

ZMIANY MAKROSKOPOWE PLECH *HYPOGYMNIA PHYSODES* (L.) NYL . W WARUNKACH STRESU ANTROPOGENICZNEGO

Małgorzata Anna Jóźwiak

Jóźwiak M.A., 2012: Zmiany makroskopowe plech *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. w warunkach stresu antropogenicznego (*Macroscopic changes of Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. in antropogenic stress conditions), Monitoring Środowiska Przyrodniczego, Vol. 13, s. 51–62.

Zarys treści: W ostatnich latach obserwuje się dynamiczny rozwój technik bioanalitycznych opartych na wykorzystywaniu organizmów żywych jako biowskaźników. Obserwacje, analizy jakościowe i ilościowe organizmów w ich naturalnych warunkach siedliskowych pozwalają na określenie stanu środowiska przyrodniczego.

Badania mające na celu ocenę zmian, jakie powstają w organizmach poddanych stresowi antropogenicznemu, przeprowadzono w latach 2004–2007 na obszarze aglomeracji Kielc.

Organizmem był porost pustułka pęcherzykowata *Hypogymnia physodes*, którą przywożono z Puszczy Boreckiej na gałązkach o długości 30 cm. Transplantowane porosty eksponowano w wyznaczonych obszarach, po trzy gałązki w każdym punkcie.

Ekspozycja każdorazowo trwała 3 miesiące. W zebranych porostach oznaczano Pb, Zn, Cd. Do oceny zmian morfologicznych plech eksponowanych porostów wykorzystano mikroskop stereoskopowy Nikon MSZ 645 oraz skaningowy mikroskop elektronowy FEI QUANTA 200 z mikroanalizatorem typu EDS i cyfrowym zapisem obrazu.

Słowa kluczowe: zanieczyszczenie powietrza, skrzyżowania, bioindykacja, porosty.

Key words: air pollution, crossroads, bioindication, lichens.

Małgorzata Anna Jóźwiak, Uniwersytet Jana Kochanowskiego, Katedra Ochrony i Kształtowania Środowiska, ul. Świętokrzyska 15, bud. G, Kielce, malgorzata.jozwiak@vp.pl

1. Wprowadzenie

Monitoring aparaturowy umożliwia stałą i systematyczną kontrolę stanu sanitarnego środowiska. System analiz ocenia parametry fizyczne i chemiczne badanych biotopów oraz wskazuje, czy wartości tych parametrów sygnalizują przekraczalność lub nie dla przyjętych norm. Stosowanie jedynie takich metod nie odpowiada na pytanie: jak notowane przez aparaturę wartości stężeń toksyn wpływają na życie i jego jakość w badanym środowisku. Uzupełnieniem analiz aparaturowych są metody bioindykacyjne. Miejsce urządzenia lub odczynnika chemicznego przejmuje w tych metodach organizm żywy. Wytypowanie takich organizmów, ujednolicenie ich cech, obserwacje symptomów wpływu toksyn środowisko-

wych na organizm bioindykatora to zadania bioindykacji (Wardecka, 2004). Ze względu na odmienną wrażliwość organizmów na zanieczyszczenie środowiska powstają różnego typu skale, które szeregują wykorzystywane w bioindykacji organizmy, np. skala porostowa Hawkswortha, Rosego zaproponowana w 1970 r. czy ocena bioróżnorodności Shannona-Weinera, Margalefa lub Simpsona (Jóźwiak, 2010).

Organizmy testowe wskazują oprócz ich zróżnicowanej wrażliwości także rodzaje toksyn, na które reagują (Nałęcz-Jawecki, 2003). Diagnoza stanu środowiska polega wówczas na stwierdzeniu obecności organizmu wskaźnikowego lub jego braku. Analizuje się zależność w układzie: wysokość emisji toksyn, ich koncentracje w biotopie, a następnie w organizmie biowskaźnika.

Najczęściej badane i stwierdzane korelacje zachodzą pomiędzy zawartością zanieczyszczeń w organizmach biowskaźników a podłożem, składem powietrza atmosferycznego, warunkami klimatycznymi, a także rodzajem związków chemicznych, w jakich występują analizowane pierwiastki (Kłos i in., 2008). Wobec powyższego wydaje się słuszne, aby odpowiedzieć na pytanie: jakie są objawy reagowania biowskaźników na toksyny środowiskowe?

Prowadzone badania miały na celu określenie rodzaju uszkodzeń w plechach pustułki pęcherzykowatej *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. poddanej stresowi pochodzenia antropogenicznego.

2. Metodyka badań

Badania przeprowadzono w latach 2004–2007 na obszarze aglomeracji Kielc. W mieście wytypowano trzy skrzyżowania o największym natężeniu ruchu (ryc. 1). Były to:

Skrzyżowanie 1 – natężenie ruchu pojazdów: szczyt poranny – 4241 poj./godz.; szczyt popołudniowy – 5590 poj./godz.

Skrzyżowanie 2 – natężenie ruchu pojazdów: szczyt poranny – 3287 poj./godz.; szczyt popołudniowy – 3350 poj./godz.

Skrzyżowanie 3 – natężenie ruchu pojazdów: szczyt poranny – 4207 poj./godz.; szczyt popołudniowy – 4241 poj./godz.



Objaśnienia: 1, 2, 3 – skrzyżowania.

Explanation: 1, 2, 3 – crossroad.

Ryc. 1. Położenie punktów ekspozycji porostów

Fig. 1. Location points lichens exposure

Organizmem poddawany stresowi był porost pustułka pęcherzykowata *Hypogymnia physodes*, którą przywożono z Puszczy Boreckiej na gałązkach o długości 30 cm. Transplantowane porosty eksponowano w wyznaczonych obszarach, po trzy gałązki na każdym skrzyżowaniu. Przed każdą ekspozycją pobierano próbkę „O”, którą do czasu analizy chemicznej przechowywano w zamkniętym pojemniku. Puszcza Borecka dla Polski uznana jest jako obszar wzorcowo czysty (Śniezek i in., 2006). Z tego względu transplantacja w terenie kontrolnym nie była konieczna. Ekspozycja każdorazowo trwała 3 miesiące. Badania terenowe rozpoczęto 1 stycznia 2004 r. Gałązki z porostem wieszano w wyznaczonych punktach na pniach drzew, na wysokości 2 m nad gruntem. Po upływie trzech miesięcy gałązki zdejmowano i przewożono do laboratorium, gdzie starannie oddzielano plechy porostu od podłoża – kory gałązki. W zebranych porostach oznaczano Pb, Zn i Cd w laboratorium Zakładu Ochrony Środowiska Politechniki Świętokrzyskiej w Kielcach, przyjmując następujące długości fal: kadm – λ 228,8 nm, ołów – λ 217 nm, miedź – λ 324,7 nm, żelazo – λ 248,3 nm, cynk – λ 213,9 nm. Stężenie każdego metalu podano w $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ suchej masy.

Do oceny zmian morfologicznych plech eksponowanych porostów wykorzystano mikroskop stereoskopowy Nikon MSZ 645 oraz skaningowy mikroskop elektronowy FEI QUANTA 200 z mikroanalizatorem typu EDS-XRF (fluorescencyjny spektrofotometr rentgenowski z dyspersją energii) i cyfrowym zapisem obrazu.

Analizując zmiany w budowie morfologicznej plechy poddanej stresowi zanieczyszczeń pogrupowano w cztery kategorie: * uszkodzenia brzegowe rozetkowatych rozgałęzień plechy, ** uszkodzenia u nasady dychotomicznych płatków, *** uszkodzenia soraliów wargowych, **** zmiany barwne (wybielenia, zbrązowienia, zczernienia). Dodatkowo skrawki mikroskopowe, w których stwierdzono uszkodzenia lub zmiany barwne poddano analizie chemicznej mikroanalizatorem ED-XRF, dokonując analiz chemicznych z wnętrza plechy.

Dla zobrazowania warunków w jakich następowała kumulacja metali ciężkich w plechach porostów przeanalizowano podstawowe parametry meteorologiczne, tj. temperaturę powietrza, wielkość opadów oraz wilgotność względną powietrza.

Wyniki opracowano przy wykorzystaniu programu Statistica 6,0.

3. Charakterystyka próbki kontrolnej

Plecha *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl jest zielona lub zielonosina, listkowata, grzbieto-brzusznie spłasz-

czona (fot. 1), bezchwytlikowa, umocowana do podłoża zmarszczkami kory dolnej. Odcinki plechy są zakończone wywiniętymi soralią wargowymi (fot. 2).

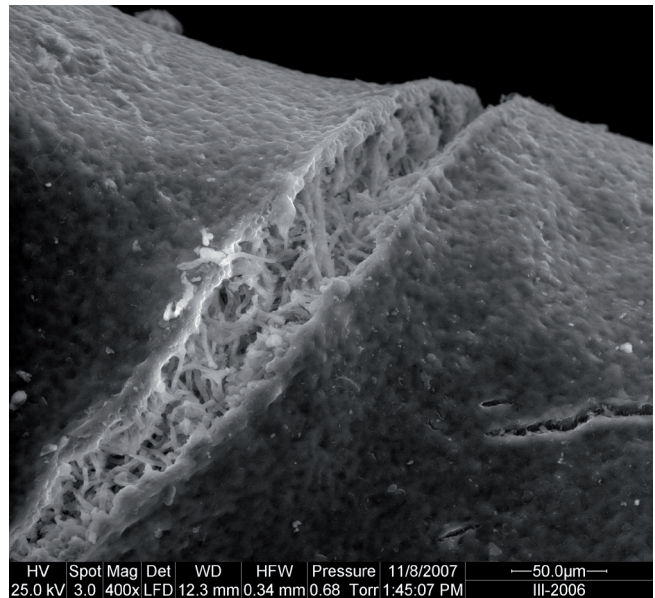
Znajdują się tu skupienia sorediów, ziarenkowatych organów rozmnażania wegetatywnego złożonych z komórek glonów oplecionych grzybnią. Licznie widoczne soralia w próbie kontrolnej wskazują na dobry stan zdrowotny plechy. Potwierdzeniem prawidłowo rozwiniętej struktury heteromerycznej plechy są fotografie elektroniczne. Widoczne w szczelinach komórki fotobionta, glony *Trebouxia* sp. o kształcie kokoidalnym, otoczone są prawidłowo wykształconymi, nitkowatymi komórkami mykobionta (fot. 4). Na powierzchni plechy występują liczne szczelinowate pseudocyfele. Te rozluźnienia górnej warstwy korowej, to obszary wymiany gazowej (fot. 3).



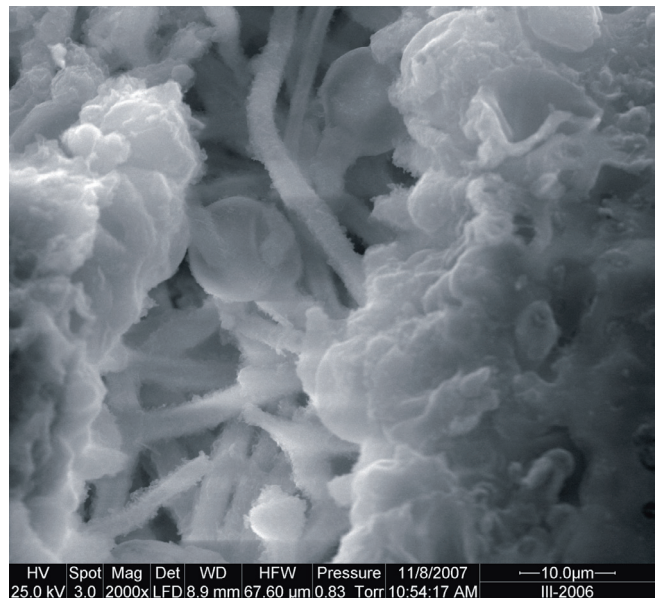
Fot. 1. Dychotomiczne, rozetkowe rozgałęzienia płatków plechy o budowie dorsowentralnej (Fot. M.A. Józwiak)
Photo 1. Dichotomous, branching rosette-like fronds to spine bottom build (Photo M.A. Józwiak)



Fot. 2. Mączyste soraliū wargowe (Fot. M.A. Józwiak)
Photo 2. Floury labial soralia (Photo M.A. Józwiak)



Fot. 3. Pseudocyfele w korze górnej plechy *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., pow. 400x (Fot. M.A. Józwiak)
Photo 3. Pseudocyphele in the upper part of thallus *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. mag. 400x (Photo M.A. Józwiak)



Fot. 4. Rozluźnienie strzępki grzybni z komórkami glonowymi z warstwy ginidialnej pow. 2000x (Fot. M.A. Józwiak)
Photo 4. Mould filaments loose and alga cells, mag. 2000x (Photo M.A. Józwiak)

4. Wyniki

Dla badanego obszaru miasta istotnym zanieczyszczeniem pozakomunikacyjnym, komunalnym i przemysłowym pochodzącym z emitorów zlokalizowanych wewnątrz miasta są pyły cementowe z cementowni położonych w odległości 10 km. Gołuchowska, Strzyszcz

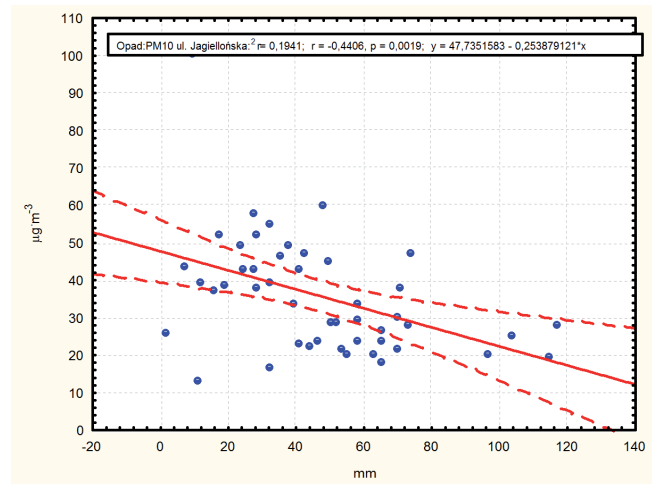
(1999) wykazały, że pyły cementowe zawierają duże ilości metali ciężkich (Zn, Cd, Mo, Cu, Pb, Hg). Wielkość zanieczyszczenia powietrza pyłem o średnicy cząsteczek 10 μm (PM10) dla miasta uzyskano z danych Państwowego Monitoringu Środowiska. Na ich podstawie stwierdzono, że średnie stężenie pyłu PM10 za lata 2004–2007 wynosiło 36,1 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, najwyższe wartości osiągając w miesiącach zimnych, ze średnią 48,1 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ w I kwartale, z wahaniami od 24,4 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ w styczniu 2007 do 100,6 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ w styczniu 2006 i średnią 41,9 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ w IV kwartale, z wahaniami od 29,0 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ w listopadzie 2005 do 58,2 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ w grudniu 2007. Znacznie mniejsze wartości stężenia pyłu zawieszonego notowano w miesiącach ciepłych. Średnie stężenie z półrocza ciepłego wynosiło 27,2 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Najwyższe średnie stężenie pyłu PM10 za lata 2004–2007 stwierdzono w kwietniu (42,0 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$), najniższe w czerwcu (18,3 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) – tabela 1.

Tab. 1. Średnie miesięczne stężenie pyłu zawieszonego PM10 w Kielcach w latach 2004–2007

Tab. 1. Average monthly concentrations of PM10 in Kielce in 2004–2007 years

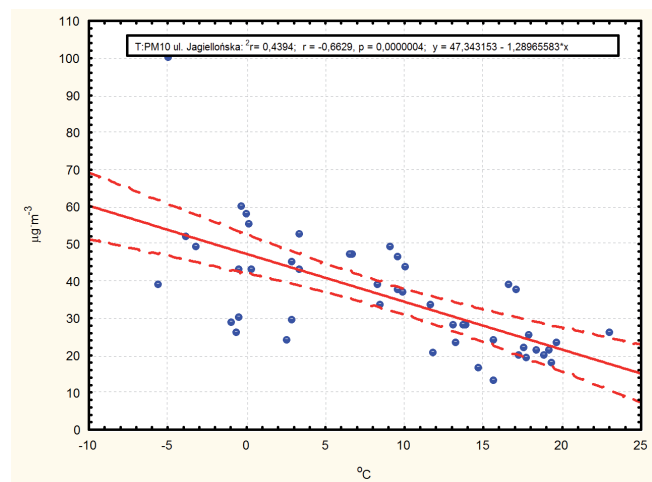
Miesiąc Month	Skrzyżowania Crossroads			
	2004	2005	2006	2007
I	39,5	30,7	100,6	24,4
II	26,7	52,2	49,5	43,4
III	45,6	55,5	60,6	47,7
IV	34,2	49,5	46,9	37,4
V	20,9	23,8	28,8	24,2
VI	13,4	16,9	22,7	20,4
VII	20,3	23,9	26,2	18,6
VIII	21,7	25,6	19,9	22,0
IX	28,8	39,6	38,3	28,4
X	38,2	44,1	34,2	39,3
XI	29,9	52,8	47,6	Bd
XII	43,3	29,0	43,2	58,2

Stężenie pyłu w powietrzu zależało od wielu czynników, w których poza wielkością emisji główną rolę odgrywały warunki meteorologiczne (temperatura powietrza, opad, wilgotność względna powietrza, prędkość wiatru). Wśród nich opad był czynnikiem ograniczającym wielkość stężenia pyłu w powietrzu (ryc. 2), wzrost temperatury ograniczał, a spadek wpływał na zwiększenie stężenia pyłu (ryc. 3), wilgotność względna powietrza była czynnikiem stymulującym (ryc. 4).



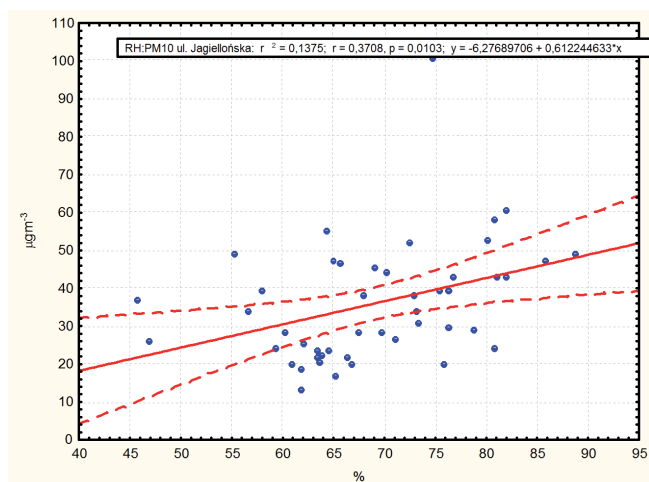
Ryc. 2. Dwuwymiarowy wykres rozrzutu z linią regresji wskazujący na korelację między PM10 a opadem w rejonie badanych skrzyżowań

Fig. 2. Regression line showing a correlation between PM10 dust and atmospheric precipitation in the area of the crossroads in the city of Kielce



Ryc. 3. Dwuwymiarowy wykres rozrzutu z linią regresji wskazujący na korelację pomiędzy PM10 a temperaturą w rejonie skrzyżowań

Fig. 3. Regression line showing a correlation between PM10 dust and temperature in the area of the crossroads in the city of Kielce



Ryc. 4. Dwuwymiarowy wykres rozrzutu z linią regresji wskazujący na korelację pomiędzy PM10 a wilgotnością względną powietrza w rejonie skrzyżowań

Fig. 4. Regression line showing the correlation between PM10 dust and air relative humidity in the area of the crossroads

Z punktu widzenia warunków meteorologicznych sprzyjających gromadzeniu się zanieczyszczeń powietrza w przyziemnej warstwie atmosfery w analizowanym okresie pod uwagę brany był I i IV kwartał. Miesiące te charakteryzowały się niską temperaturą (średnia za lata 2004–2007 w I kw. $-0,7^{\circ}\text{C}$, w IV kw. $4,6^{\circ}\text{C}$), dużą, przekraczającą 70%, wilgotnością względną powietrza (średnia za lata 2004–2007 w I kw. 75%, w IV kw. 78%) i niskimi opadami (średnia za lata 2004–2007 w I kw. 43 mm, w IV kw. 37,5 mm). Przeważający południowo-zachodni kierunek wiatru przynosił zanieczyszczenia z leżącego w odległości 10 km od miasta tzw. Białego Zagłębia, na obszarze którego skumulowany jest przemysł cementowo-wapienniczy.

4.1. Kumulacja metali ciężkich w plechach transplantowanych porostów

W transplantowanych porostach oznaczano trzy podstawowe, z punktu widzenia ich oddziaływania toksycznego, metale ciężkie. Były to kadm, ołów i cynk.

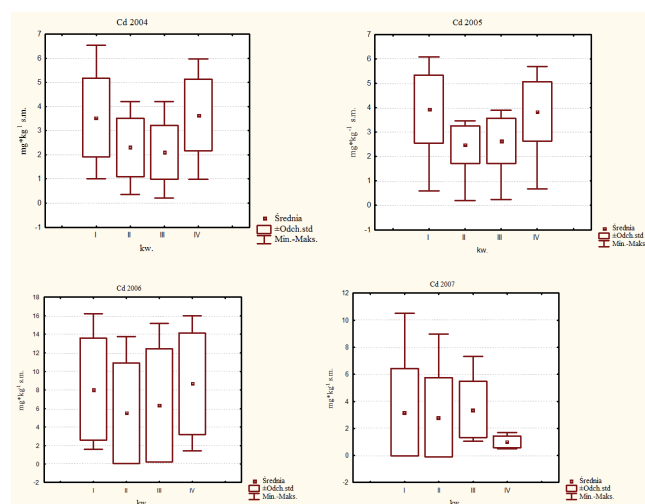
Cd – kadm

Fizjologiczny efekt nadmiaru Cd w plechach porostu związany jest z obniżeniem wydajności procesu respiracji i fotosyntezy. Przy wysokiej zawartości tego metalu fotosynteza może ulec całkowitemu zahamowaniu. Kadm zaburza transpirację i przemiany związków azotowych, wpływa na przepuszczalność błon komórkowych i strukturę DNA (González, 2005). Zmieniając metabolizm pierwiastków fizjologicznie aktywnych

(Zn, Cu, Fe, Mg, Ca, Se) na drodze interakcji, powoduje zaburzenia morfologii i czynności życiowych. Zaobserwowano, że przenikając do komórek w postaci jonowej, tworzy wiązania kowalencyjne i jonowe z atomami siarki, wodoru i tlenu (Królak, 2000).

Średnie stężenie kadmu w plechach porostu eksponowanego w Kielcach w latach 2004–2007 wynosiło $4,64 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{s.m.}$, z wahaniami od $3,15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{s.m.}$ w 2005 r. do $7,76 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{s.m.}$ w 2006 r. (ryc. 5). W okresie przyjętym do badań najwyższe kadmu stwierdzono na skrzyżowaniach $5,64 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{s.m.}$

W ciągu roku dynamika kumulacji kadmu w plechach porostu wskazuje, że najwyższe stężenie występowało w I i IV kwartale, z wyjątkiem roku 2007, w którym najwyższe stężenie Cd wystąpiło w III kwartale, a najniższe w IV kwartale.

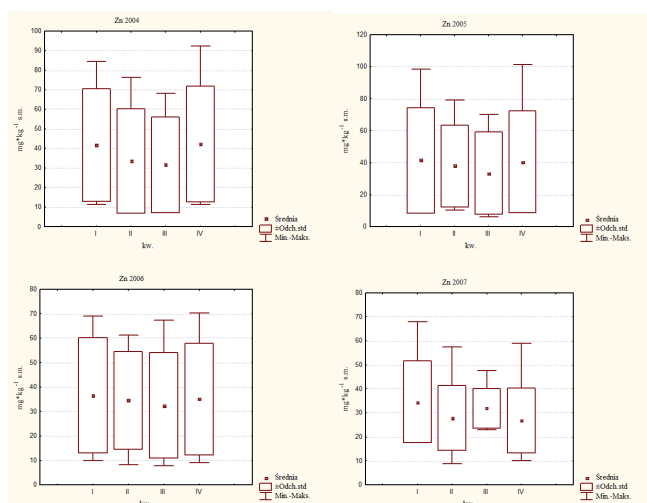


Ryc. 5. Kwartalne stężenie Cd w plechach *Hypogymnia physodes* eksponowanych w Kielcach w latach 2004–2007

Fig. 5. Quarterly Cd concentration in the *Hypogymnia physodes* lichen thallus exposed in Kielce in 2004–2007

Zn – cynk

Nadmiar cynku powoduje osłabienie fotosyntezy i respiracji aż do całkowitej inhibicji oraz zaburzenie wiązania azotu. Pod wpływem tego metalu następuje także uszkodzenie przepuszczalności błon komórkowych, które objawia się wypływem jonów potasu z wnętrza komórek (Loppi i in., 1998; Wiessman i in., 2005). Średnie stężenie cynku w plechach porostu eksponowanego w Kielcach w latach 2004–2007 wynosiło $28,19 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{s.m.}$. W okresie przyjętym do badań najwyższe średnie stężenie na skrzyżowaniach wynosiło $42,16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{s.m.}$, z wahaniami od $16,92 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{s.m.}$ do $71,30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{s.m.}$ (ryc. 6).



Ryc. 6. Kwartalne stężenie Zn w plechach *Hypogymnia physodes* eksponowanych w Kielcach w latach 2004–2007

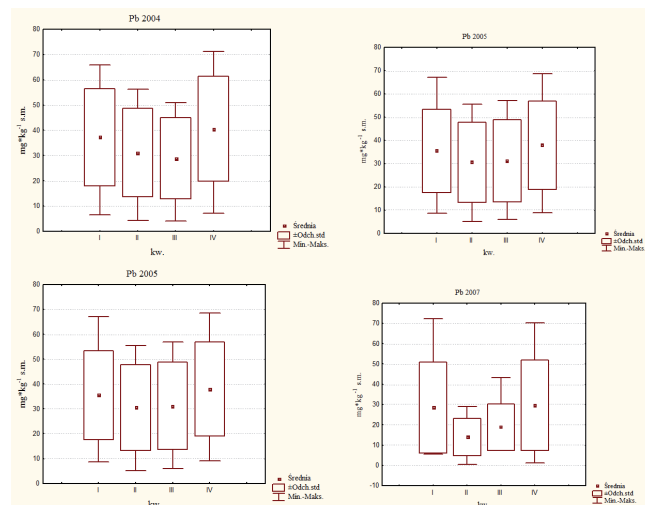
Fig. 6. Quarterly Zn concentration in the *Hypogymnia physodes* lichen thallus exposed in Kielce in 2004–2007

Pb – ołów

Średnioroczne stężenie dopuszczalne Pb w powietrzu według WHO wynosi $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Wartość ta jest również wartością graniczną podawaną przez Unię Europejską oraz dopuszczalną wartością graniczną w Polsce. Dopuszczalne godzinne stężenie ołowiu w Polsce zakłada wartość nie większą niż $5 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Normowany jest

także dopuszczalny opad ołowiu i wynosi $0,1\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$.

Średnie stężenie ołowiu w plechach porostu ekspozowanego w Kielcach w latach 2004–2007 wynosiło $34,47 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{s.m.}$, na skrzyżowaniach $47,84 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{s.m.}$, z wahaniami od $27,63 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{s.m.}$ do $55,60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{s.m.}$ (ryc. 7).



Ryc. 7. Kwartalne stężenie Pb w plechach *Hypogymnia physodes* eksponowanych w Kielcach w latach 2004–2007

Fig. 7. Quarterly Pb concentration in the *Hypogymnia physodes* lichen thallus exposed in Kielce in 2004–2007

Tab. 2. Typy zmian morfologicznych w plechach porostu *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl.

Tab. 2. Type of morphological changes in the *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. lichens thalli

Rok <i>Year</i>	Miejsce ekspozycji <i>Exposition place</i>	Zmiany morfologiczne/ <i>Morphological changes</i>						
		%						
		A	B	C			D	E
wybielenia <i>whitening</i>	zbrązowienia <i>browning</i>			zczernienia <i>blackening</i>				
2004	skrzyżowania <i>crossroads</i>	86	66	+	+	+	100	stwierdzono licznie
				85				
2005	skrzyżowania <i>crossroads</i>	81	57	+	+	+	87	stwierdzono licznie
				70				
2006	skrzyżowania <i>crossroads</i>	91	32	–	+	+	90	stwierdzono licznie
				84				
2007	skrzyżowania <i>crossroads</i>	76	37	+	+	+	85	stwierdzono licznie
				82				

Objaśnienia: A – zmiana wielkości plechy wynikająca z wylamań i wykruszeń brzegowych plechy; B – znaczne ubytki plechy wynikające z wypadania całych odcinków plechy od nasady dychotomicznie rozgałęzionych rozet; C – zmiana ubarwienia plechy; D – zmiana kształtu plechy polegająca na zmarszczeniu, odstawianiu od podłoża lub rozplaszczaniu plechy na gałązce; E – zanik lub uszkodzenia soraliów wargowych [stwierdzono (+), nie stwierdzono (–)].

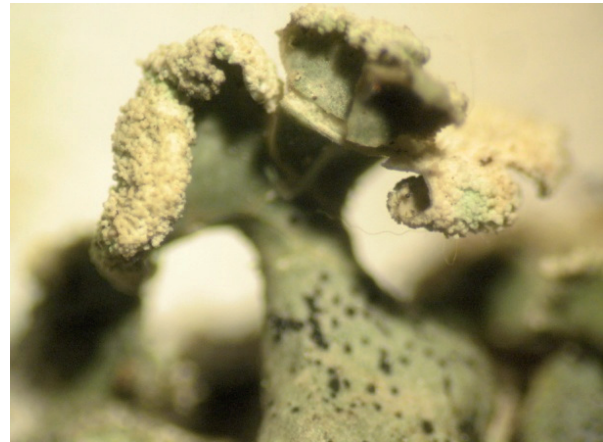
Explanation: A – change the size of fronds arising from the edge chipping and breaking off fronds; B – significant losses fronds arising from loss of entire sections of the base of the fronds dichotomously branched rosettes; C – thallus color change; D – change the shape of the thallus; E – loss of or damage to soralia labial [found (+), no (–)].

Dynamika średnich stężeń ołowiu w plechach porostu *Hypogymnia physodes* w ciągu roku nie wykazywała większego zróżnicowania. W ciągu lat przyjętych do badań wyróżniały się kwartały I i IV, które obejmują miesiące zimne. Stężenie ołowiu w plechach było w tym czasie najwyższe, przy wysokim odchyleniu standardowym. Jednocześnie w całym okresie badawczym odnotowano dużą rozpiętość wartości maksymalnych i minimalnych.

4.2. Analiza zmian w budowie plech *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. w obrazie mikroskopu stereoskopowego

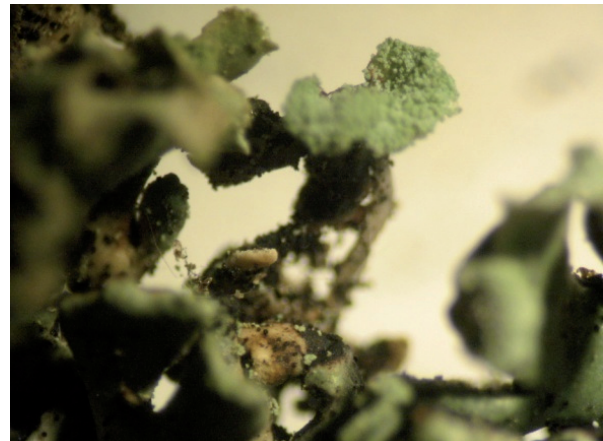
Ocena makroskopowa plech porostu *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. po ekspozycjach w wybranych punktach badawczych w Kielcach pozwoliła na wyróżnienie zmian o charakterze przebarwień. Są to: wybielenia, zbrązowienia i zaczernienia plechy oraz zmiany w jej strukturze. Obserwowane są: wykruszenia fragmentów rozetek w wyniku nekroz, odkształcania poprzez wyginanie i zwijanie części rozet, zanikanie soraliów wargowych oraz odstawanie od podłoża i wznoszenie się ku górze, w wyniku marszczenia i przesuszania plechy. Powyższe zmiany wraz z ich przyporządkowaniem do miejsca i częstości występowania przedstawia tabela 2.

Najczęściej stwierdzane zmiany u porostów ekspozycyjnych na skrzyżowaniach dotyczyły kształtu plechy (typ A) – 85–100% przypadków, przy czym najczęściej występowały one w latach 2004 i 2006. W punktach tych zanotowano najwyższe średnie roczne stężenia badanych metali ciężkich. Następny typ zmian dotyczył wyłamań i wykruszeń brzegowych plechy (typ B). Stwierdzono ich od 76–91% (fot. 6). Istotne obserwowane zmiany morfologii plechy dotyczyły również jej barwy (typ C). Zbrązowienia, zaczernienia lub wybielenia plech występowały w 70–85%.



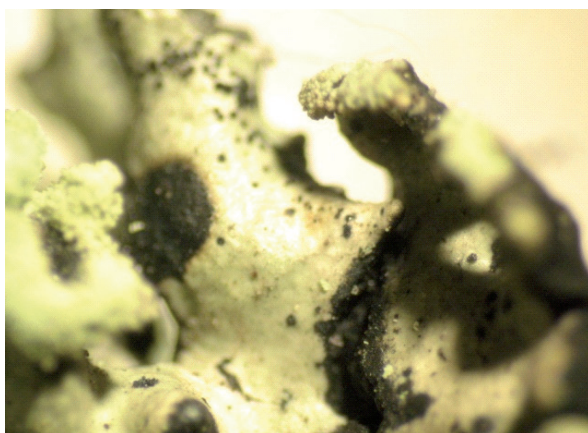
Fot. 5. Soraliu plechy transplantowanej w II kwartale roku. Liczne zaczernienia u podstawy płatkowato wywiniętych rozetek (Fot. M.A. Józwiak)

Photo 5. Soraliu transplanted thallus in the second quarter of the year. Many blackening at the base of rosettes (Photo M.A. Józwiak)



Fot. 6. Wykruszenia plechy utrzymujących soralia wargowe, wynik obszarowych nekroz (III kwartał roku) (Fot. M.A. Józwiak)

Photo 6. Thallus persistent chipping soralia lip, the result of necrosis (the third quarter of the research) (Photo M.A. Józwiak)



Fot. 7. Nekrotyczne zmiany nasady soraliów (Fot. M.A. Józwiak)

Photo 7. Necrotic changes in the soralia base (Photo M.A. Józwiak)



Z przeprowadzonych obserwacji wynika, że kolejność zmian ma charakter narastający. W pierwszej kolejności występują objawy deformacji plechy i odstawiania jej od podłoża, następnie w wyniku zamierania autotroficznego partnera porostu na powierzchni plechy widoczne są miejscowe zmiany barwy od zazielenień przez zbrązowienia do zaczernień. Końcowym etapem destrukcji plechy jest wykruszanie jej brzegowych fragmentów.

Zmiany w budowie morfologicznej ściśle powiązane były nie tylko z miejscem ekspozycji, ale także z terminem. Drugi i trzeci kwartał roku (miesiące IV–VI oraz VII–IX) charakteryzował się wystąpieniem przebarwień na zakończeniach rozetowatych plech (fot. 8). Zielony lub szarzielony kolor plechy utrzymywał się w środkowej jej części (u nasady rozchodzących się płatków rozety). Płatki końcowe ulegały odbarwieniu na kolor biały lub brązowy (fot. 9).



Fot. 8. Przebarwienia na zakończeniach rozetowatych plech (Fot. M.A. Józwiak)

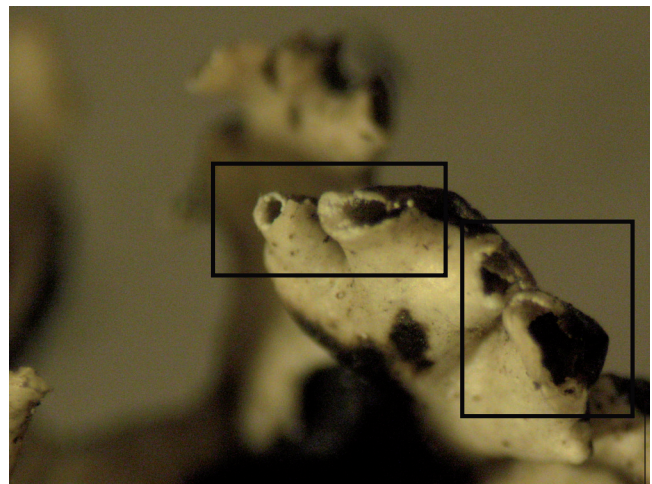
Photo 8. Coloring of marginal rosettes (Photo M.A. Józwiak)



Fot. 9. Zazielenienie plechy (Fot. M.A. Józwiak)

Photo 9. Greennig thallus (Photo M.A. Józwiak)

Jednocześnie pojawiały się ciemnobrązowe lub czarne przebarwienia na płatkach z wywiniętymi wargowo soraliami. Martwica plechy w obszarach soraliów wargowych powodowała w efekcie ich odpadanie przez odkruszenie zmartwiałych fragmentów (fot. 10). W następnej kolejności obserwowano wybielenie plechy w dużych obszarach brzegowych. Centralne części rozet charakteryzowały pasma intensywnie zielone w sposób nieregularny rozchodzące się na całej powierzchni plechy. Zmiana wielkości plechy wynikająca z wyłamań i wykruszeń brzegowych oraz odpadaniu i uszkodzeniu soraliów wargowych w 76–91% przypadków występowała u plech po ekspozycji na skrzyżowaniach.



Fot. 10. Wykruszanie plechy i zmiany w soraliach wargowych (Fot. M.A. Józwiak)

Photo 10. Crumbling thallus and changes in labial soralia (Photo M.A. Józwiak)

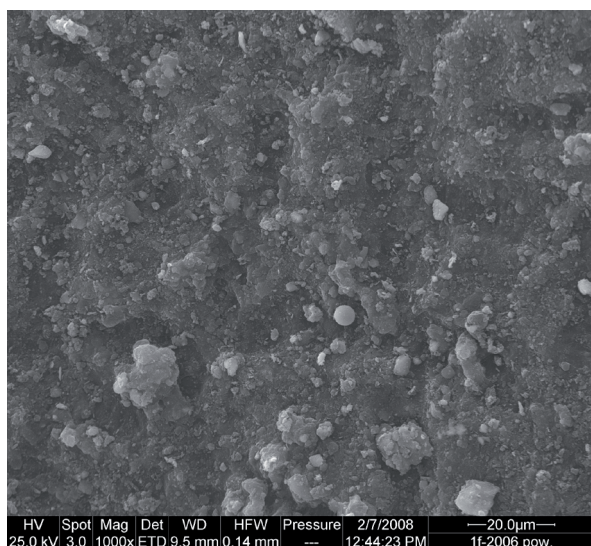
Pierwszy i czwarty kwartał roku charakteryzował się dwoma podstawowymi typami zmian. Należały do nich: intensywne i rozległe zaczernienia plech rozchodzące się od nasady rozet w kierunku dychotomicznych rozgałęzień plechy, zmiana kształtu plech polegająca na uniesieniu, odstawaniu od podłoża lub wypłaszczeniu plechy, licznym wykruszaniu całych fragmentów listkowatych rozet. Ponadto we wszystkich analizowanych plechach stwierdzono każdy typ przebarwień oraz licznie lub bardzo liczne odpadające uszkodzone soralia wargowe. Struktura powierzchni plechy po trzymiesięcznej ekspozycji w miesiącach I kwartału ujawnia wykruszenia w końcowych odcinkach, przebarwienia soraliów wargowych i ich deformacje. Efektem pierwotnym są ubytki powierzchni plechy, efekt wtórny natomiast skutkuje zanikiem procesów rozmnażania i powstawania rozetek potomnych.

4.3. Analiza zmian w morfologii plechy na tle koncentracji toksykantów

W celu oceny zmian w budowie plech transplantowanych na skrzyżowaniach poddano analizie mikroskopowej: powierzchnię plechy (ryc. 8), przekrój plechy, wygląd komórek mykobionta, szczelinowate pseudocyfele (ryc. 14).

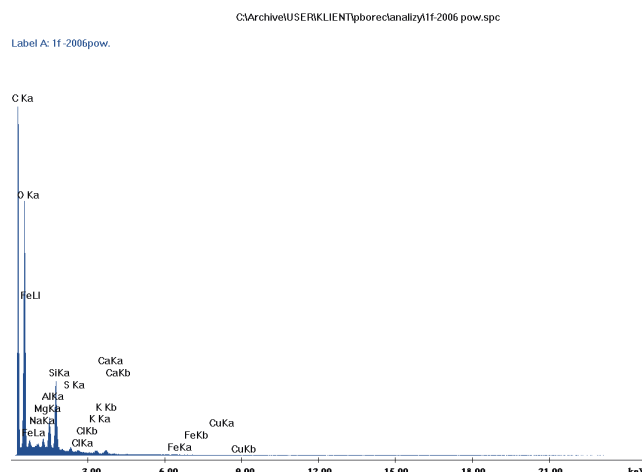
Dokumentacja fotograficzna i odczyty analizy chemicznej przy użyciu mikroanalizatora EDS wskazują na liczne zmiany w plechach porostowych. Zmiany te szczególnie intensywnie uwidaczniają się w plechach eksponowanych w I i IV kwartale roku.

Ryc. 8 przedstawia powierzchnię plechy pow. 1000x. Na całej powierzchni widoczne są zanieczyszczenia pochodzenia antropogenicznego i naturalnego. Ich skład chemiczny stanowią: Fe, Si, Ca, Cu (ryc. 9). Formy kuliste (ryc. 10) są pochodzenia przemysłowego. W ich składzie chemicznym stwierdzono głównie: Si, Al, Fe i Cu (ryc. 11). Przy pow. 10 000x widoczne są wielościennne bryły różnej wielkości i różnych kształtów (ryc. 12), zawierające P, Al, Si i Fe (ryc. 13). Zanieczyszczenia te występują licznie i bardzo licznie na całej powierzchni obserwowanego fragmentu plechy (ryc. 8). Przy pow. 3 000x (ryc. 14) widoczne jest wnętrze plechy odsłonięte przez szczelinę. Stwierdzone w jej wnętrzu zanieczyszczenia (ryc. 15) występujące zarówno na strzępkach grzybni, na komórkach glonowych, jak i w przestrzeniach międzykomórkowych są wynikiem ich wnikania z powietrza przez naturalne szczeliny i pory plechy. Rolę szczelin w depozycji i dystrybucji zanieczyszczeń potwierdzają badania eksperymentalne Freya i Scheideggera (2002) z porostem *Lobaria pulmonaria*.

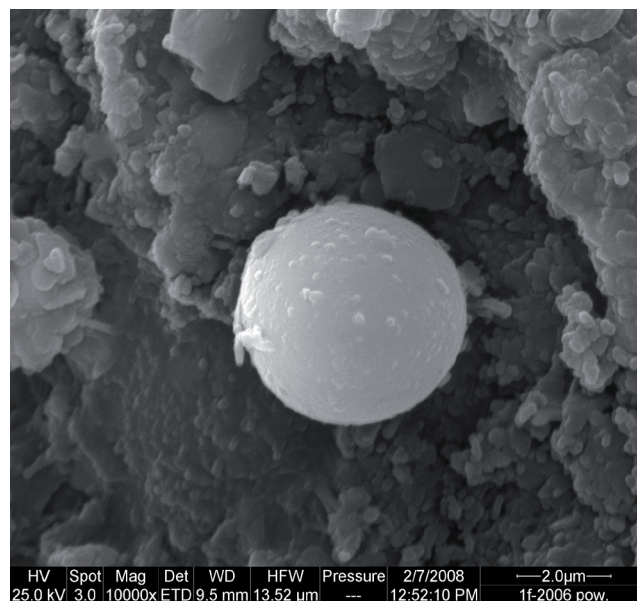


Ryc. 8. Powierzchnia plechy *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. eksponowanej na skrzyżowaniu (pow. 1000x)

Fig. 8. *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. thallus surface exposed at a junction (enlarged 1,000x)

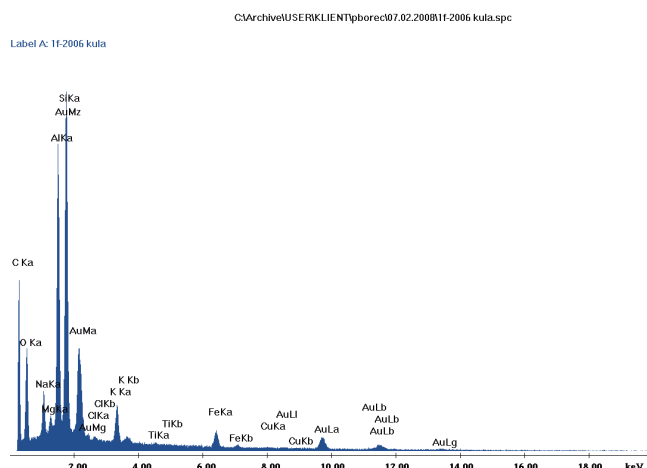


Ryc. 9. Analiza chemiczna powierzchni plechy *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. eksponowanej na skrzyżowaniu
Fig. 9. Chemical analysis of the *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. thallus surface exposed at a junction

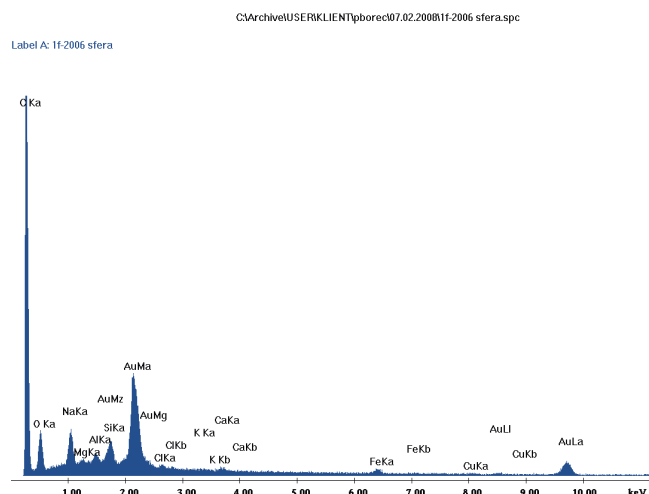


Ryc. 10. Struktura kulista na powierzchni plechy *Hypogymnia physodes* eksponowanej na skrzyżowaniu (pow. 10 000x)

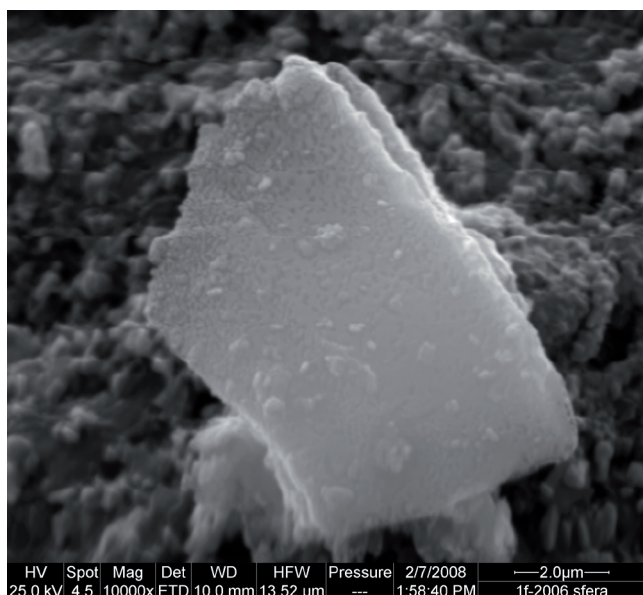
Fig. 10. Spherical structure on the *Hypogymnia physodes* thallus surface exposed at a junction (enlarged 10,000x)



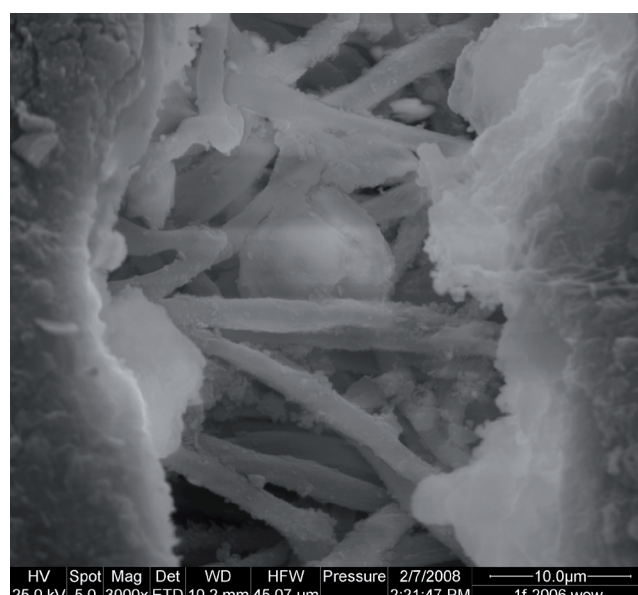
Ryc. 11. Analiza chemiczna struktury kulistej z powierzchni plechy *Hypogymnia physodes* eksponowanej na skrzyżowaniu
Fig. 11. Chemical analysis of spherical structure from the *Hypogymnia physodes* thallus surface exposed at a junction



Ryc. 13. Analiza chemiczna struktury sferoidalnej z powierzchni plechy *Hypogymnia physodes* eksponowanej na skrzyżowaniu
Fig. 13. Chemical analysis of the spheroidal structure from the *Hypogymnia physodes* thallus surface exposed at a junction

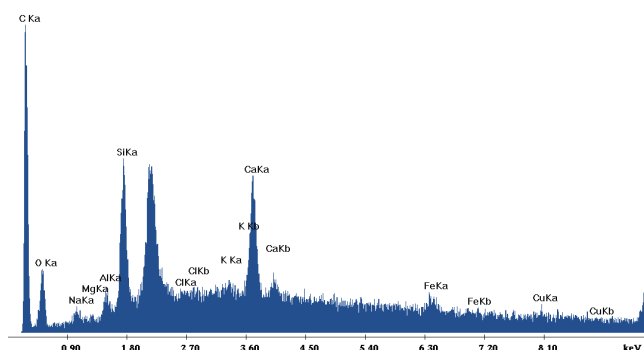


Ryc. 12. Struktura sferoidalna z powierzchni plechy *Hypogymnia physodes* eksponowanej na skrzyżowaniu (pow. 10 000x)
Fig. 12. Spheroidal structure from the *Hypogymnia physodes* thallus surface exposed at a junction (enlarged 10,000x)



Ryc. 14. Szczelinowe pęknięcie powierzchni plechy *Hypogymnia physodes* eksponowanej na skrzyżowaniu (pow. 3000x)
Fig. 14. Fissure of the *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. thallus surface exposed at a junction (enlarged 3,000x)

Label A: 11-2006strzebka



Ryc. 15. Analiza chemiczna z powierzchni strzępek grzybni występujących w szczelinie

Fig. 15. Chemical analysis from the mycelium hyphae surface as occurring in the fissure

5. Zakończenie

Badania przeprowadzone w okresie czterolecia 2004–2007, w podziale na kwartalne okresy ekspozycji transplantów, wykazały wpływ stresu antropogenicznego i warunków meteorologicznych na drastyczność zmian morfologicznych plech. Aktywność sorpcyjna transplantów zmienia się wraz z ilością opadów (Kelly, Gobas, 2001; Kłos i in., 2007), wilgotnością względną i życiową aktywnością plech wynikającą z ich ektohydryczności (Garty i in., 2006). Zaobserwowane liczne uszkodzenia plechy wykazywały charakter narastający w następującej kolejności kwartalnej: II–III–IV–I kwartał roku, gdzie I kwartał to okres topnienia śniegu, skutkujący zwiększoną wilgotnością względną powietrza i jednocześnie stosunkowo niskimi temperaturami, będącymi przyczyną zwiększonej emisji zanieczyszczeń przez pojazdy mechaniczne. Uwagę zwraca III kwartał analizowanego czterolecia z najwyższą średnią opadów. Wysokie miesięczne sumy opadów wypłukują anality z powietrza, co wpływa na zmniejszenie ich kumulacji w plechach transplantów i znajduje odzwierciedlenie w morfologii i kondycji porostów.

Analiza wartości procentu wagowego pierwiastków stwierdzonych w badanych obszarach plechy wskazuje na występujące zależności między ilością makro- i mikropierwiastków a metali ciężkich (Al, Zn, Cu, Cd, Mn, Fe) i drastycznością zmian w morfologii plechy. Ponieważ prowadzone analizy dotyczyły warstwy mięszonej porostu, przypuszczać należy, że wchłanianie metali ciężkich przez plechy zależy od ilości makro- i mikro-

pierwiastków. Wykazują one bowiem powinowactwo do warstwy kationowej, wpływając na wnikanie do wnętrza plechy metali ciężkich, co potwierdzają badania Haucka i in. (2002), analizujące wpływ Mg i Ca na sorbcję Mn przez *Hypogymnia physodes*. Przeprowadzone badania na skrzyżowaniach miejskich na plechach transplantowanych wykazały, że wzrost ilości Ca hamuje wchłanianie Cu i Fe (II i III kwartał roku) oraz ogranicza wchłanianie Al (II, III kwartał roku). Zależność ta widoczna jest w wyglądzie plech. Przy najwyższym procencie wagowym Ca plechy zachowują kolor i kształt charakterystyczny dla taksonu (III kwartał roku), przy najniższym (0,14% wagowego) obserwowane zmiany są najbardziej drastyczne (I i IV kwartał). Plechy po ekspozycji w tych kwartałach charakteryzują się postępującymi nekrozami, wyłamaniami oraz licznymi zmianami barwnymi świadczącymi o zanikaniu partnera autotroficznego. Badania zależności zawartości Ca do Mn prowadzone w Niemczech potwierdzają pozytywną rolę Ca i wskazują na spadek ilości i zanikanie plech *Hypogymnia physodes* w przypadkach, gdy stosunek Ca/Mn < 20 (Hauck i in., 2002).

6. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań można sformułować następujące wnioski:

1. Plechy porostu *Hypogymnia physodes* w warunkach stresu antropogenicznego wywołanego zanieczyszczeniami motoryzacyjnymi wykazują zmiany makroskopowe w postaci trzech typów przebarwień: zacinienia, zbielenia i zbrązowienia.
2. W plechach porostów eksponowanych na zanieczyszczenia stwierdzono zmiany struktury polegające na wykruszeniach, odkształceniach przez wyginanie i odstawanie od podłoża, uszkodzeniach soraliów wargowych oraz występowanie obszarów nekrotycznych.
3. Analizy próbek plechy w obrazie skaningowego mikroskopu elektronowego wykazały zróżnicowaną kumulację toksykantów na powierzchni i w wnętrzu plechy.

7. Literatura

- Dawid J.C., Coppins B.J., 1997: *Cadmium damage and an attempt to histochemically demonstrate intracellular potassium in Peltigera*, Lichenologist 29: 295–298.
- Frey B., Scheidegger Ch., 2002: *Preparative techniques for low temperature scanning electron microscopy of lichens*. W: I. Kranner, R. Beckett,

- A. Varma (eds.) *Protocols in Lichenology – culturing, biochemistry, ecophysiology and use in bio-monitoring*, Springer: 118–132.
- Garty J., Tamir O., Levin T., Lehr H., 2006:** *The impact of UV-B and sulphur- or copper-containing solutions in acidic conditions on chlorophyll fluorescence in selected Ramalina species.*, Environ. Pollut., 145: 266–273.
- González C.M., Pignataand M. L., Orellana L., 2003:** *Applications of redundancy analysis for the detection of chemical response patterns to air pollution in lichen*, The Science of Total Environment, 312, 1–3: 245–259.
- Goluchowska B., Strzyszc Z., 1999:** *Wpływ technologii produkcji klinkieru cementowego na zawartość metali ciężkich w pyłach powstających przy jego wypalaniu*, Chemia i Inżynieria Ekologiczna, Vol. 6, nr 2–3: 217–227.
- Hauck M., Paul A., Mulack C., Fritz E., Runge M., 2002:** *Effects of manganese on the viability of vegetative diaspores of the epiphytic lichen Hypogymnia physodes*, Environ. Exp. Bot. 47: 127–142.
- Jóźwiak M.A., 2010:** *Biomonitoring środowisk lądowych i wodnych*, T. 3, Wyd. UJK Kielce, ss. 152.
- Kelly, B.C., Gobas F.A.P.C., 2001:** *Bioaccumulation of Persistent Organic Pollutants in Lichen-Caribou-Wolf Food-Chains of Canada's Central and Western Arctic*. Environ. Sci. Technol. 35(2): 325–334.
- Kłos A., Rajfur M., Waclawek M., Waclawek W., 2007:** *Ion exchange in lichen surrounding*, Ecological Chemistry and Engineering, S, 14, (7): 645–667.
- Kłos A., Rajfur M., Waclawek M., Waclawek W., 2008:** *Akumulacja mikro- i makropierwiastków w mchach i porostach*, Ecological Chemistry and Engineering S, 15 (3): 397–423.
- Królak E., 2000:** *Heavy metals i falling dust in Eastern Mazowieckie province*, Pol. J. of Environ. Studies, 9, 6: 517–522.
- Nałęcz-Jawecki G., 2003:** *Badanie toksyczności środowiska wodnego metodą bioindykacji*, Biul. Wyd. Farm AMW, 2.
- Loppi S., Putorti E., Signorini Ch., Fommei S., Pirlintzos S.A., de Dominicis V., 1998:** *A retrospective study using epiphytic lichens as biomonitors of air quality: 1980 and 1996 (Tuscany, central Italy)*. Acta Oecol., 19(4): 405–408.
- Śnieżek T., Degórska A., Prządka Z., 2006:** *Stacja Bazowa Puszcza Borecka*. W: R. Kruszyk (red.) Stan, przemiany i funkcjonowanie geosystemów Polski w latach 1994–2004 na podstawie ZMŚP, Biblioteka Monitoringu Środowiska, IOŚ: 11–56.
- Wardencki W., (red.), 2004:** *Bioanalitka w ocenie zanieczyszczeń środowiska*, CEEAM, Gdańsk 2004.
- Weissman L., Garty J., Hochman A., 2005:** *Rehydration of the lichen Ramalina lacera results in production of reactive oxygen species, nitric oxide and a decrease in antioxidants*. Applied and Environmental Microbiology (AEM), 71: 2121–2129.

MACROSCOPIC CHANGES OF *HYPOGYMNA PHYSODES* (L.) NYL. IN ANTROPOGENIC STRESS CONDITIONS

Summary

Apparatus monitoring allows estimation of physical and chemical parameters of examined biotopes. Toxin concentration noted by apparatus influences life in examined environment and its value. Bioindication methods supplement apparatus monitoring. They consist in singling out organisms known as biomanitors. They are sensitive to pollution and its presence allows analysis of relation in order: toxin emission rate – concentration in biotope – concentration in bioindicator. Taking everything into consideration, it seems right to supplement research with observation of type and speed of changes in bioindicators exposed to toxic substances biologically activate and answer the question: what are the symptoms of bioindicators' reaction to environmental toxics?

The research with the use of transplanted lichens was carried out in 2004–2007. The results of the research are based on microscopic analysis of 192 twigs with lichens transplanted in conurbation. Microscopic observation was conducted with the use of scanning microscope Nikon, and QUANTA 200. Additionally, microscopic pieces with damages and colour changes underwent chemical analysis with ED-XRF microanalyzer in scanning microscope carrying out chemical analysis of thalli inside. Macroscopic analysis of *Hypogymnia physodes* thalli after exposition in conditions of antropogenic stress allowed to single out colouring changes. These are: whitening, browning, blackening, blackening of thalli and changes in the thalli structure.

We can observe: crumbling of rosette fragments as a result of necrosis, deforming as a result of bending and rolling parts of rosettes, disappearance of lip sorallia and coming off the surface as a result of rippling and drying up of thalli.