

Lišajníky ako bioindikátory znečistenia životného prostredia

Ružičková, S., Remeteiová, D., Mičková, V.: Lichens as Bio-Indicators of Environmental Pollution. *Životné prostredie*, 2017, 51, 3, p. 152 – 156.

Development and application of reliable analytic methods is critical for objective assessment of environmental pollution levels. In this work, the use of Xanthoria parietina and Hypogymnia physodes lichens ensured identification of environmental load imposed by heavy metals in two Slovak areas; the Martin reference area and the contaminated Zlatá Idka locality. These lichens' slow growth, longevity and ability to accumulate toxins are important determinants for their successful use as bio-indicators of environmental purity and local air quality. Herein, we propose application of three mixtures for lichen decomposition using microwave radiation. Their effectiveness is verified by atomic absorption spectrometric determination of the total content of identified heavy metals, and our results showed that; (1) the HCl + HNO₃ + H₂O₂ decomposition mixture combined in 3 : 1 : 1 ratio was the most appropriate for this purpose and (2) the lichens' differing abilities to accumulate heavy metals depended on seasonality. Importantly, our results also confirmed literature data that both Xanthoria parietina and Hypogymnia physodes lichens are specifically useful in accumulating higher levels of iron than other contaminant metals.

Key words: environmental pollution, bio-indicators, lichens, heavy metals, microwave decomposition, Atomic absorption spectrometry

Životné prostredie vytvára prirodzené podmienky existencie organizmov na Zemi a je predpokladom ich ďalšieho vývoja. Neustále sa rozrastajúca ľudská spoločnosť, rýchly technický vývoj a vysoké nároky človeka na život zanechávajú výrazné stopy v životnom prostredí. Človek po stáročia ovplyvňoval a zasahoval do jeho jednotlivých zložiek (vody, pôdy, ovzdušia), a to nielen pozitívne, ale hlavne negatívne, čo sa postupom času stále viac odzrkadľovalo na jeho kvalite. Problematike kontaminácie životného prostredia rôznymi polutantmi vrátane ťažkých kovov, ktoré patria medzi základné skupiny kontaminujúcich látok, sa začala venovať intenzívnejšia pozornosť až posledné desaťročia. Ich riziko spočíva v stálosti (neod búrateľnosti) v prostredí, v ich schopnosti prechádzať z jednej formy do druhej, pričom forma kovu determinuje jeho biopristupnosť a toxicitu. Do zložiek životného prostredia sa môžu dostať z rôznych zdrojov (prírodných, antropogénnych). Medzi hlavný zdroj znečistenia životného prostredia, pochádzajúci z antropogénnej činnosti, patria emisie z priemyselnej a banskej činnosti, ktoré sa môžu uvoľňovať do ovzdušia a v dôsledku spadu (zrážok alebo prachu) sa dostávajú do pôdy, z ktorej sú následne vymývané do povrchových a podzemných vôd. Vo vodných tokoch sa akumulujú do sedimentov, tieľ vodných alebo morských živočíchov a cestou potravného reťazca sa môžu dostávať až do tela človeka (Ernst et al., 2004). Niektoré ťažké kovy sú esenciálne, ale pri prekročení istých koncentrácií predstavujú pre človeka riziko. Miesta kontaminácie sa nachádzajú nielen v okolí priemyselných oblastí a baní, ale aj miest,

kde sa spracovávali rudy, či urbánnych centier (so spaľovaním fosílnych palív).

Problematika znečistenia životného prostredia predstavuje v súčasnosti už globálny problém. Na Slovensku sa vyskytuje až sedem oblastí, ktoré zaraďujeme medzi silno až extrémne narušené kontamináciou: košická oblasť, stredozemplínska oblasť, stredný Spiš, horné Považie a dolná Orava, stredogemerská oblasť, bratislavská aglomerácia, horná Nitra (Fargašová, 2009). Na sledovanie úrovne kontaminácie životného prostredia, monitoring a tiež na kontrolu stavu znečistenia jeho zložiek sa popri známych maticiacach, t. j. ovzduší, pôde a vode, používajú tiež bioindikátory rastlinného alebo živočíšneho pôvodu. Termín bioindikátor sa používa pre tie organizmy, ktoré reagujú na záťaž cudzorodými látkami zmenami životných prejavov alebo akumuláciou sledovaných polutantov (Honzík, 1997). Za bioindikátor je vo všeobecnosti považovaný organizmus, ktorý sa vyskytuje na určitom mieste a podľa neho je možné zistiť určité špecifické vlastnosti prostredia. Tieto organizmy môžu obsahovať oveľa vyššie koncentrácie niektorých kontaminantov, ako bývajú detegované v zložkách životného prostredia (Vávrová, 2004; Motyka, 2010).

Na prítomnosť ťažkých kovov v ich okolí sú citlivé skoro všetky organizmy. Existujú však také, ktoré dokážu v takýchto extrémnych podmienkach prežiť aj celý svoj život. Jedným z takýchto „zvláštnych“ druhov sú lišajníky. Nepatria medzi rastliny, ale sú to zaujímavé typy organizmov zložené z huby a riasy alebo sinice, ktoré žijú vo vzájomnej symbióze, tzv. lichenizme (Ernst et al., 2004; Kováčová, Lackovičová, 2001).

Niektoré lišajníky nemajú koreňový systém, ktorý vyšším rastlinám umožňuje vstrebávanie živín z pôdneho fondu, a práve preto musia získavať živiny predovšetkým z atmosféry. Zdroje živín z atmosféry sú pomerne nízke v porovnaní so živinami v pôdnom substráte. Lišajníky si samy museli vyvinúť mechanizmy na získavanie takýchto živín z atmosféry, preto sa tieto organizmy využívajú na biomonitring (Bačkor, 2011). Stielka lišajníka má veľmi jednoduchú stavbu. Dôsledkom nej môže získavať ióny kovov z veľmi zriedených roztokov, ako je napr. roztopený sneh. K elementárnej výmene teda môže dochádzať na celom povrchu lišajníka (Garty, 2002; Garty et al., 2002). Pomalý rast a dlhovekosť sú ďalšími významnými vlastnosťami z hľadiska využitia lišajníkov ako bioindikátorov (Ulbrichová, 2007).

Niektoré typy lišajníkov rastú na miestach zafažených určitým typom kovov, preto sú veľmi dobrým bioindikátorom znečistenia životného prostredia. Na akumuláciu kovov, napr. železa, vplýva mnoho faktorov. Jedným z najdôležitejších je pH. Lišajníky si predovšetkým vyžadujú slabo kyslé až kyslé prostredie s hodnotami pH menšími ako 5. V takto kyslom prostredí telá lišajníkov najľahšie interagujú s toxickými kovmi (Ernst et al., 2004). Kovy prijímajú lišajníky buď pasívne, alebo aktívne cez koreňové bunky. Lišajníky majú vytvorený špeciálny mechanizmus na detoxikáciu kovov pomocou peptidov – fytochelátinov, ktoré sú schopné vytvoriť s kovmi komplex a transportovať ho do vakuoly, kde sú toxické účinky miernejšie, čím chránia lišajník pred vyššou koncentráciou ťažkých kovov, ktorá sa nachádza v ich stielkach (Cobbett, 2000; Zagorchev et al., 2013).

V strednej Európe rastie približne 200 druhov týchto organizmov. Medzi lišajníky, ktoré rastú na území Slovenska, zaraďujeme napr. dutohlávkku sobiu (*Cladonia rangiferina*), diskovku bublinatú (*Hypogymnia physodes*), mapovník zemepisný (*Rhizocarpon geographicum*), havnátka psi (*Peltigera canina*), diskovník múrový (*Xanthoria parietina*) a mnoho ďalších (Kahan, 2012).

V rámci monitoringu životného prostredia je veľa postupov a metód zameraných na sledovanie obsahu ťažkých kovov v prírode. Jedným z množstva prístupov je aj využitie lišajníkov ako bioindikátorov znečistenia životného prostredia (Rupnarayan, Maitreyee, 2016; Parzych et al., 2016).

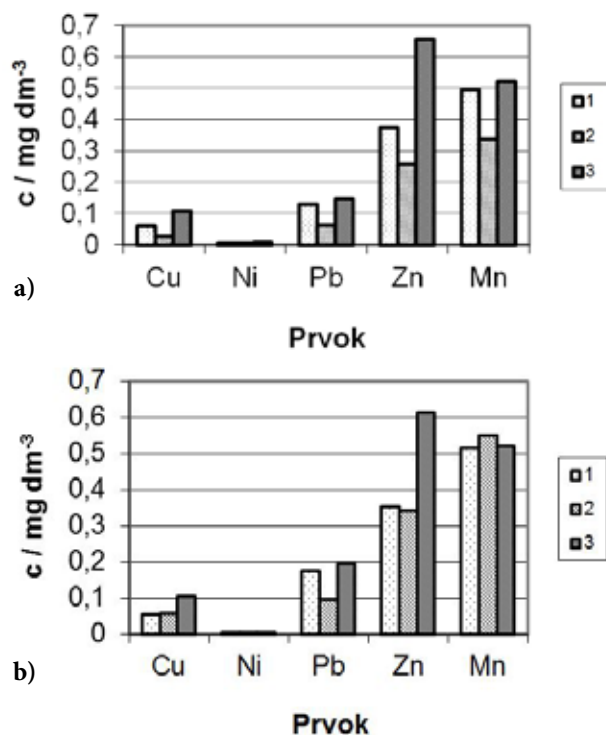
Cieľom tejto práce je posúdiť mieru zafaženia ťažkými kovmi v dvoch oblastiach na Slovensku. Na tento účel bolo potrebné navrhnuť a optimalizovať rozkladný postup na uvedenie lišajníkov do roztoku a následne metódou AAS (atómovej absorpčnej spektrometrie) kvantifikovať prítomnosť ťažkých kovov.

Výber odberových lokalít, spracovanie a úprava vzoriek

Na účely práce boli vybrané dva druhy lišajníkov, ktoré sú na území Slovenska najrozšírenejšie, a to diskovník múrový (*Xanthoria parietina*) a diskovka bublinatá (*Hypogymnia physodes*) (obr. 1).



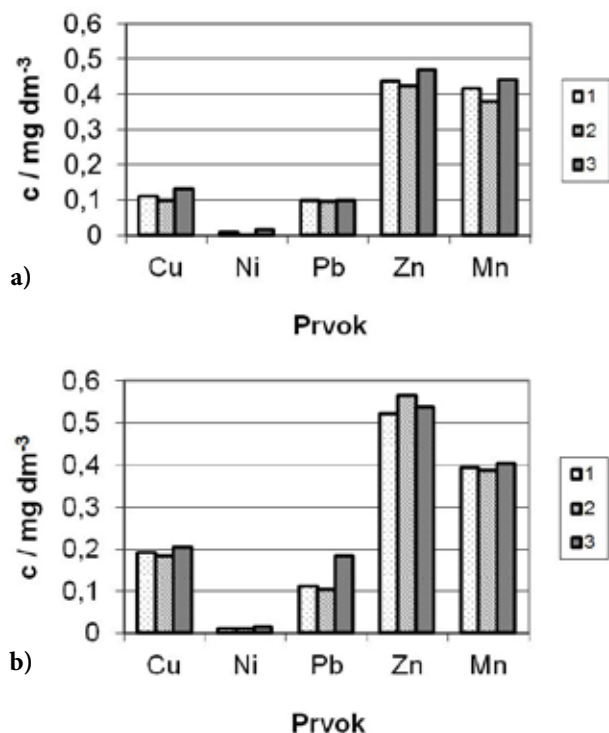
Obr. 1. Diskovník múrový (*Xanthoria parietina*) a diskovka bublinatá (*Hypogymnia physodes*) na kôre stromu (lokalita Zlatá Idka, jar 2016). Foto: Dagmar Remeteiová



Obr. 2. Porovnanie efektívnosti rozkladných zmesí pri rozklade lišajníka diskovníka múrového (*Xanthoria parietina*): a) na jeseň 2015, b) na jar 2016

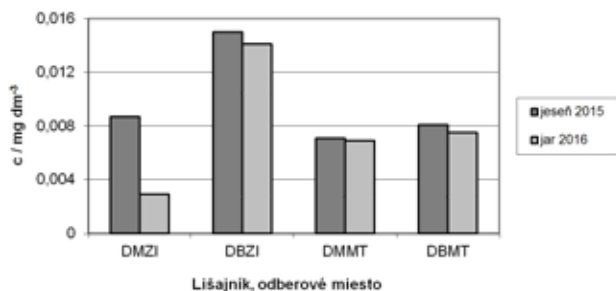
Vysvetlivky: Rozkladná zmes: 1) $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$, 2) $\text{HCl} + \text{HNO}_3 + \text{HF}$, 3) $\text{HCl} + \text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$; c – hodnoty koncentrácie sledovaných ťažkých kovov

Lišajníky boli odoberané z dvoch odberových lokalít. Prvá, obec Zlatá Idka, predstavuje predpokladanú kontaminovanú oblasť. V minulosti sa zaraďovala medzi najvýznamnejších producentov zlata a striebra vo svete. Táto obec je aj v súčasnosti zafaženou oblasťou hlavne emisiami hutníckeho priemyslu, keďže sa nachádza ne-



Obr. 3. Porovnanie efektívnosti rozkladných zmesí pri rozklade lišajníka diskovky bublinatej (*Hypogymnia physodes*): a) na jeseň 2015, b) na jar 2016

Vysvetlivky: Rozkladná zmes: 1) HNO₃ + H₂O₂, 2) HCl + HNO₃ + HF, 3) HCl + HNO₃ + H₂O₂; c – hodnoty koncentrácie sledovaných ťažkých kovov



Obr. 4. Akumulácia niklu lišajníkmi

Vysvetlivky: DMZI – diskovník múrový (*Xanthoria parietina*), lokalita Zlatá Idka; DBZI – diskovka bublinatá (*Hypogymnia physodes*), lokalita Zlatá Idka; DMMT – diskovník múrový (*Xanthoria parietina*), lokalita Martin; DBMT – diskovka bublinatá (*Hypogymnia physodes*), lokalita Martin; c – hodnoty koncentrácie sledovaných ťažkých kovov

ďaleko (cca 23 km) hutníckeho gigantu U. S. Steel Košice, s. r. o., a teda je tu vysoký predpoklad kontaminácie zložiek životného prostredia ťažkými kovmi. Ako druhá odberová lokalita bola vybraná záhradkárska kolónia v meste Martin. V Martine bolo v minulosti rozvinuté hlavne ťažké a zbrojárske strojárstvo, no už viac ako 20

rokov sa tu spomínaný druh priemyslu nerealizuje. Vybraná oblasť sa nachádza pod úpäťm Národného parku Malá Fatra, približne 10 km od centra mesta v smere severo-severozápad, kde nie je žiadny známy významný zdroj kontaminácie životného prostredia ťažkými kovmi.

Kvôli medzisezónnemu porovnaniu akumulácie ťažkých kovov lišajníkmi sa vzorky odoberali dvakrát, na jeseň 2015 a na jar 2016. Vzorky boli v oboch prípadoch odoberané zo stromov z výšky od 1 do 1,5 metra. Z dôvodu zníženia rizika kontaminácie vzorky odberovým zariadením sa na odber vzoriek lišajníkov použil plastový nožík. Odobrané vzorky boli uložené do plastových skladovacích nádob a dopravené do laboratória. Lišajníky sa voľne sušili pri teplote 20 °C po dobu jedného týždňa. Následne s cieľom zhomogenizovania a vytvorenia reprezentatívnych vzoriek boli mleté v guľovom mlyne po dobu 15 minút.

Akumulácia ťažkých kovov v lišajníkoch

Z kvalitatívnej analýzy, ktorá sa realizovala metódou ICP-OES vyplynulo, že vo vzorkách sa nachádzajú nasledovné ťažké kovy: striebro (Ag), železo (Fe), kobalt (Co), chróm (Cr), meď (Cu), mangán (Mn), nikel (Ni), olovo (Pb), antimón (Sb) a zinok (Zn).

Nájdenie vhodného rozkladného postupu na uvedený typ biologického materiálu znamená overenie efektivity rozkladu na základe stanovenia celkových obsahov prvkov. Na tento zámer bola použitá vysoko citlivá metóda HR CS FAAS, ktorou sa kvantifikovali prvky Fe, Cu, Mn, Ni, Pb a Zn. Výsledky stanovenia (hodnoty koncentrácie c vyjadrené v mg dm⁻³ sledovaných ťažkých kovov) graficky znázorňujú obr. 2 – 7.

Efektivita rozkladu jednotlivých rozkladných zmesí aplikovaných na lišajníky z odberovej lokality Zlatá Idka je graficky znázornená na obr. 2 a 3. Ukázalo sa, že najúčinnjšou bola zmes HCl + HNO₃ + H₂O₂ v pomere 3 : 1 : 1. Pri tejto kombinácii rozkladných činidiel boli dosiahnuté najvyššie hodnoty celkových obsahov všetkých detegovaných kovov. Druhou v poradí bola zmes HCl + H₂O₂ v pomere 7 : 1. Najmenej účinnou rozkladnou zmesou bola zmes HCl + HNO₃ + HF v pomere 3 : 1 : 1, čo bolo prekvapujúce vzhľadom k tomu, že účinkom tejto zmesi došlo k totálnemu rozkladu vzorky na rozdiel od dvoch predchádzajúcich zmesí kyselín. Obdobné výsledky boli dosiahnuté aj v prípade rozkladu lišajníkov z odberovej lokality Martin. Stanovené koncentrácie ťažkých kovov z tejto oblasti boli vo všetkých prípadoch oproti lokalite Zlatá Idka nižšie. Z uvedeného je zrejmé, že ďalej budú diskutované len výsledky získané aplikáciou najúčinnjšej rozkladnej zmesi HCl + HNO₃ + H₂O₂ (3 : 1 : 1).

Pre lokalitu Zlatá Idka z výsledkov vyplynulo, že najnižšie koncentrácie v oboch lišajníkoch (obr. 4) dosahoval Ni a najvyššie Fe (obr. 5). Obsahy ďalších kovov sú graficky znázornené na obr. 6. Pri porovnaní

obsahov všetkých kovov v lišajníku diskovník múrový rástli koncentrácie v rade Ni, Cu, Pb, Mn, Zn, Fe, a v lišajníku diskovka bublinatá v rade Ni, Pb, Cu, Mn, Zn a Fe. Pri porovnaní obsahov kovov medzi lišajníkmi navzájom môžeme konštatovať vyšší obsah Cu, Ni a Fe v diskovke bublinatej a vyšší obsah Mn, Pb a Zn v diskovníku múrovom.

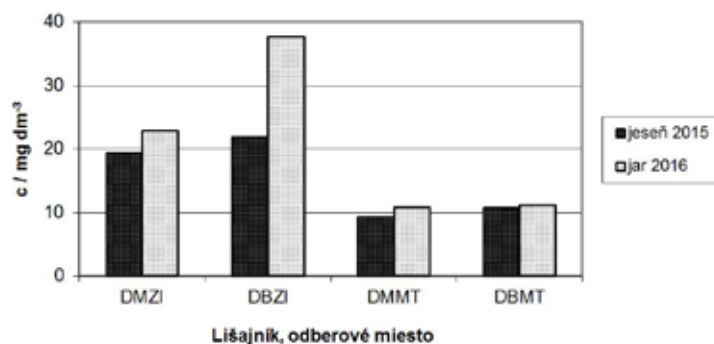
Vo vzorkách z lokality Martin (obr. 7) sú stanovené koncentrácie sledovaných ťažkých kovov v porovnaní s lokalitou Zlatá Idka, ako už bolo spomenuté, všeobecne nižšie. Aj v tomto prípade najnižšie koncentrácie v obidvoch lišajníkoch dosahoval Ni (obr. 4) a najvyššie Fe (obr. 5). Obsah Cu a Pb je v obidvoch lišajníkoch na podobnej koncentračnej úrovni. Obsahy kovov v obidvoch lišajníkoch majú identický trend rastu koncentrácie v rade Ni, Cu, Pb, Mn, Zn a Fe.

Jedným z faktorov, ktoré môžu vplývať na akumuláciu ťažkých kovov, je aj ročné obdobie (obr. 4 – 7). Lišajník diskovník múrový, či už z oblasti Zlatá Idka alebo Martin, akumuluje vo väčšej miere Pb, Mn a Fe v jarnom období. Na druhej strane akumulácia kovov, ako Cu, Ni a Zn, prebieha vo väčšom množstve v jesennom období, kedy sú extrémnejšie poveternostné podmienky oproti jari. Lišajník diskovka bublinatá z oblasti Zlatá Idka a Martin (obr. 4 – 7) akumuluje detegované kovy v iných obsahoch ako lišajník diskovník múrový. Kovy ako Cu, Pb, Zn a Fe sa nachádzajú v tomto lišajníku vo vyšších obsahoch najmä v jarnom, teplejšom období. Ni a Mn dosahujú vyššie hodnoty v jesennom období.

Ak porovnáme zaťaženosť vybraných lokalít ťažkými kovmi, je zrejmé, že Zlatá Idka je viac zasiahnutá ťažkými kovmi ako lokalita v okolí Martina, čo potvrdilo náš predpoklad o nezaťaženosťi tejto oblasti ťažkými kovmi a jej použiteľnosti ako referenčnej. Koncentrácie namerané v referenčných vzorkách sa v tomto prípade dajú pokladať za prípustné, ktoré môžu dané lišajníky obsahovať. Jediný kov, ktorý sa vymyká z priemeru, je Ni, aj to iba v prípade lišajníka diskovníka múrového, kde bol stanovený väčší obsah v referenčnej vzorke. Avšak túto skutočnosť je možné považovať z hľadiska toxicity a stanovenej koncentrácie ($0,0068 \text{ mg dm}^{-3}$) za nevýznamnú.

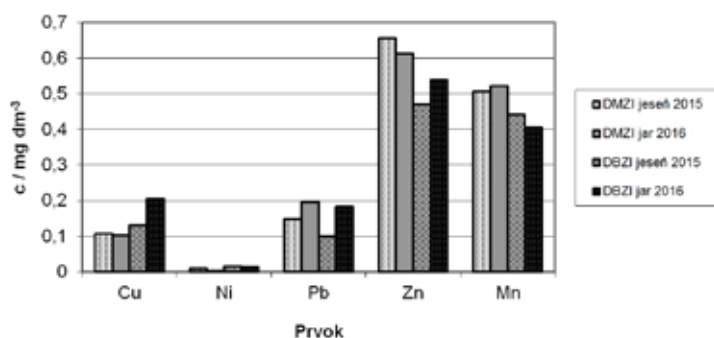
* * *

Cieľom tejto práce bolo prostredníctvom aplikovaných analytických postupov poukázať na možnosť využitia lišajníkov v oblasti kontroly kvality životného



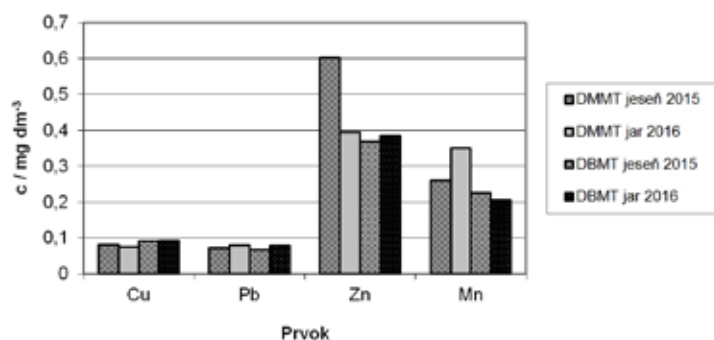
Obr. 5. Akumulácia železa lišajníkmi

Vysvetlivky: DMZI – diskovník múrový (*Xanthoria parietina*), lokalita Zlatá Idka; DBZI – diskovka bublinatá (*Hypogymnia physodes*), lokalita Zlatá Idka; DMMT – diskovník múrový (*Xanthoria parietina*), lokalita Martin; DBMT – diskovka bublinatá (*Hypogymnia physodes*), lokalita Martin; c – hodnoty koncentrácie sledovaných ťažkých kovov



Obr. 6. Porovnanie akumulácie ťažkých kovov lišajníkmi diskovníkom múrovým (DM) a diskovkou bublinatou (DB) v lokalite Zlatá Idka (ZI)

Vysvetlivky: c – hodnoty koncentrácie sledovaných ťažkých kovov



Obr. 7. Porovnanie akumulácie ťažkých kovov lišajníkmi diskovníkom múrovým (DM) a diskovkou bublinatou (DB) v lokalite Martin (MT)

Vysvetlivky: c – hodnoty koncentrácie sledovaných ťažkých kovov

prostredia. Navrhnuté boli tri rozkladné postupy pre mikrovlnovo podporovaný rozklad lišajníkov, ktorých efektivita bola overená stanovením celkových obsahov

vybraných ťažkých kovov v dvoch druhoch lišajníkov. Z našich výsledkov vyplynulo, že najvhodnejšou rozkladnou zmesou je zmes $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$ (3 : 1 : 1). Túto rozkladnú zmes možno za uvedených podmienok odporučiť na rozklad lišajníkov pomocou mikrovlnového zariadenia. Bolo zistené, že v stielkach obidvoch lišajníkov sa najviac akumulovalo železo, čím sa potvrdila hypotéza z odbornej literatúry, že práve tento kov sa v lišajníkoch najviac vyskytuje.

Kvalita životného prostredia sa odráža aj v jeho živých zložkách (lišajníkoch), čo sa ukázalo aj pri porovnaní vybraných lokalít. Je evidentné, že Zlatá Idka je viac zaťažená ťažkými kovmi (existujúce staré environmentálne záťaže a aktívny hutnícky priemysel) oproti oblasti Martina. Je však potrebné upozorniť, že obsah ťažkých kovov v stielkach analyzovaných lišajníkov neodráža množstvo týchto látok v prostredí, v ktorom daný lišajník rastie, napr. v pôdach alebo, ako v tomto prípade, v kmeňoch stromov.

Z pohľadu ďalšieho výskumu by bolo zaujímavé uskutočniť analýzu pôd alebo materiálov (z daných oblastí), zistiť pôdnu reakciu, na základe ktorej by sa dala zhodnotiť v konfrontácii s výsledkami kvantifikácie ťažkých kovov vo vzorkách lišajníkov biopristupnosť jednotlivých kovov (najväčšia akumulácia ťažkých kovov lišajníkmi prebieha pri $\text{pH} = 5$) pre koreňový systém rastlín (stromov), na ktorých lišajníky rastú.

Táto práca bola finančne podporovaná projektom Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR a Slovenskej akadémie vied č. 1/0631/17.

Literatúra

- Bačkor, M.: Lichens and Heavy Metals: Toxicity and Tolerance. Košice: Pavol Jozef Šafárik University, 2011, 129 p.
- Cobbett, Christopher S.: Phytochelatins and Their Roles in Heavy Metal Detoxification. *Plant Physiology*, 2000, 123, p. 825 – 832.
- Ernst, W. H. O., Kratz, S., Knolle, F., Schnug, E.: Aspects of Ecotoxicology of Heavy Metals in the Harz Region – A Guided Excursion. *Landbauforschung Volkenrode*, 2004, 54, p. 53 – 71.
- Fargašová, A.: Znečistenie kovmi na Slovensku. 2009. (http://www.enviro-edu.sk/database/environmentalne_problemy/znečistenie_kovmi_na_slovensku/Enviro-edu_4013_Znečistenie_kovmi_na_Slovensku.pdf)
- Garty, J.: Biomonitoring Heavy Metal Pollution with Lichens. In: Kranner, I. C. et al. (eds.): *Protocols in Lichenology*. Heidelberg: Springer-Verlag Berlin, 2002, p. 458 – 482.
- Garty, J., Levin, T., Cohen, Y., Lehr, H.: Biomonitoring Air Pollution with the Desert Lichen *Ramalina maciformis*. *Physiologia Plantarum*, 2002, 115, 2, p. 267 – 275.
- Honzik, R.: Využití rostlinných bioindikátorů pro hodnocení vlivů cizorodých látek na zemědělskou produkci. In: *Cizorodé látky v zemědělských ekosystémech*. Praha: Výzkumný ústav zemědělské výroby, 1997. (http://stary.biom.cz/sborniky/sb97PrVana/sb97PrVana_honzik.html)
- Kahan, J.: Lišajníky. Bratislava: Strom života, 2012, 26 s.
- Kováčová, A., Lackovičová, A.: Lišajníky. Bratislava: Strom života, 2001, 24 s.
- Motyka, O.: Jak to vidí mech: biomonitoring znečistění ovzduší.

2010. (http://old.chmi.cz/OS/metspol/prednasky/Motyka_mechy.pdf)
- Parzych, A., Zduńczyk, A., Astel, A.: Epiphytic Lichens as Bioindicators of Air Pollution by Heavy Metals in an Urban Area (Northern Poland). *Journal of Elementology*, 2016, 21, 3, p. 781 – 795.
- Rupnarayan, S., Maitreyee, K.: Epiphytic Lichens: Their Usefulness as Bio-Indicators of Air Pollution. *Donnish Journal of Research in Environmental Studies*, 2016, 3, 3, p. 17 – 24.
- Ulbrichová, I.: Bioindikátory. Skripta. 2007. (http://fle.czu.cz/~ulbrichova/Skripta_HIO/kapitoly/Metody/bioindikatory.htm)
- Vávrová, M.: Využití bioindikátorů při hodnocení starých zátěží terestrického ekosystému. (Studie zpracovaná pro Vědecký výbor fytosanitární a životního prostředí). Brno: Vysoké učení technické v Brně, 2004, 102 s.
- Zagorchev, L., Seal, Ch. E., Kranner, I., Odjakova, M.: A Central Role for Thiols in Plant Tolerance to Abiotic Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14, 4, p. 7405 – 7432.

doc. RNDr. Silvia Ružičková, PhD.,

silvia.ruzickova@tuke.sk

doc. Ing. Dagmar Remeteiová, PhD.,

dagmar.remeteiova@tuke.sk

RNDr. Vladislava Mičková, PhD.,

vladislava.mickova@tuke.sk

Oddelenie environmentálnej analýzy Ústavu recyklačných technológií Fakulty materiálov, metalurgie a recyklácie Technickej univerzity v Košiciach, Letná 9, 042 00 Košice