, N., Savinek, K., Pokorny, B. Vpliv prometa na okolje v bližini večjih prometnic na podlagi analize onesnaženosti tal in bioindikatorjev. Zaključno poročilo. ERICO Velenje. 2009
22. Ribarič-Lasnik, C., BATIČ, F., AL Sayegh-Petkovšek, S. Biomonitoring gozdnega ekosistema = Biomonitoring of forest ecosystem. V: Ekološka sanacija termoenergetskih objektov in uporaba bioindikacijskih metod : zbornik povzetkov mednarodne konference = Ecological remediation of thermal power plants and use of bioindication methods : book of abstracts. Velenje: ERICO. 2005
23. Riga-Karandinos, A. N., Karandinos, M. G., Assessment of air pollution from a lignite power plant in the plain of Megalopolis (Greece) using as biomonitors three species of lichens; impact on some biochemical parameters of lichens. *Science of Total Environment* 215. 1998
24. St. Clair, S. B., St. Clair, L. L., Weber, D. J., Mangelson, N. F., Eggett D. L., Element accumulation patterns in foliose and fruticose lichens from rock and bark substrates in Arizona. *The Bryologist* 105. 2002a
25. St. Clair, S. B., St. Clair, L. L., Weber, D. J., Mangelson, N. F., Influence of growth form on the accumulation of airborne copper by lichens. *Atmospheric Environment* 36. 2002b
26. Van Dobben, H. F., Wolterbeek, H. Th., Wamelink, G. W. W., Ter Brak, C. J. F., Relationship between epiphytic lichens, trace elements and gaseous atmospheric pollutants. *Environmental Pollution* 112. 2001
27. Wilfling, A., Komposch, H., Trinkaus, P., Podesser, A., Grube, M., BIO-Indikation mit Flechten im Sueden von Graz. Endbericht. Studie im Auftrag der FA 17C, Technische Umweltkontrolle & Sicherheitswesen, Amt der Stmk. Landesregierung. 2003
28. Nimis, P. L., Scheidegger, C., Wolseley, P. A., 2000, *Monitoring with Lichens- Monitoring Lichens*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
29. Nash, T. H., 1996, *Lichen biology*. University Press, Cambridge, United Kingdom.