

**»Mladi za napredek Maribora 2019«
36. srečanje**

**VPLIV PRESNOVNIH PROCESOV DVEH IZBRANIH VRST GLIV NA
ZMANJŠANJE KONCENTRACIJE TEŽKIH KOVIN V ONESNAŽENEM
SUBSTRATU**

Raziskovalno področje: VARSTVO OKOLJA

RAZISKOVALNA NALOGA

PROSTOR ZA NALEPKO

Avtor: NIKA EKART

Mentor: LUKA ŠPARL, KATJA HOLNTHANER ZOREC

Šola: II. GIMNAZIJA MARIBOR

Število točk: 143

Mesto: 1

Priznanje: srebrno

Maribor, februar 2019

»Mladi za napredek Maribora 2019«

36. srečanje

**VPLIV PRESNOVNIH PROCESOV DVEH IZBRANIH VRST GLIV NA
ZMANJŠANJE KONCENTRACIJE TEŽKIH KOVIN V ONESNAŽENEM
SUBSTRATU**

Raziskovalno področje: VARSTVO OKOLJA

RAZISKOVALNA NALOGA

Maribor, februar 2019

Kazalo vsebine

KAZALO SLIK	5
KAZALO GRAFOV	5
KAZALO TABEL.....	6
1 UVOD.....	9
1.1. RAZISKOVALNO VPRAŠANJE.....	10
1.2. HIPOTEZE.....	10
2 TEORETIČNO OZADJE.....	11
2.1. TEŽKE KOVIINE	11
2.1.1. Kadmij	12
2.1.2. Baker.....	12
2.1.3. Svinec	13
2.2. GLIVE	15
2.2.1. Zgradba gliv.....	15
2.2.2 Glive prostotrošnice (Basidiomycota)	15
2.2.4. Bukov ostrigar (Pleurotus ostreatus)	16
2.2.5. Pisana ploskocevka (Trametes versicolor)	17
2.3. REMEDIACIJA	18
2.3.1. Vrste remediacije.....	18
2.3.2. Mikoremediacija.....	19
2.3.3. Metode mikoremediacije	20
2.3.4. Mikoremediacija in težke kovine	21
2.4. Metoda ICP – MASNI SPEKTROMETER.....	22
3 MATERIALI IN METODA DELA.....	24
3.1. MATERIALI.....	24
3.1.1. Gobe.....	24
3.1.2. Sediment	24
3.1.3. Kemikalije.....	24
3.1.4. Laboratorijski pribor	24
3.1.4. Laboratorijske aparature	25
3.1.5. Zaščitna oprema	26
3.2. METODE	26
3.2.1. Pobiranje sedimenta na terenu.....	26
3.2.2. Priprava okolja za micelije.....	27
3.2.3. Priprava sedimenta za analizo	28
3.2.4. Priprava slame na analizo	29

3.2.5. Priprava gob na analizo.....	30
3.2.6. Priprava prsti in slame na analizo v laboratoriju.....	31
3.2.7. Priprava gob na analizo v laboratoriju.....	32
3.2.8. Metoda določanja koncentracij težkih kovin v substratu in slami s masnim spektrometrom.....	33
3.2.9. Metoda določanja koncentracij težkih kovin v glivah s masnim spektrometrom.....	34
4 REZULTATI IN ANALIZA.....	36
4.1. REZULTATI MIKOREMEDIACIJE NA SUBSTRATU Z NEZNANIMI VREDNOSTMI KONCENTRACIJ TEŽKIH KOVIN	38
4.2. REZULTATI MIKOREMEDIACIJE NA SLAMI Z ZNANIMI VREDNOSTMI KONCENTRACIJ TEŽKIH KOVIN	41
4.2.1. Kadmij	41
4.2.2. Baker	43
4.2.3. Svinec	45
5 RAZPRAVA.....	48
5.1. Ocena metod in možnih virov napak	51
6 DRUŽBENA ODGOVORNOST	52
7 ZAKLJUČEK	53
8 VIRI IN LITERATURA.....	54
9 PRILOGE	57
9.1. Priloga 1.....	57
9.2. Priloga 2.....	57

KAZALO SLIK

Slika 1 Baker (Wikipedia, 2009)	13
Slika 2 Svinec (Dr. Edward F. Group, 2017)	14
Slika 3 Bukov ostrigar (<i>Pleurotus ostreatus</i>) (Cotter, 2014)	16
Slika 4 Pisana ploskocevka (<i>Trametes versicolor</i>) (Cotter, 2014).....	17
Slika 5Primer vodne mikoremediacije z bukovim ostrigarjem (Stamets, 2005)	21
Slika 6Masni spektrometer (lastni vir)	22
Slika 7 Advanced Microwave Labstation (ETHOS Touch Control) (lasten vir)	26
Slika 8 Lokacija št.2 (lasten vir).....	27
Slika 9 Lokacija št.1 (lasten vir).....	27
Slika 10 Postavitev okolji (lasten vir).....	28
Slika 11 Okolja pa 21 dneh (lasten vir).....	29
Slika 12 Pripravljen sediment za analizo (lasten vir)	29
Slika 13 Slama pripravljena na analizo (lasten vir)	30
Slika 14 Glive pripravljene za analizo (lasten vir)	30
Slika 15 Slama in sediment v plastičnih posodiceh (lasten vir).....	31
Slika 16 Vzorci slame in sedimenta v DigiBlocku, refluks (lasten vir)	32
Slika 17 Posodice, v katerih so glive (lasten vir).....	32
Slika 18 Glive takoj po končanem razklopu (lasten vir)	33
Slika 19 Vsi vzorci po razklopu (lasten vir).....	33
Slika 20 Rodij, kot kontrola, v epruveti (lasten vir)	34
Slika 21 Glive po razklopu (lasten vir)	34
Slika 22 Stojalo za epruvete (lasten vir).....	35
Slika 23 Analiza vzorcev z masnim spektrometrom (lasten vir).....	35
Slika 24 Mesto odvzetega sedimenta (Google Zemljevidi, 2019)	57
Slika 25 Lokacije odvzetih vzorcev sedimentov (Google Zemljevidi, 2019)	57

KAZALO GRAFOV

Graf 1 Primerjava koncentracij kadmija v substratih	36
Graf 2 Primerjava koncentracij bakra v substratih	37
Graf 3 Primerjava koncentracij svinca v substratih.....	37
Graf 4 Težke kovine v pisani ploskocevki pred in po mikoremediaciji.....	38
Graf 5 Težke kovine v bukovem ostrigarju pred in po mikoremediaciji	39

Graf 6 Vrednosti akumuliranih koncentracij težkih kovin v odstotkih	40
Graf 7 Vsebnost kadmija v slami pri dodajanju znane koncentracije kadmija.....	42
Graf 8 Koncentracija absorbiranega kadmija v glivah	42
Graf 9 Izračunan procentualni del akumuliranega kadmija v glivah in njegova primerjava	43
Graf 10 Vsebnost bakra v slami pri dodajanju znane koncentracije bakra	44
Graf 11 Koncentracija absorbiranega bakra v glivah	44
Graf 12 Izračunan procentualni del akumuliranega bakra v glivah in njuna primerjava	45
Graf 13 Vsebnost svinca pri dodajanju znane koncentracije svinca	46
Graf 14 Koncentracija absorbiranega svinca v glivah	46
Graf 15 Izračunan procentualni del akumuliranega bakra v glivah in njuna primerjava	47
Graf 16 Primerjava gliv in njihovih akumulacij kadmija, bakra in svinca v odstotkih ..	47

KAZALO TABEL

Tabela 1 Težke kovine v substratih nabranih na obrežju Drave.....	36
Tabela 2 Koncentracije težkih kovin v substratu pred in po mikoremediaciji	38
Tabela 3 Akumulirane koncentracije težkih kovin v pisani ploskocevki in bukovem ostrigarju	39
Tabela 4 Vrednosti akumuliranih koncentracij težkih kovin v odstotkih.....	40
Tabela 5 Koncentracija kadmija v slami	41
Tabela 6 Koncentracija akumuliranega kadmija v glivah.....	41
Tabela 7 Izračunan procentualni del akumuliranega kadmija v glivah.....	42
Tabela 8 Koncentracija bakra v slami.....	43
Tabela 9 Koncentracija akumuliranega bakra v glivah.....	43
Tabela 10 Izračunan procentualni del akumuliranega bakra v glivah	44
Tabela 11 Koncentracija svinca v slami	45
Tabela 12 Koncentracija akumuliranega svinca v glivah	45
Tabela 13 Izračunan procentualni del akumuliranega svinca v glivah	47

POVZETEK

Težke kovine predstavljajo vedno večjo nevarnost okolju. Z raziskovalno nalogo smo želeli ugotoviti, ali je možno s pomočjo gliv zmanjšati koncentracijo težkih kovin v substratu in s tem raziskati manj poznano področje mikoremediacije. S težkimi kovinami kontaminirani sediment iz obrežja Drave in znane koncentracije težkih kovin smo primešali gojišču bukovega ostrigarja (*Pleurotus ostreatus*) in pisane ploskocevke (*Trametes versicolor*) ter nato po treh tednih inkubacije s pomočjo masnega spektrometra določili koncentracijo kadmija, bakra in svinca. Vse hipoteze smo delno potrdili in pri večini primerov so se koncentracije težkih kovin v substratu z prisotnostjo micelija zmanjšale. Rezultati so pokazali, da bi lahko ob nadaljnjih raziskavah mikoremediacija postala uspešna metoda dekontaminacije substrata, onesnaženega s težkimi kovinami.

ZAHVALA

Najprej bi se rada zahvalila svojima mentorjema, za vso njuno pomoč pri izdelavi raziskovalne naloge. Mentorju bi se rada zahvalila za ponujeno temo, za posredovan material, tako literarnega kot tudi biološkega in njegovo pomoč. Šolski mentorici se želim zahvaliti za konstantno pomoč pri terenskem biološkem delu naloge in koristne napotke pri pisanju.

Zahvaljujem se tudi osebju šole, predvsem hišniku, da mi je omogočil uporabo prostora za gojenje micelijev, ter laborantki, ki mi je pomagala določiti točne koncentracije težkih kovin.

Zahvaljujem se tudi Nacionalnem inštitutu za javno zdravje (NIJZ) in njegovim zaposlenim za omogočeno delo v njihovih laboratorijih, pomoč pri analizi vzorcev, obdelavi rezultatov in za odgovore na vsa vprašanja.

Nazadnje se zahvaljujem tudi svoji družini, prijateljem in sošolcem za njihove nasvete in neprestano podporo pri nastajanju te raziskovalne naloge.

1 UVOD

Onesnaženost po definiciji pomeni, prisotnost zdravju nevarnih in škodljivih snovi v okolju. Posledica industrializacije in modernizacije je tako najbolj očitna prav v različnih vrstah onesnaženosti. Svetlobno, zvočno ter onesnaženost vode, zraka in prsti so le nekatere izmed mnogih oblik onesnaževanja. (Mehta, 2018).

Problematika onesnaženost prsti je v zadnjih nekaj desetletjih v okoljevarstvenih krogih postala ena izmed pomembnejših tem. Glavni razlog onesnažene prsti je človeška dejavnost, kot sta kmetijstvo in nepravilno odlaganje nevarnih odpadkov (Cachada, et al., 2019). Dodatne toksične snovi se v prsti nabirajo v visokih količinah, kar vodi k onesnaževanju podtalnice, rek in jezer, po navadi pa tudi zraka. Nabiranje prevelikih koncentracij toksičnih snovi in kovin vpliva na strukturo prsti, povzroča slabo rodovitnost prsti in vpliva na rast rastlin (Bollag & Bollag, 2009).

Težke kovine so v prsti prisotne v majhnih količinah, vendar se zaradi človeških dejanj njihova količina ponekod povečuje. Najbolj dovzetna območja za to so tista, ki so priključena velikim industrijskim kompleksom. Kratkotrajna in dolgotrajna navzočnost prevelike količine težkih kovin zmanjša raznolikost organizmov, ki so razlog za rodovitnost prsti (Wang, et al., 2006).

Prav zaradi tega znanstveniki raziskujejo možnosti na kakšen način najbolje očistiti prst. Ena izmed njih je remediacija s pomočjo gliv, oziroma mikoremediacija. Glive so pomemben del ekosistema, saj so ključnega pomena za razkroj mnogih materialov in kroženje snovi (Singh, 2006). Pri metodi mikoremediaciji se glive uporabijo za odstranitev toksičnih snovi iz okolja, kjer le te uporabijo svoje prebavne encime za njihov razpad (Stamets, 2005).

Osnovni namen raziskovalne naloge je spoznati teoretični del sedaj še dokaj nepoznanega ter novega področja mikoremediacije in predstaviti uporabni pomen te sodobne metode čiščenja onesnaženega okolja.

Drugi namen naloge je ugotoviti, ali z glivami res lahko očistimo sediment pridobljen iz obrežja Drave, za katerega menimo, da ima večjo količino težkih kovin kot je mejna vrednost. Pri tem smo uporabili micelij dveh vrst gliv, in sicer bukovega ostrigarja (*Pleurotus ostreatus*) in pisane ploskocevke (*Trametes versicolor*) in ustvarili štiri različna gojitvena okolja.

1.1. RAZISKOVALNO VPRAŠANJE

Kolikšno količino težkih kovin (kadmija, bakra in svinca) vsebuje sediment odvzet na odseku Malečnik-Zrkovci obrežja reke Drave?

Kolikšno količino težkih kovin bodo glive z mikoremediacijo odstranile iz sedimenta?

Ali z metodo mikoremediacije iz sedimenta akumuliramo dovolj kovin, da bi se te metode lahko posluževali v prihodnosti, kot čistilno možnost?

1.2. HIPOTEZE

Hipoteza 1:

Vsebnost izbranih težkih kovin (baker, kadmij, svinec) v substratu, odvzetem na odseku Malečnik-Zrkovci obrežja reke Drave, presega njihove dovoljene mejne vrednosti.

Hipoteza 2:

Končna koncentracija izbranih težkih kovin v odvzetih vzorcih substrata, iz obrežja reke Drave, bo po 21 dnevih preraščanja z micelijem pisane ploskocevke (*Trametes versicolor*) in bukovega ostrigarja (*Pleurotus ostreatus*), nižja od začetne koncentracije v substratu.

Hipoteza 3:

Bukov ostrigar (*Pleurotus ostreatus*) bo akumuliral večjo količino vseh preiskovanih težkih kovin (kadmij, baker in svinec) kot pisana ploskocevka (*Trametes versicolor*).

Bukov ostrigar najbolje uspeva pri temperaturi 13 °C – 18° C (Cotter, 2014), medtem ko je temperatura za najboljše uspevanje pisane ploskocevke med 18°C in 23°C (Cotter, 2014). Hkrati je za bukovi ostrigar že raziskano da je dober remediator, podatki o uspešnosti remediacije s pomočjo pisane ploskocevke pa niso zaključeni in potrjeni (Cotter, 2014).

2 TEORETIČNO OZADJE

2.1. TEŽKE KOVINE

Po definiciji so težke kovine naravni elementi, ki imajo visoko atomsko težo in gostoto ter niso biološko razgradljive. Med njih med drugimi spadajo živo srebro, svinec, kadmij, baker, nikelj, cink, kositer, kobalt, ... vključujejo pa tudi metaloide, kot je na primer arsenik. V zadnjih letih se je ozaveščenost družbe o okoljevarstvenih problematiki povečala, kar je privedlo do skrbi za javno zdravje. Ena izmed najbolj zaskrbljujočih okolijskih problemov je prevelika koncentracija težkih kovin v prsti (Tchounwou, et al., 2014).

Težke kovine so nepogrešljivi del zemeljske skorje in se v njej pojavljajo v mejnih količinah, ter tako skrbijo za stabilnost prsti. Zaradi človeških dejavnosti, kot so kmetijstvo, rudarjenje i nepravilno odlaganje nevarnih odpadkov, se količina težkih kovin v prsti povečuje. Posledično jih v prevelikih količinah najdemo v zraku, prašni usedlini, prsti, pitni vodi in nenazadnje tudi v naši hrani. Prevelike količine le teh je škodljivo za naše zdravje in lahko povzroči različne bolezni ter zastrupitve. Najbolj vplivajo na presnoven proces, nalagajo v vitalnih organih in tako vplivajo na njihovo delovanje. Hkrati pa izpodrinejo življenjsko pomembne minerale iz njihovih prvotnih mest in ovirajo njihove biološke funkcije (Singh, et al., 2011).

Na podoben način težke kovine vplivajo na celične organele, kot je celična membrana, liposomi, mitohondriji, endoplazmatski retikulum in na prebavne encime, ki presnavljajo toksične snovi in popravljajo poškodbe. Raziskave so pokazale, da kovinski ioni negativno vplivajo na DNA in nukleinske proteine, kar lahko vodi do poškodbe DNA in posledično genske okvare, kot je poslabšan imunski sistem, pretok krvi in poškodbe živčevja ter do okvare življenjskega cikla celice ter, v nekaterih primeri, tudi do pojava rakastih tvorbo (Tchounwou, et al., 2014).

Z vidika slabega vpliva na zdravje so najbolj toksične težke kovine kadmij, krom, svinec, arzen in živo srebro. Za njih je znano, da povzročijo poškodbe organov že pri nizkih koncentracijah (Tchounwou, et al., 2014). Poleg poškodb organov so tudi razlog za zmanjšanje rodovitnosti prsti, erozijo prsti, slabo kvaliteto kmetijskih produktov. V rastlinah povzročajo poškodbe celičnih sten in vplivajo na akumulacijo mineralov in drugih snovi iz prsti. Podobno kot pri zelenjavi, se težke kovine nabirajo v rastlinskih tkivih, katere ljudje kasneje zaužijemo (Singh, et al., 2011).

2.1.1. Kadmij

Kadmij (lat. Cadmium) je kemijski element, ki ima v periodnem sistemu elementov oznako Cd, atomsko število 48 in atomsko maso 112.4 g/mol. Je belo – srebrna težka kovina, je dobro kovna. Je dovolj mehka, da jo lahko režemo z nožem. V okolju jo pogosto najdemo zraven cinkove rude (Lenntech BV, 2018).

Kadmijeva ruda je v zemeljski skorji zelo razširjena, s povprečno koncentracijo 0.1 mg/kg. Najvišje koncentracije kadmija so najdene v sedimentnih kamnina, kjer se vrednost giblje okoli 15 mg/kg. Največkrat je kadmij uporabljen v baterijah, zlitinah in pigmentih (Tchounwou, et al., 2014).

Kadmij je izredno dražljiva snov, predvsem za pljuča in črevo, kopiči pa se v jetrih in ledvicah, in je v primeru zaužitja lahko tudi smrten. Kljub nepopolni raziskanosti toksičnosti kadmija, znanstveniki sklepajo, da kadmij poškoduje celice, onemogoči sintezo proteinov in nukleinskih kislin, ter prizadene pljuča in krhke kosti (Tchounwou, et al., 2014).

Kadmijeve spojine so klasificirane kot kancerogene spojine. Najbolj izpostavljeni le tem so kadilci, industrijski delavci, ki proizvajajo baterije in zlitine ter rudarji. Pogosto ga ljudje tudi zaužijejo, saj je prisoten v mnogih živilih, ko so školjke, jetrca, gobe, kakav in morska trava, v sledih pa ga najedamo tudi v mnogih zelenjavah, kot je krompir in semena (Tchounwou, et al., 2014).

2.1.2. Baker

Baker je kemijski element, z oznako Cu, ki ima v periodnem sistemu elementov atomsko število 29, njegova atomska masa pa je 63.546 g/mol. Poznan je po svoji rdeče-rjavi barvi, je koven in zelo dober prevodnik toplote in električnega toka. Je tretja najbolj pogosto uporabljena kovina na svetu, najpogosteje pa prav za električno opremo, v gradbeništvu (za žlebove in cevi) in kot zlitina (Lenntech, 2018).

Baker je naravno prisoten v zemeljski skorji in posledično tudi v prsti, vodi in sedimentih. Je pomembno hranilo tako za živali, kot tudi za ljudi, saj telesu pomaga proizvesti hemoglobin. Ker ga človeško telo ne proizvaja samo, ga ljudje moramo zaužiti skozi hrano in vodo. V primeru, da v telesu nimamo dovolj bakra lahko to privede do mnogih bolezni. Kontrastno se lahko z bakrom tudi zastrupimo, predvsem če uživamo hrano pripravljeno v starih bakrenih posodah, ali pijemo vodo, ki teče po bakrenih ceveh (European Copper Institute, 2018).



Slika 1 Baker (Wikipedia, 2009)

Baker je težka kovina, vendar sama po sebi ni strupena. Podobno kot za ljudi, je pomembna tudi za rastline. Baker pomaga rastlini pri proizvodni semen, odpornosti pred boleznimi in kontroli vode v rastlini. Raziskave so pokazale, da večina bakra, ki je vpeljan v okolje, hitro vzpostavi stabilno stanje in ne onesnažuje ali ogroža okolja. Za razliko od drugih težkih kovin se baker ne akumulira v prehranjevalni verigi. V primeru, da v prsti ni dovolj bakra, prst ni dovolj rodovitna in produkcija rastlin se zmanjša (Raymond & Okieimen, 2011).

2.1.3. Svinec

Svinec (lat. Plumbum) je kemijski element, ki se v periodnem sistemu elementov pojavi pod oznako Pb, in ima atomsko število 82, ter atomsko maso 207.2 g/mol. Je modro-bele barve, slabo prevaja elektriko in je zelo mehak. V primeru izpostavljenosti zraku potemni. Je težka in zelo strupena kovina. V preteklosti so ga uporabljali kot sestavni del cevi, dandanes pa ga uporabljamo za izdelavo avtomobilskih baterij in kot dodatek k steklu televizij in monitorjev, kot zaščito pred sevanjem (Lenntech BV, 2018).

Svinec je naravni element, ki ga je v zemeljski skorji zelo malo, vendar v zraku njegova količina, zaradi rudarjenja, industrije in izgorevanja fosilnih goriv raste. V preteklosti so svinec dodajali barvam, kar pomeni, da danes mnogo ljudi živi v neposredni bližini te toksične težke kovine (Tchounwou, et al., 2014).



Slika 2 Svinec (Dr. Edward F. Group, 2017)

Največkrat se zastrupitev s svincem pripeti, kot posledica vdihovanja njegovih delcev ali zaužitja živil ter vode, ki ima visoke koncentracije te kovine. Svinec se v glavnem nalaga v ledvicah in jetrih, sledijo pa srce in možgani, ter druga mehka tkiva. Simptomi izpostavljenosti svincu in njegovemu napadu centralnega živčnega sistema so glavobol, izguba spomina in kratka koncentracija. Kljub mnogim poskusom zmanjšanja izpostavljenosti svincu, je zastrupitev z njim še zmeraj eden izmed najbolj perečih problemov, predvsem v ZDA (Tchounwou, et al., 2014).

Posledice predolge izpostavljenosti svincu so nižja inteligenca in prizadet nevrološki in vedenjski razvoj (prizadet govor, antisocialno vedenje, slaba koncentracija in zaviralna rast). Svinec ima zmožnost oponašanja kalcija in se lahko veže s proteini v človeškem telesu. Na tak način, svinec ovira mnoge encimske reakcije in biološke procese v telesu. Posledično svinec lahko sproži genske mutacije in kromosomske zamenjave. Raziskave, so pokazale, da obstaja možnost, da je svinec kancerogen (Tchounwou, et al., 2014).

Svinčev vpliv na okolje je do sedaj še malo raziskan. Raziskave so pokazale, da svinec akumulira v telesa vodnih organizmov in organizmov v prsti. Za plankton so nevarne že zelo male koncentracije svinca, saj če se ta zastrupi s svincem, ne more ustvarjati kisika, hkrati pa lahko zastrupi tudi večje živali, ki se njimi prehranjujejo. Podobno je pri prsti, saj se v njej z svincem zastrupijo majhni organizmi in tako vpliva na celotni ekosistem (Lenntech BV, 2018).

2.2. GLIVE

Glive so bile v preteklosti uvrščene v kraljestvo rastlin, kasneje pa so ugotovili, da imajo dejansko več skupnega z kraljestvom živali. Danes jih uvrščamo v samostojno kraljestvo gliv. Glive so pomembni razkrojevalci, hkrati same nimajo sposobnosti asimiliranja življenjsko potrebnih snovi, saj ne vsebujejo kloroplastov. Njihove celične stene so zgrajene iz polisaharida imenovanega hitin. Glive nimajo ne listov, ne stebel, ne korenin ali cvetov oziroma nasploh nobenih rastlinskih organov. Takšno telo imenujemo steljka, zato jih uvrščamo med steljčnice (Godec, et al., 2015).

Glede na način prehranjevanja glive razdelimo v tri skupine. Prva skupina so zajedavske glive, ki črpajo hranilne snovi iz živih rastlin in so tako neposredno udeležene v presnove živih organizmov. Ker so produkti presnov strupeni, začne gostitelj odmirati. Druga skupina so gniloživke (saprobiontske glive), ki se hranijo z razpadajočimi oziroma odmrlim organskimi ostanki. S pomočjo encimov organsko snov razkrajajo in nato molekule absorbirajo. Tretja in zadnja skupina so mikorizne glive, ki živijo v simbiozi z drugimi organizmi. Gliva drugemu organizmu daje minerale, v zameno pa dobi ogljikove hidrate, in ostale snovi hranljive snovi, ki jih sama ne more proizvest. (Mikološka Zveza Slovenije, 2018).

2.2.1. Zgradba gliv

Prave glive (*Eumycota*) so zgrajene iz nitastih celičnih struktur, imenovanih hife. Hife glivam zagotavljajo strukturo in zaščito. Hkrati prave glive nimajo kloroplastov. Prav tako glive lahko izdelajo mnogo encimov, ki jim pomagajo pri razkroju velikih molekul, kot je lignin, ki je najden v olesenelih tkivih, s katerimi se glive hranijo (Cotter, 2014).

Hife se združujejo v večje preplete, kar imenujemo podgobje oziroma micelij. Kadar se gliva razmnožuje se razvije kompaktnejša struktura iz hif, ki ga imenujemo plodišče oziroma trosnjak. Tam nastajajo in zorijo trosi, katerih glavni namen je razmnoževanje oziroma širjenje vrste.

2.2.2 Glive prostotrosnice (*Basidiomycota*)

Glive prostotrosnice so obravnavane kot najbolj razvite glive, zaradi njihovih sposobnosti izdelovanja kompleksnih struktur. Med njih uvrščamo veliko večino užitnih, medicinskih, gojenih in divjih gob. Nekatere izmed njih so kvasovke, nekatere ustvarjajo lišaje, večina plesen (sneti in rje) na rastlinah. Prostotrosnice so simbiotski organizmi, uporabljajo pa se v kuhinji in medicini (McCoy, 2016).

Njihov življenjski cikel se začne z micelijem, ki se razširi in črpa hranljive snovi in vodo, hkrati pa išče kompatibilen micelij. V primeru da ga najde, se hife obeh združijo in nastane tako imenovana anastomoza (spolno razmnoževanje). Oba micelija is tako lahko izmenjata medcelično tekočino in nukleotidno jedro. To stanje imenujemo sekundarni micelij, saj vsebuje dva nukleotidna jedra. Sekundarni micelij raste, dokler mu ne zmanjka hranilnih snovi ter vode in je osnova za razvoj trosnjaka. V tem stanju preživi vso svoje življenje (McCoy, 2016).

V primeru nespolnega razmnoževanja sodelujejo tudi spore, imenovane bazidiospore. Te veter odnese na primerna tla, kjer iz njih zraste enojedrni micelij. Hife dveh enojedrnih micelijev se nato združijo v sekundarni micelij (ponovno spolno razmnoževanje) (McCoy, 2016).

2.2.4. Bukov ostrigar (*Pleurotus ostreatus*)

Bukov ostrigar pripada prostotrosnicam. Prištevamo ga med gniloživke (saprofite), saj se prehranjuje s razkrojnimi produkti odmrlega vlažnega lesa. Zaradi tega so koristne za gozdove, saj skozi razkroj lesa v zemljo vračajo koristne minerale (Cotter, 2014).

Bukov ostrigar je ena izmed najhitreje rastočih gliv na svetu, hkrati pa je zaradi užitnosti in dobrega okusa tudi ena izmed najbolj iskanih gob. Primerna je za razne projekte in raziskovanja (Cotter, 2014).

Najbolje rastejo na koščkih starega lesa ali žagovine, na za glive dokaj nizkih temperaturah, in sicer med 13°C - 18°C. Klobuk praviloma ne raste na sredini stebra in ima trobentasti izgled. Klobuk je na začetku rasti obrnjen navzdol, da lahko zaužije kar se da največ vode, vendar se s starostjo zravna, da ustvari prostor za spore. Spore so bele, razen v primeru dveh vrst. Rastejo lahko posebej, v skupinah po eden ali pa v velikih spojenih šopih (Cotter, 2014).



*Slika 3 Bukov ostrigar (*Pleurotus ostreatus*) (Cotter, 2014)*

Razne raziskave so ugotovile, da ima bukov ostrigar veliko vsebnost proteinov, in neverjetno zmožnost zmanjšanja tumorjev v miših. Hkrati lahko zniža debelost in regulira krvni sladkor. S tem raziskave namigujejo na možno uporabo za diabetike. Hkrati pa je bukov ostrigar znan po zmožnosti razgrajevanja kemikalij, kot so ogljikovodiki in pesticidi (Cotter, 2014).

2.2.5. Pisana ploskocevka (*Trametes versicolor*)

Pisana ploskocevka je del odpurtotrošnic. Prištevamo jo med gniloživke (saprofite), najdemo pa jo na mišjakih, cedrah, sadnih drevesih in na koških lesa (Cotter, 2014).

Pisana ploskocevka je sicer užitna, vendar ima, zaradi zelo tkivaste strukture papirnat okus in zato ni preveč priljubljena kot jed (Cotter, 2014).



*Slika 4 Pisana ploskocevka (*Trametes versicolor*) (Cotter, 2014)*

Najbolje rastejo na koščkih starega lesa ali žagovine, na temperaturi okoli 18°C - 23°C. Pisano ploskocevko z lahkoto prepoznamo po barvnih črtah na površini klobuka, in belih sporah pod njimi. Njihova barva je povezana z vrsto lesa na kateri rastejo. Najdemo jih v ravnih spojenih šopih, ki se med seboj pogosto prekrivajo. Po navadi prerastejo celotno površino lesa. Ob veliki vlažnosti rastišča rastejo hitro in lahko hitro prevzamejo rastno površino drugim rastlinam ali glivam, sploh če jih gojimo skupaj (Cotter, 2014).

Kljub slabemu okusu, so pisane ploskocevke velikokrat uporabljene v zdravstvu oziroma v zdravstvene namene. Njihova proteinska vrednost je med 9 in 12 odstotkov. Mnoge raziskave pa so pokazale, da pomagajo pri spodbudi imunskega sistema, reguliranja krvnega pritiska, zniževanju holesterola in spodbujanju prebave. Dokazano je bilo tudi, da so zmožne zatirati rakaste celice, vsebujejo pa tudi protivnetne in protivirusne snovi. Prav tako bi jih lahko v

prihodnosti uporabljali kot mikroremediatorje bioloških in kemičnih onesnaževalcev, predvsem v vodi in prsti (Cotter, 2014).

2.3. REMEDIACIJA

Remediacija oziroma bioremediacija je način dekontaminacije prsti ali vode, s pomočjo organizmov, kot so bakterije, kvasovke, glive, rastline, mikroorganizmi in alge (bioremedianti oziroma remedianti). Je ena izmed varnejših, naravnih in okolju najprijaznejših načinov dekontaminacije. Bioremediaciji lahko rečemo tehnologija v razvoju, saj njene možnosti in možnosti bioremediantov še raziskujemo (Sotenšek, 2017).

V premeru dekontaminacije substrata sta načeloma dva osnovna pristopa, imenovana *in situ* in *ex situ*. Pri metodi *in situ* kontaminiranega substrata ne premikamo iz mesta najdišča, medtem ko pri metodi *ex situ* substrat premaknemo na drugo lokacijo, po navadi v laboratorij (Rhodes, 2014).

2.3.1. Vrste remediacije

Vrste remediacije lahko določimo glede na kraj, kjer je substrat (*in situ* ali *ex situ*), ali glede na remediate, ki jih uporabljamo. Glede na slednjo razvrstitev poznamo:

- **Remediacija z mikrobi**

Pri tej vrsti remediacije uporabljamo bakterije, ki so zmožne prebaviti veliko preprostih ogljikovodikov in snovi, z malo molsko maso. Bakterije, ki so najboljši remedianti so *Pseudomonas fluorescens* in različne *Bacillus* bakterije. Mikroorganizme lahko dodamo na substrat, na katerem so pred tem bile glive, saj ga tako še dodatno očistimo (McCoy, 2016).

- **Fitoremediacija**

Pri fitoremediaciji rastline absorbirajo strupene snovi iz prsti in jih med dihanjem sprostijo v atmosfero. Okoli 400 različnih vrst rastlin lahko absorbira težke kovine v svoje tkivo. Le te lahko kasneje znanstveniki poberejo in obravnavajo v laboratorijih. Ena izmed možnih rastlin je sončnica, ki vase lahko absorbira krom, živo srebro, baker, nikelj in cink. Problem pri fitoremediaciji je, da dekontaminacija zemlje poteka dokaj počasi, vsaj v primerjavi z mikoremediacijo (McCoy, 2016).

- **Mikoremediacija**

2.3.2. Mikoremediacija

Mikoremediacija je ena izmed vrst bioremediacije, ki so bile našteje v prejšnjem podpoglavju. Kot že ime pove, se kot remedianti uporabljajo glive, ki zmanjšujejo oziroma preprečujejo ali rešujejo okolijske probleme. Ljudje glive izkoriščajo že tisočletja za razne namene, in njihove razkrajalne zmožnosti so poznane že stoletja. Glive razkrajajo rastlinske polimere, kot je celuloza, hemi celuloza in lignin, hkrati pa imajo zmožnost shranjevanja in mineraliziranja toksičnih snovi. To počnejo s pomočjo encimov. V zadnjih nekaj desetletjih se je vloga gliv v procesu remediacije povečala, saj so mnoge raziskave pokazale njihovo sposobnost odstranjevanja toksičnih snovi iz vode in prsti, ter degradacijo fenolov, pesticidov, barv, biopolimerov in aromatičnih ogljikovodikov (Singh, 2006).

Kot najbolj primerne oziroma obetajoče glive so bele trohnobe, ki hranilne snovi dobijo iz lesa, ki ga same razkrojijo. Raziskave so pokazale, da encimi, ki so del razkroja lesa, so enaki encimom, ki lahko razgradijo različne organske onesnaževalce (Singh, 2006).

Encimi belih trohnob razkrojijo uporna rjava tkiva v lesu, hkrati pa puščajo celulozo pri miru. Naloga encimov je razgradnja substratov z dolgimi molekulskimi verigami v manjše molekule, kar kasneje omogoča rast gliv. Zaradi tega les izgleda bel. Bele trohnobe imajo zmožnost razkroja vezi med ogljiki in vodiki, ki so prisotne pri strupenih snoveh (Stamets, 2005).

Glive imajo dokaj kratek čas življenja, hkrati pa veliko stopnjo sporulacije, kar jim omogoča hitro povečanje populacije v zelo kratkem času. Zmožne so preživeti v toksičnih okoljih, zaradi njihove zmožnosti razgradnje onesnaževalcev so trajnostna rešitev za bioremediacijo okolja (Sotenšek, 2017).

Večina raziskav o onesnaževalcih se nanaša na tri najbolj problematične tipe.

- **Mikrobi:** Glive imajo protimikrobne značilnosti, ki so uporabljeni kot način nevtralizacije, zajema oziroma uničenje mikrobov, predvsem v vodnih sistemih.
- **Kovine:** Glive lahko stabilizirajo ali pa popolnoma odstranijo težke kovine. V primeru težkih kovin v vodi, glive lahko filtrirajo vodo in na tak način odstranijo težke kovine.
- **Kemikalije:** Zaradi zunajcelične presnove gliv so raziskave pokazale njihovo zmožnost razkroja onesnaževalcev (McCoy, 2016).

2.3.3. Metode mikoremediacije

Glive s pomočjo svojih encimov uporabljajo različne načine dekontaminacije onesnaženih območij.

Biorazgradnja

Pri tej metodi glive razgradijo kompleksne molekule do enostavnih molekul ali pa mineralnih snovi. Primeri za to so uničevanje lesa, papirja, tekstila, plastike, ustenja in raznih ovijalnih materialov. Le te razgradijo s pomočjo proizvedenih zunajceličnih encimov, za nastanek katerih morajo glive biti ob primernem substratu. Spojine, ki nastanejo pri biorazgradnji so po navadi CO_2 , H_2O , NO_3 in dodatne preproste anorganske spojine (Sotenšek, 2017).

Biosorpcija

Biosorpcija je proces akumulacije snovi v biomaso gliv. Onesnaževalci so po navadi kovinski ioni (ioni težkih kovin). Biosorpcija vključuje kombinacijo dveh postopkov (Sotenšek, 2017).

1. Bioakumulacija: prenos in kopičenje snovi v zunajceličnih strukturah
2. Biosorpcijo: vezava onesnaževalca na površino biomase

Biosorpcija je odvisna od mnogo faktorjev, kot je vrsta kovine in njegove ionska struktura v raztopinah. Odvisna je tudi od časa izpostavljenosti, do neke mere pa tudi od magnetnega polja. Glive so biosorbenti zaradi njihove neobčutljivosti na visoke koncentracije težkih kovin, zmožnosti skladiščenja le teh in njihove kasnejše razgradnje (Prakash, 2017).

Biokonverzija

Biokonverzija je predelava organskih materialov, predvsem odpadkov, v energijske vire s pomočjo živih organizmov. Primer tega je razkrajanje lignoceluloznih materialov, s pomočjo gliv in njihove izdelave velikih količin encimov. Na tak način se na hiter in varen način znebimo dokaj nevarnih kmetijskih in industrijskih odpadkov, hkrati pa dobimo čiste energetske vire, potreben za življenje (Dashtban, et al., 2009).

2.3.4. Mikoremediacija in težke kovine

Težke kovine so najdene v kamninah, v prsti, zaradi vulkanskih izbruhov in erozije pa jih najdemo tudi v rekah. Skozi čas se težke kovine nalagajo in tako lahko pride do nevarno visokih koncentracij le teh v prsti. To pa vpliva na zdravje ljudi in okolja (McCoy, 2016).

V zadnjih nekaj letih mikoremediacija prejema vedno več pozornosti, predvsem zaradi njenega pomena pri čiščenju in dekontaminiranju okolja, hkrati pa zaradi povrnitve težkih kovin, ki so lahko ponovno uporabljene in se ne nalagajo v prsti (Singh, 2006).

Miceliji mnogih vrst gliv lahko nase vežejo težke kovine preko mehanizma izmenjave ionov na površju micelija. Ko so ioni kovin povezani s površino micelija, so kristalizirani, absorbirani in ujeti v polisaharidni material celičnih sten glive. Na sorbcijo težkih kovin vplivajo temperatura, pH, ionska struktura in funkcionalno mesto, poleg drugih razmer (McCoy, 2016).

Metoda biosorpcije je pri težkih kovinah najbolj uporabna, ko so le te v vodi ali vodni raztopini. Ko kontaminirana voda pride v stik z micelijem, se nanj ujamejo ioni kovine. Na tak način lahko vodo očistimo težkih kovin. Najpomembnejši del pa je združevanje prave vrste micelija z pravo kovino. V primeru vode, ki je kontaminirana z več kovinami, je potrebno vpeljati micelije več vrst (McCoy, 2016).



Slika 5 Primer vodne mikoremediacije z bukovim ostrigarjem (Stamets, 2005)

Miceliji odstranimo iz vode, ko so se težke kovine sorbirale vanj. Kovine nato odstranimo iz tkiva, in jih recikliramo. Leta 2014 je finsko podjetje uspelo iz starih telefonov odstraniti 80% zlata s pomočjo mikoremediacije (McCoy, 2016).

Glive lahko povečajo topnost netopnih ionov težkih kovin, s pomočjo metabolitov, ki povzročijo redukcijo ali dealkilacijsko reakcijo s kovinami. Snovi, ki jih gliva proizvede so: organske kisline, in snovi, ki nase vežejo kovinske ione (McCoy, 2016).

Gliv, ki so nasičene s težkimi kovinami se je potrebno znebiti na varen in okolju prijazen način, ki pa je pogosto zelo drag. Najbolje jih je odložiti v območja, ki so za to določena. Odnese pa so lahko tudi na mokrišča, ki v katerih so anaerobne bakterije, ki predelajo sulfate v sulfide. Kovinski sulfidi so zelo stabilni in slabo topni. Zaradi teh lastnosti so zmožni ostati na dnu mokrišča desetletja, in celo stoletja (McCoy, 2016).

2.4. Metoda ICP – MASNI SPEKTROMETER

Za merjenje količine težkih kovin v sedimentu smo uporabili metodo ICP – masni spektrometer. ICP lahko izmeri večino elementov v periodnem sistemu. Večina analiz opravljenih s ICP je kvantitetna, prav tako pa velikokrat uporabljena za ugotavljanje izotopne sestave analiziranega vzorca (PerkinElmer, Inc., 2011).



Slika 6 Masni spektrometer (lastni vir)

Vzorci, katere analiziramo v ICP so najpogostejše v tekočem stanju. Preden vzorce uvedemo v argonsko plazmo, ICP tekočino razbije na aerosolne kapljice. Plazma doseže temperaturo do 6000°C in aerosol posuši do trdnega agregatnega stanja, nato pa ga segreje do plinastega stanja.

Pri takšnem potovanju skozi plazmo atomi zbirajo energijo in čez čas sprostijo elektron. Zaradi tega nastanejo posamično nabiti ioni, ki so usmerjeni v masno filtrirno napravo, poznano kot masni spektrometer. Ko ioni vstopijo v spektrometer, le ti večkrat udarijo ob posebno aktivno površino detektorja, kar povzroči sprostitvev slapa elektronov, ki so ojačevani dokler ne postanejo izmerljivi impulz. Programska oprema nato določi kalibracijsko krivuljo, ki služi določitvi koncentracije elementa (PerkinElmer, Inc., 2011).

ICP – MS lahko določi štiri različne vrste rezultate:

- Semi – kvantitativna analiza: prikaže kateri elementi so prisotni v vzorcu in njihovo približno koncentracijo.
- Kvantitativna analiza: na začetku je potrebno masni spektrometer kalibrirati, tako da izmeri hotene elemente. Meritve so točne, koncentracije elementov pa so določene s primerjanjem kalibracijske krivulje in meritvami za izbran izotop.
- Izotopsko razmerje: ICP – MS izmeri specifične izotope nekega elementa in nato na podlagi tega določi njihova razmerja.
- Izotopsko redčenje: vzorcu je dodan oplemeniten izotop elementa, ki nas zanima. Oplemeniten izotop tako prevzame vlogo kalibracijskega standarda in interni standard. Zaradi enakih kemijskih in fizikalnih značilnosti je ta izotop najboljši interni standard.

ICP – MS je za laboratorij najboljši, kadar je potrebno določiti koncentracije oziroma količine elementov, za katere je pričakovano da imajo zelo nizke meje zaznave (PerkinElmer, Inc., 2011).

3 MATERIALI IN METODA DELA

Eksperiment je sestavljen iz dveh delov. V prvem delu smo na terenu nabrala sediment, na katerem smo nato gojili micelije, katere smo nato pobrali in vse odnesli na analizo v laboratorij. V drugem delu smo micelije dali na slamo, in jih zalivali z znanimi koncentracijami težkih kovin (kadmij, baker in svinec), na koncu pa smo jih odnesli na analizo.

3.1. MATERIALI

3.1.1. Gobe

Pri eksperimentih smo uporabili micelij sledečih vrst.

- Bukov ostrigar (*Pleurotus ostreatus*)
- Pisana ploskoceвка (*Trametes versicolor*)

3.1.2. Sediment

Sediment smo odvzeli na eni lokaciji (Melju), ki je označena na zemljevidu (Prilogi 1). Na tej lokaciji smo sediment odvzeli iz treh različnih mest, ki so bila med seboj oddaljena 10 metrov, kot je prikazano na zemljevidu (Priloga 2). Sediment smo odvzeli z lopato na globini 5 – 15 cm.

3.1.3. Kemikalije

- 70% etanol
- Destilirana voda
- $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$
- $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- 30% HCl
- 70% HNO_3
- 1% HNO_3
- 30% H_2O_2
- Varikina

3.1.4. Laboratorijski pribor

- Čaše (100mL)
- Erlenmajerica (250mL)
- Merilni valj (500mL)
- Stekleni kozarci (500mL)

- Petrijevke (plastične in steklena)
- Plastične posode (1000mL)
- Steklene palčke
- Plastične žlice
- Plastično sito
- Plastične pincete
- Plastična podloga
- Keramične posodice
- Plastične posodice z zamaški
- Pipete
- Stojalo za epruvete
- Plastične škarje

3.1.4. Laboratorijske aparature

- Tehnica (KERN, natančnost 0,001g)
- Analitska tehnica (Mettler Toledo AX205 DeltaRange)
- Advanced Microwave Labstation (ETHOS Touch Control)
- DigiBlock ED36S (Lab Tech)
- ICP – Masni spektrometer (ELAN)
- Digestorij



Slika 7 Advanced Microwave Labstation (ETHOS Touch Control) (lasten vir)

3.1.5. Zaščitna oprema

- Zaščitne rokavice
- Zaščitna halja
- Zaščitna očala

3.2. METODE

3.2.1. Pobiranje sedimenta na terenu

Na terenu smo nabrali sediment, in sicer na območju, kje se je nabralo veliko mulja izpuščenega iz elektrarn na reki Dravi. Najprej smo z lopatko skopali luknjo globoko od 5 – 15 cm in nato nabrali sediment, ki smo ga dali v plastične posode in odnesli v laboratorij. Kraj nabiranja sedimenta smo tudi fotografirali.



Slika 8 Lokacija št.2 (lasten vir)



Slika 9 Lokacija št.1 (lasten vir)

3.2.2. Priprava okolja za micelije

Po tem ko smo dobili micelije obeh vrst gliv smo nabrati sediment in prekuhati slamo. Nato smo sestavili različna okolja. Najprej smo steklene kozarce očistili z varilkino ter vodo. Nato pa smo nadaljevali s pripravo okolja.

V prvem delu smo šest kozarcev do tretjine napolnili s prstjo, tretjino s slamo in tretjino z micelijem. Kot kontrolo smo uporabili kozarce, ki smo jih napolnili samo s tretjino prst in tretjino slame. Vse skupaj smo premešali tako da smo dobili enotno snov. Vse kozarce smo prekrili s zamaškom, ki je imel luknjo, tako da je zrak lahko krožil.



Slika 10 Postavitev okolji (lasten vir)

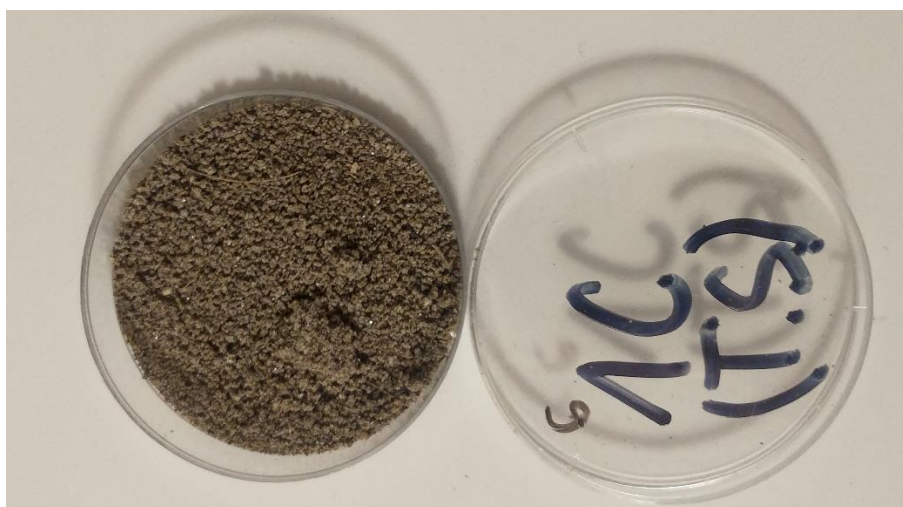
V drugem delu smo 6 kozarcev napolnili s približno 10 g slame in z vizualno enako količino micelija obeh vrst. Kot kontrolno okolje smo postavili kozarec s samo slamo. Vse skupaj smo premešali tako da smo dobili enotno snov. Nato smo vse zalili z zaznano koncentracijo težkih kovin in 70mL vode. V prvo okolje smo dodali znano koncentracijo kadmija (6420 mg/kg suhe mase), v drugega smo dodali baker (2380 mg/kg suhe mase) in v tretjega svinec (4440 mg/kg suhe mase).

3.2.3. Priprava sedimenta za analizo

Po 3 tednih smo gojišča razdrli in jih pripravili za analizo. V primeru sedimenta, smo ga presejali skozi plastično sito in ga shranili v označenih petrijevkah. Nato smo sediment posušil v pečici, ki je bila segreta na 180°C.



Slika 11 Okolja pa 21 dneh (lasten vir)



Slika 12 Pripravljen sediment za analizo (lasten vir)

3.2.4. Priprava slame na analizo

Slamo smo očistili sledov micelija in jo nato narezali s plastičnimi škarjami. Slamo smo shranili v petrijevkah. Slamo smo, tako kot prst, osušili v pečici, ki je imela 180°C.



Slika 13 Slama pripravljena na analizo (lasten vir)

3.2.5. Priprava gob na analizo

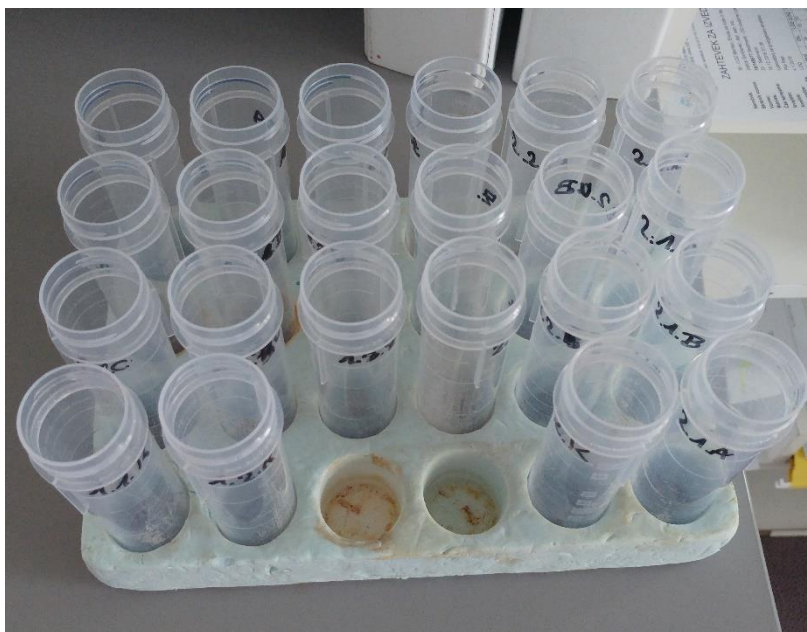
Po tem ko smo okolje razdrli, smo ugotovili, da imajo miceliji, kateri so rastle na prsti, na sebi in v sebi veliko prsti. Glive smo zato dali v vodo in počakali, da pesek potone, ter jih nato shranili v petrijevkah. Enako kot v prejšnjih primerih smo tudi glive osušili v pečici, ki je bila segreta na 180°C.



Slika 14 Glive pripravljene za analizo (lasten vir)

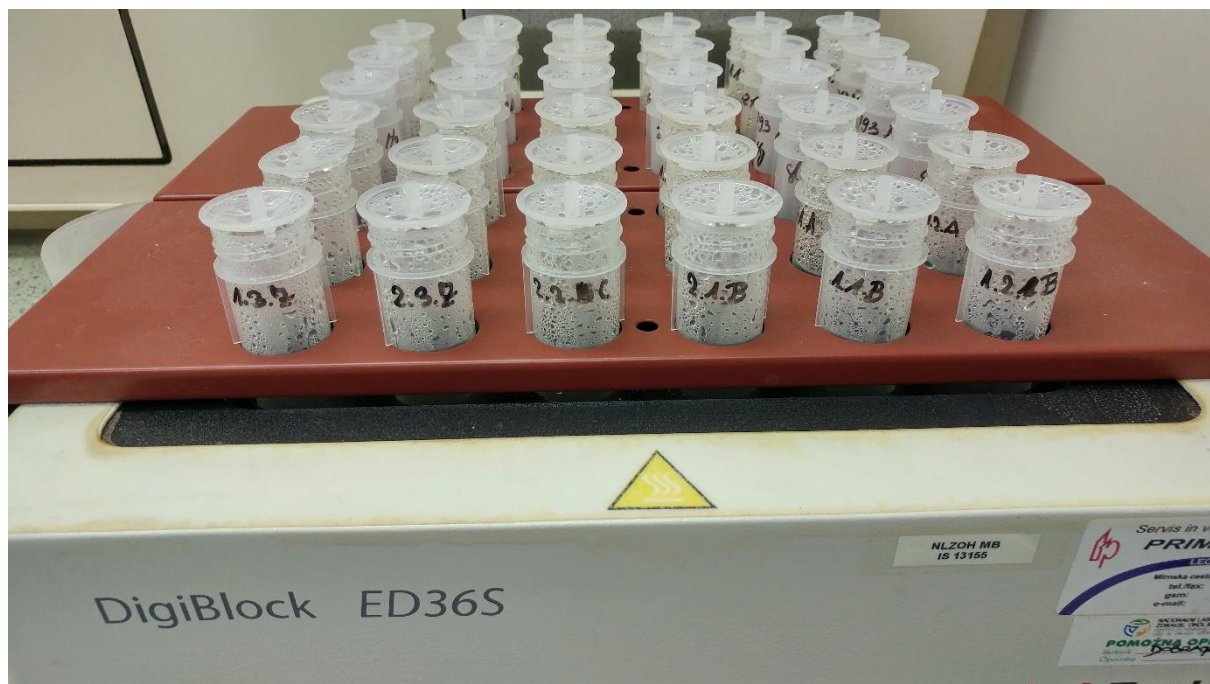
3.2.6. Priprava prsti in slame na analizo v laboratoriju

Najprej smo v plastične posodice natehtali 0,5 grama prsti . Potem smo vzorcu dodali 30% HCl in 70% HNO₃ v razmerju 3:1 (z drugim imenom to mešanico imenujemo zlatotopka). Nato smo na plastične posodice namestili čepek in jih dali v digestoriji. Tam smo jih namestili v DigiBlock ED36S. Naslednje nekaj časa se je temperatura nenehno dvigovala do trenutka refluxa, kjer je temperatura postala konstantna pri 103°C in na tej temperaturi so bili vzorci še naslednji 2 uri. Po končanem vrenju so se vzorci utekočinili. Utekočinjene vzorce smo nato razredčili s 1% HNO₃ do 50 mL. Plastično posodico smo nato zaprli s zamaškom.



Slika 15 Slama in sediment v plastičnih posodicah (lasten vir)

S slamo se je zgodilo podobno. V plastične posodice smo natehtali približno 0,5000 g slame. Potem smo vzorcu dodali 30% HCl in 70% HNO₃ v razmerju 3:1. Kot pri prsti, smo tudi te vzorce postavili v DigiBlock in počakali dokler niso dosegli refluxa, ki smo ga nato vzdrževali še naslednji 2 uri. Tudi vzorce slame so razredčili do 50mL, celotni vzorec pa smo nato zamašili z zamaškom.



Slika 16 Vzorci slame in sedimenta v DigiBlocku, refluks (lasten vir)

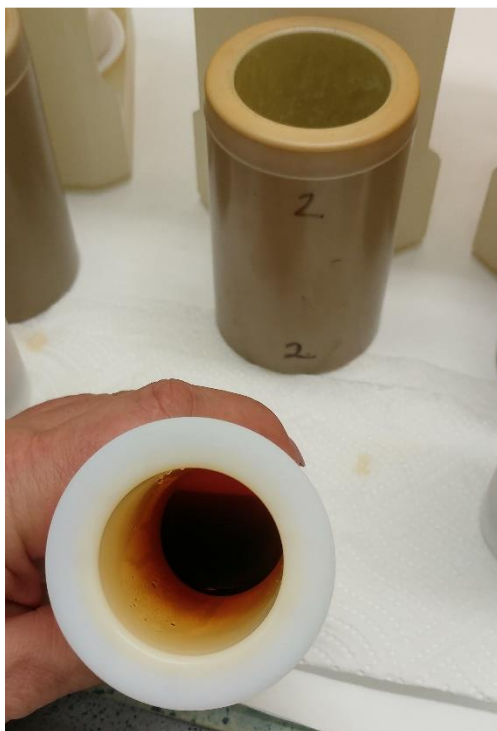
Vse vzorce smo pustili stati en dan in pol.

3.2.7. Priprava gob na analizo v laboratoriju

V keramične posodice smo natehtali približno 0,15 g gliv. V posodice smo nato dolili 70% HNO_3 in 30% H_2O_2 v razmerju 7:1. Vzorce smo nato postavili v Advanced Microwave Labstation, kjer so se le ti razklopili. V napravi razklop poteka pod visokim tlakom in visoko temperaturo, izhajajo pa CO_2 in H_2O . Počakali smo 30 minut, nato pa vzorce prelili v plastične posodice. Vzorce smo razredčili od 25mL in jih zamašili z zamaškom.



Slika 17 Posodice, v katerih so glive (lasten vir)

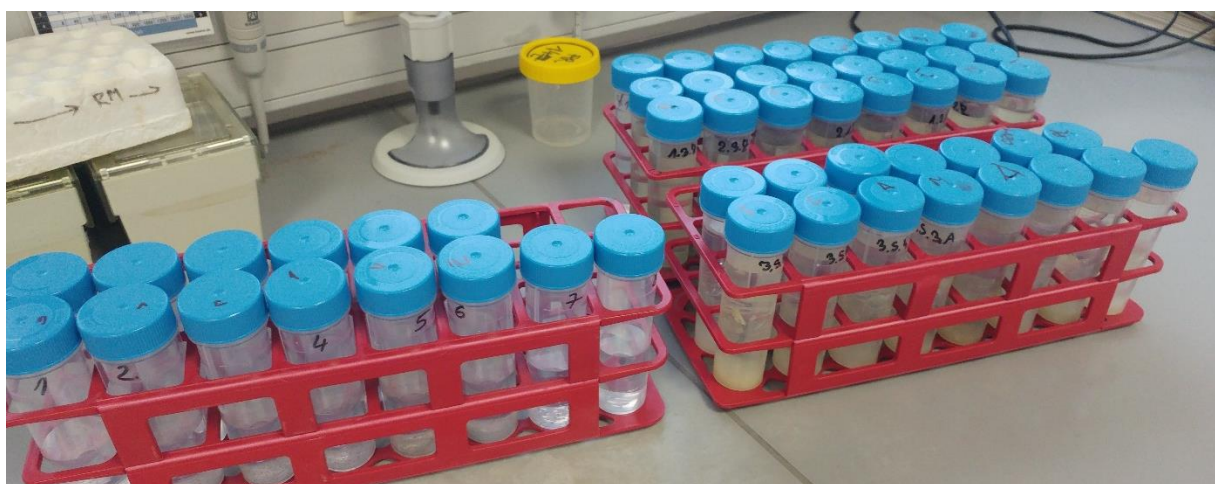


Slika 18 Glive takoj po končanem razklopu (lasten vir)

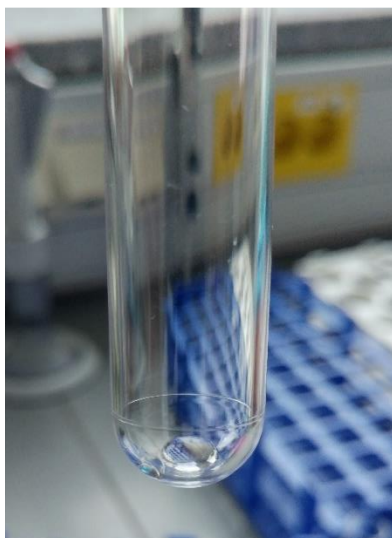
Tako kot vzorce prsti in slame, smo tudi vzorce gob pustili stati dan in pol.

3.2.8. Metoda določanja koncentracij težkih kovin v substratu in slami s masnim spektrometrom

Najprej smo v epruveto dali 50 μ m rodija, ki je služil kot kontrola. Nato smo odvzeli 350 μ m vsa vzorca in ga dali v točno določeno epruveto. Dolili smo 1% HNO₃ do tolikšnega volumna, da je bilo razmerje med vzorcem in kislino 1:20.



Slika 19 Vsi vzorci po razklopu (lasten vir)



Slika 20 Rodij, kot kontrola, v epruveti (lasten vir)

Vzorci smo nato prenesli v ICP - masni spektrometer, ki je na podlagi programske opreme prikazal rezultate.

3.2.9. Metoda določanja koncentracij težkih kovin v glivah s masnim spektrometrom

Podobno kot pri slami in prsti je bilo tudi pri gobah. V epruveto smo dodali 50 μ m rodija, nato pa še 700 μ m vzorca. V epruveto smo nato prilili še določeno količino 1% HNO₃, tako da dosežemo razmerje 1:10 med vzorcem in kislino.

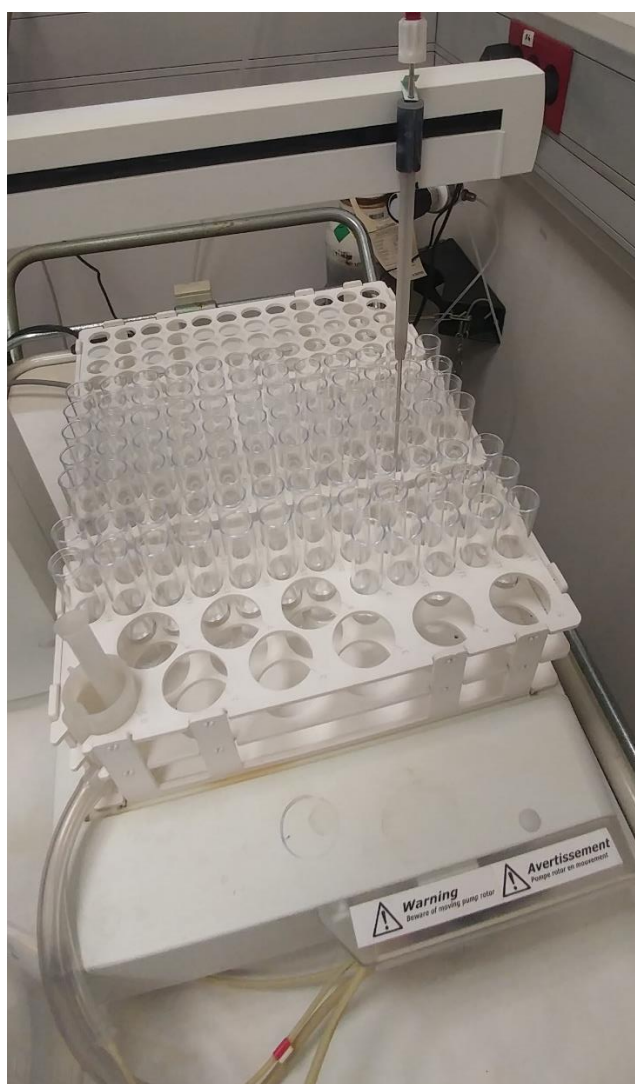


Slika 21 Glive po razklopu (lasten vir)

Vzorci smo nato prenesli v ICP - masni spektrometer in počakali na rezultate.



Slika 22 Stojalo za epruvete (lasten vir)



Slika 23 Analiza vzorcev z masnim spektrometrom (lasten vir)

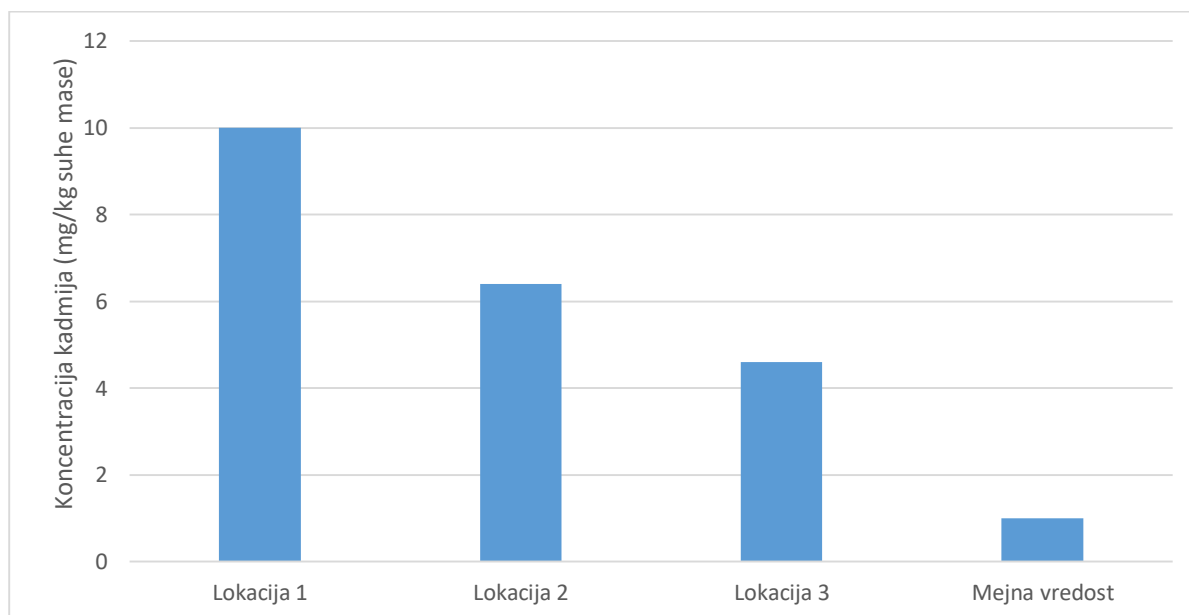
4 REZULTATI IN ANALIZA

V spodnji tabeli so predstavljene izmerjene koncentracije kadmija, bakra in svinca v vzorcih substrata, katerega smo nabrali na treh različnih lokacijah na obrežju Drave (Priloga 2). Koncentracije so preračunane v mg/kg suhe mase. S številko so dopisana območja odvzema substrata. V tabelo so vključene tudi mejne vrednosti kadmija, bakra in svinca (Uradni list RS, 1996) in izmerjene koncentracije težkih kovin v čisti slami.

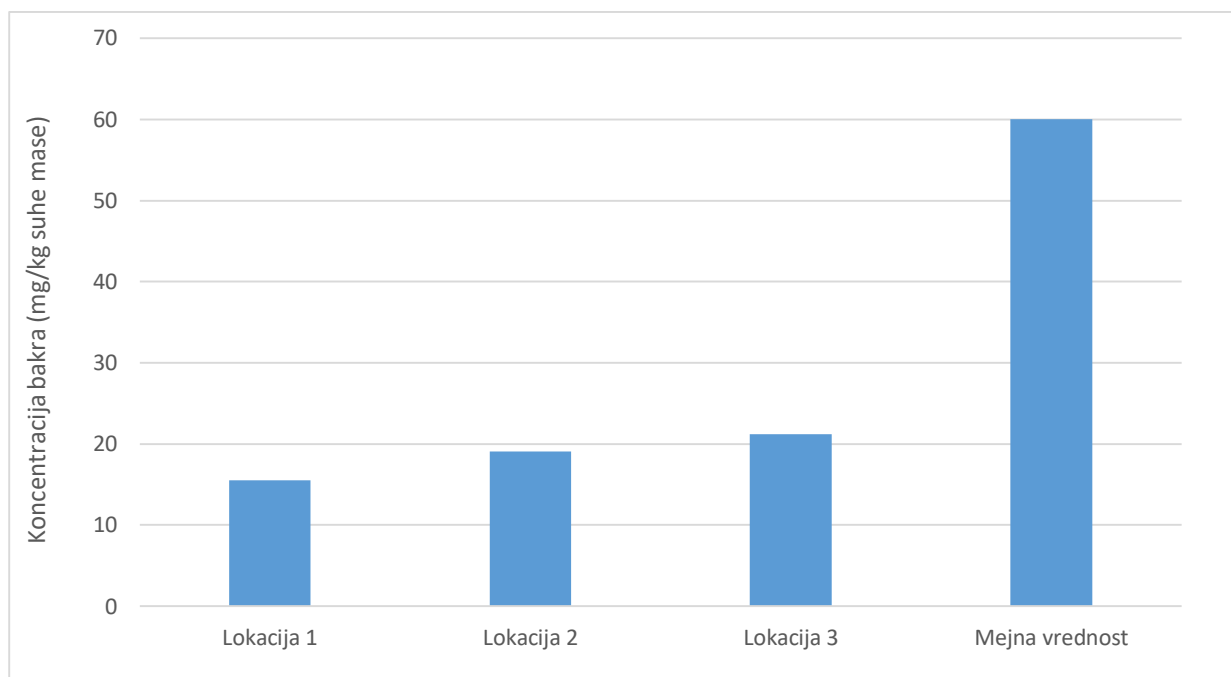
Meritve so potekale v paralelkah, zato so vrednosti vnesene v tabelo poprečje obeh meritev.

Tabela 1 Težke kovine v substratih nabranih na obrežju Drave

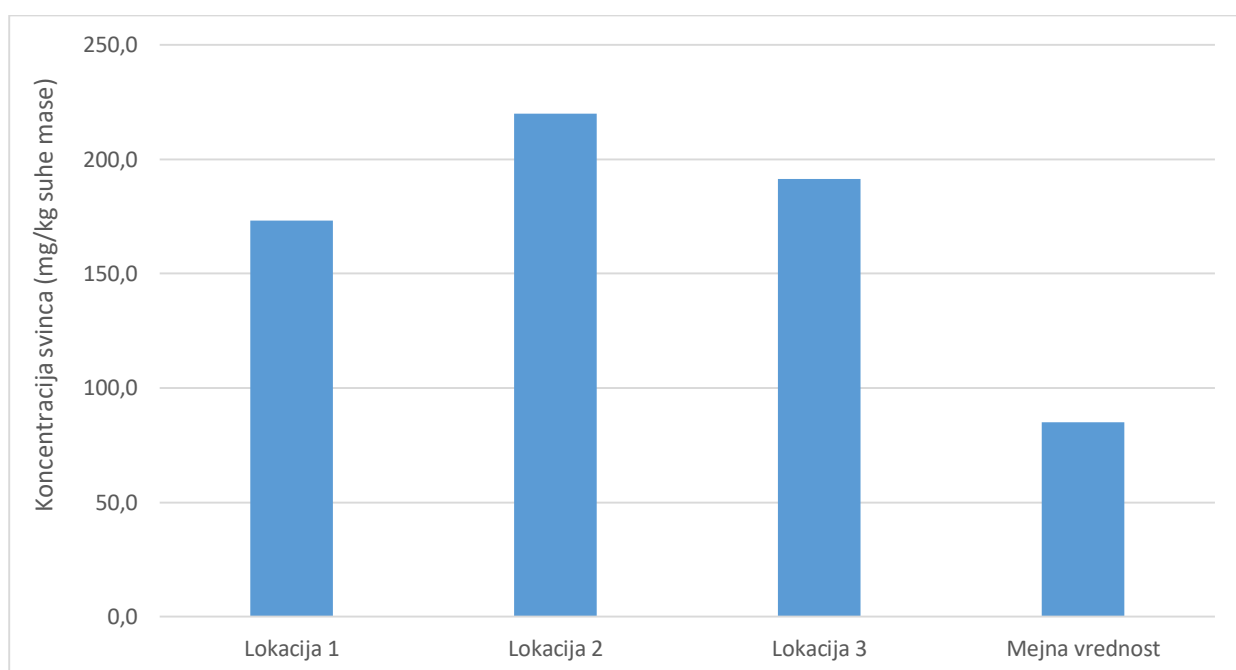
Lokacija	MEJNE VREDNOSTI (mg/kg suhe mase)			TEŽKE KOVINE V ČISTI SLAMI (mg/kg suhe mase)			TEŽKE KOVINE V SUBSTRATU ODVZETEM NA OBREŽJU DRAVE (mg/kg suhe mase)		
	Cd	Cu	Pb	Cd	Cu	Pb	Cd	Cu	Pb
1.	1	60	85	0,517	3,68	0,854	10.0	15.5	173,3
2.							6.4	19.1	219.7
3.							4.6	21.2	191.2



Graf 1 Primerjava koncentracij kadmija v substratih



Graf 2 Primerjava koncentracij bakra v substratih



Graf 3 Primerjava koncentracij svinca v substratih

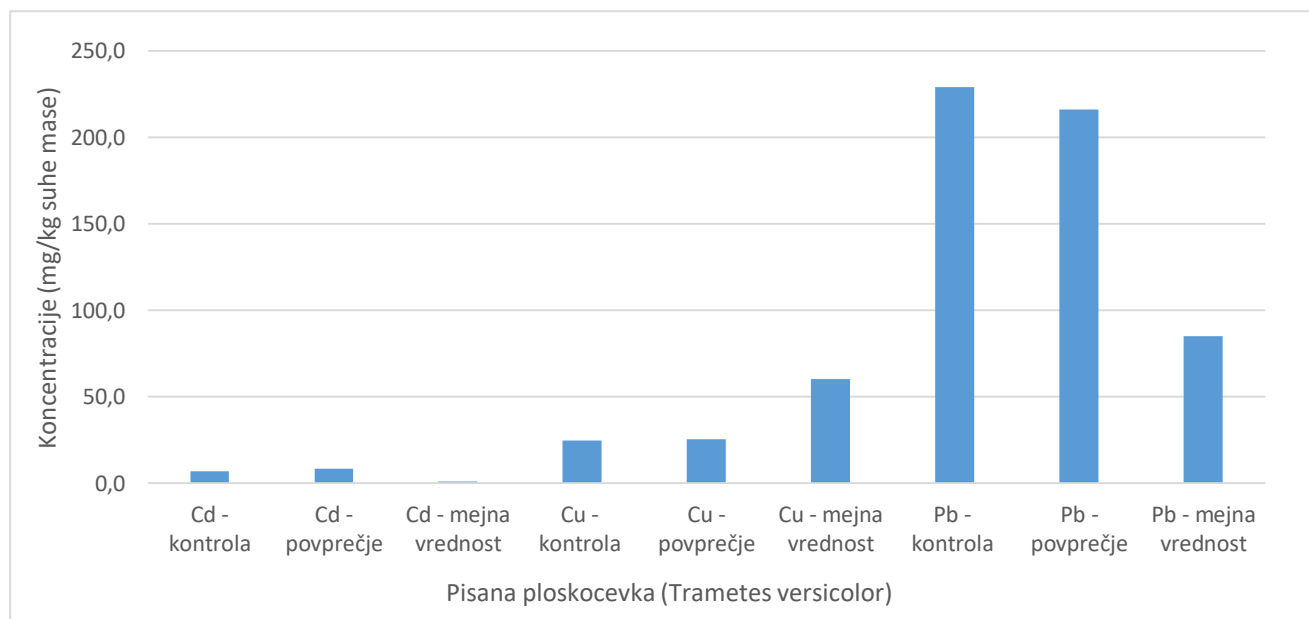
Rastiščem gliv smo dodali substrat iz lokacije št. 1 (Priloga 2).

4.1. REZULTATI MIKOREMEDIACIJE NA SUBSTRU Z NEZNANIMI VREDNOSTMI KONCENTRACIJ TEŽKIH KOVIN

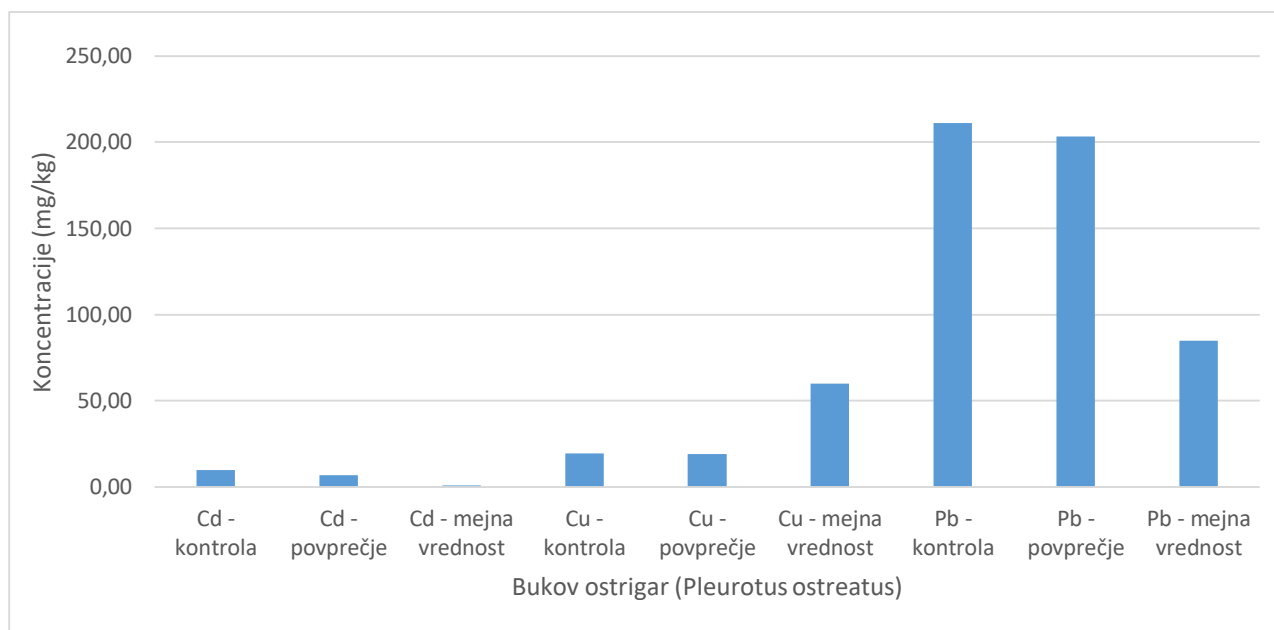
Merili smo v paralelkah, zato so v tabelo vnesene povprečne vrednosti.

Tabela 2 Koncentracije težkih kovin v substratu pred in po mikoremediaciji

	MEJNE VREDNOSTI (mg/kg suhe mase)			TEŽKE KOVINE V SUBSTRATU KONTROLNEGA VZORCA (mg/kg suhe mase)			TEŽKE KOVINE V SUBSTRATU (mg/kg suhe mase)		
	Cd	Cu	Pb	Cd	Cu	Pb	Cd	Cu	Pb
Pisana ploskocevka (Trametes versicolor)	1	60	85	7.0	24.6	228.9	8.4	25.3	216.2
Bukov ostrigar (Pleurotus ostreatus)				9.88	19.5	211	7.1	19.3	203



Graf 4 Težke kovine v pisani ploskocevki pred in po mikoremediaciji



Graf 5 Težke kovine v bukovem ostrigarju pred in po mikoremediaciji

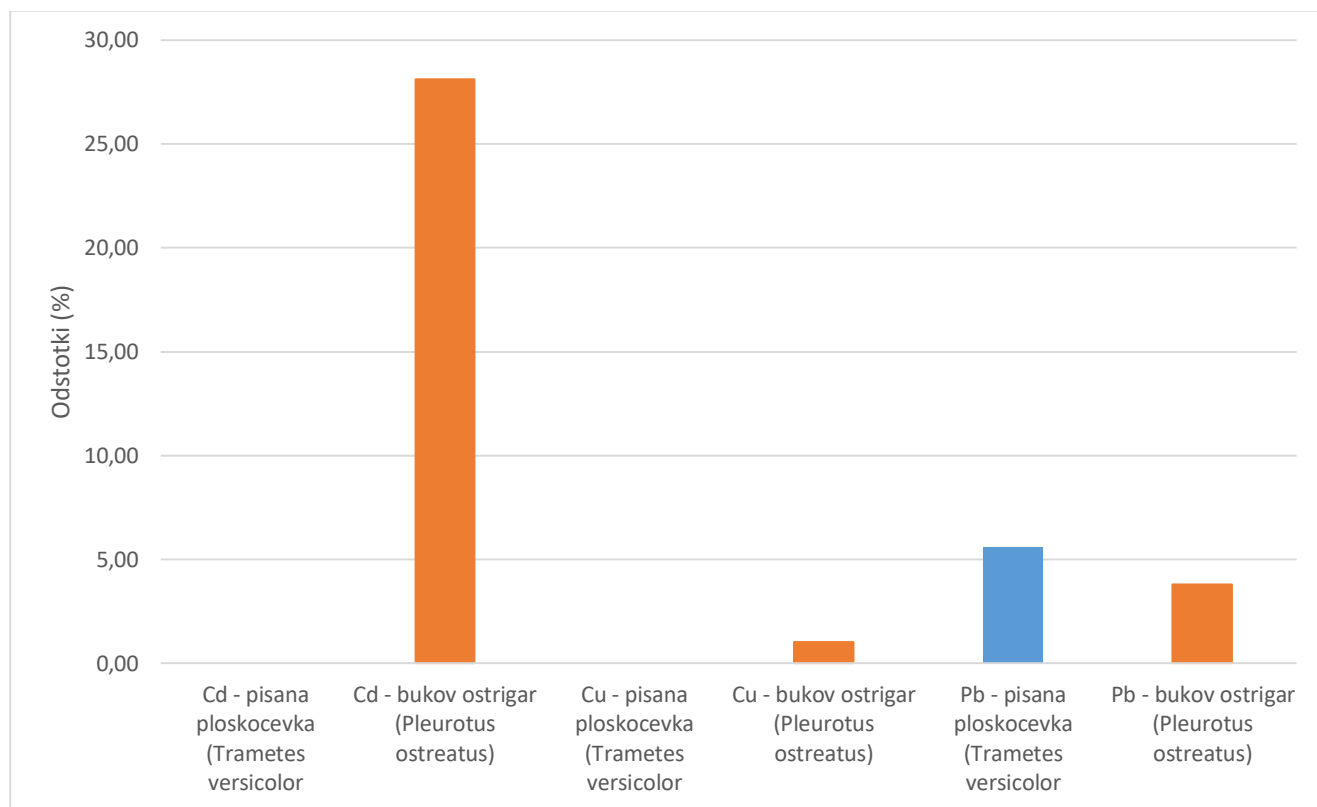
V tabeli so naveden izračunane koncentracije akumuliranih težkih kovin. Izračunali smo jih tako, da smo od vrednosti koncentracije težkih kovin v kontrolnem vzorcu odšteli vrednost koncentracij težkih kovin v substratu. Ker je rezultat negativen pri akumulirani koncentraciji kadmija in bakra v primeru pisane ploskocevke, teh rezultatov nismo upoštevali.

Tabela 3 Akumulirane koncentracije težkih kovin v pisani ploskocevki in bukovem ostrigarju

	MEJNE VREDNOSTI (mg/kg suhe mase)			AKUMILIRANA KONCENTRACIJA TEŽKIH KOVIN (mg/kg suhe mase)		
	Cd	Cu	Pb	Cd	Cu	Pb
Pisana ploskocevka (Trametes versicolor)	1	60	85	/	/	12.7
Bukov ostrigar (Pleurotus ostreatus)				2.8	0.2	8.0

Tabela 4 Vrednosti akumuliranih koncentracij težkih kovin v odstotkih

	AKUMILIRANA KONCENTRACIJA TEŽKIH KOVIN (%)		
	Cd	Cu	Pb
Pisana ploskocevka (Trametes versicolor)	/	/	5.6
Bukov ostrigar (Pleurotus ostreatus)	28.3	1.02	3.8



Graf 6 Vrednosti akumuliranih koncentracij težkih kovin v odstotkih

4.2. REZULTATI MIKOREMEDIACIJE NA SLAMI Z ZNANIMI VREDNOSTMI KONCENTRACIJ TEŽKIH KOVIN

4.2.1. Kadmij

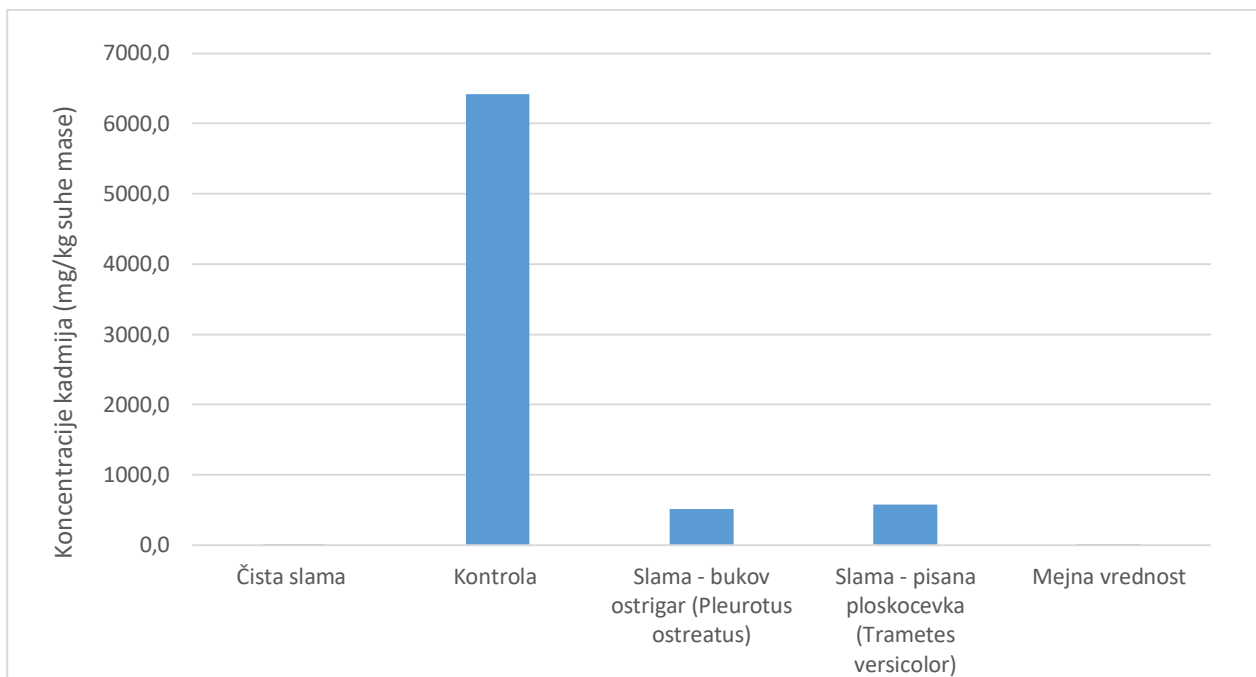
V prvem primeru smo okolju dodali znano koncentracijo kadmija.

Tabela 5 Koncentracija kadmija v slami

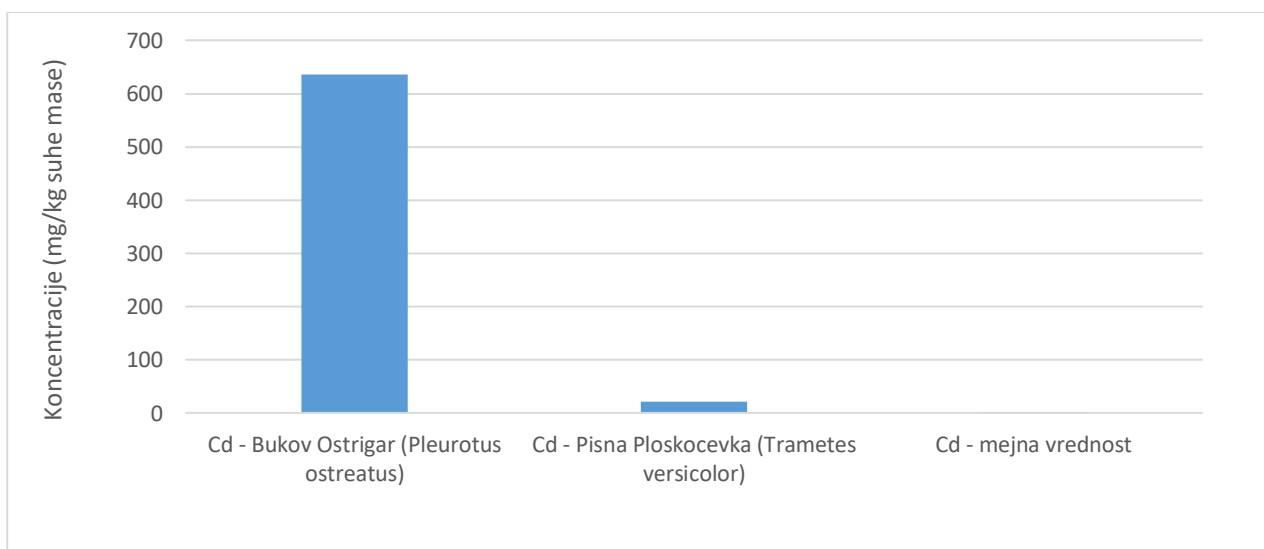
	KONCENTRACIJA KADMIJA v SLAMI (mg/kg suhe mase)
Kontrolni vzorec	6417
Čista slama	0.5
Bukov ostrigar (slama)	509.9
Pisana ploskocevka (slama)	476.8

Tabela 6 Koncentracija akumuliranega kadmija v glivah

	AKUMULIRANA KONCENTRACIJA KADMIJA v GLIVAH (mg/kg suhe mase)
Mejna vrednost	1
Bukov ostrigar	636
Pisana ploskocevka	21



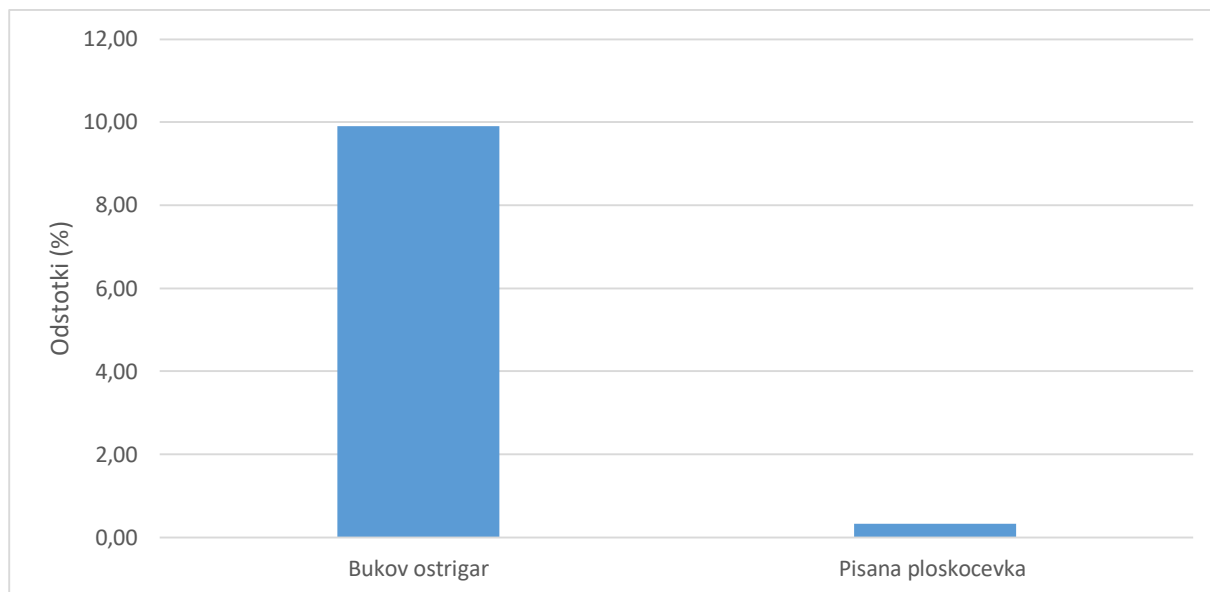
Graf 7 Vsebnost kadmija v slami pri dodajanju znane koncentracije kadmija



Graf 8 Koncentracija absorbiranega kadmija v glivah

Tabela 7 Izračunan procentualni del akumuliranega kadmija v glivah

	AKUMULIRANA KONCENTRACIJA KADMIJA v GLIVAH (%)
Bukov ostrigar	9.9
Pisana ploskocevka	0.33



Graf 9 Izračunan procentualni del akumuliranega kadmija v glivah in njegova primerjava

4.2.2. Baker

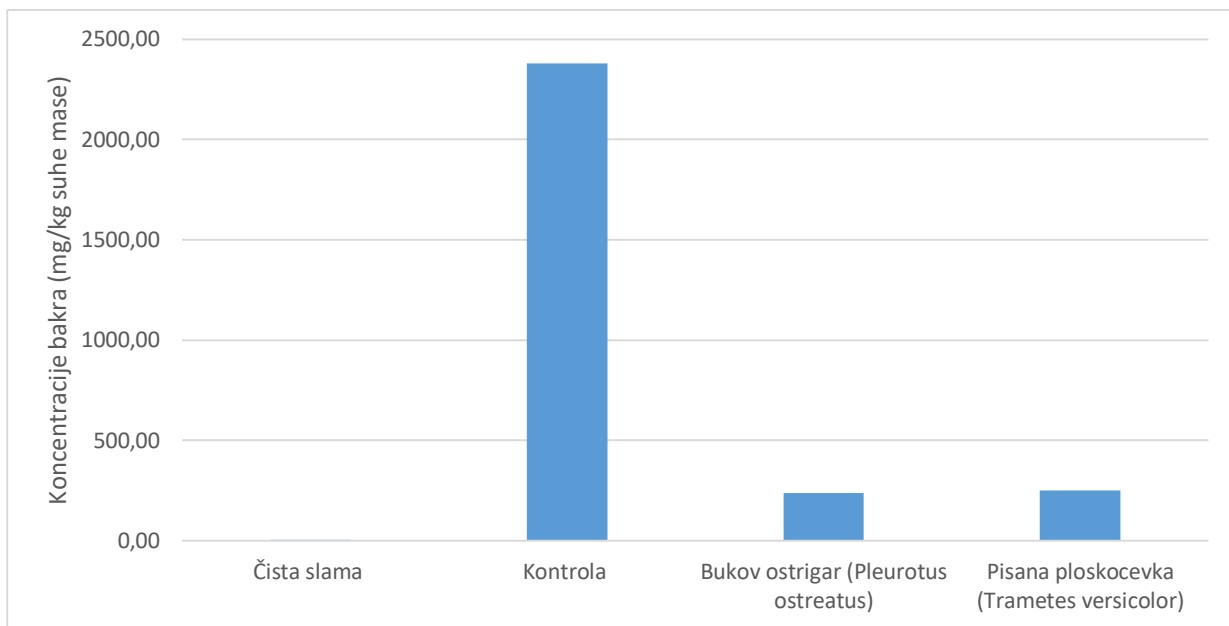
Pri drugem okolju smo dodali znano koncentracijo bakra.

Tabela 8 Koncentracija bakra v slami

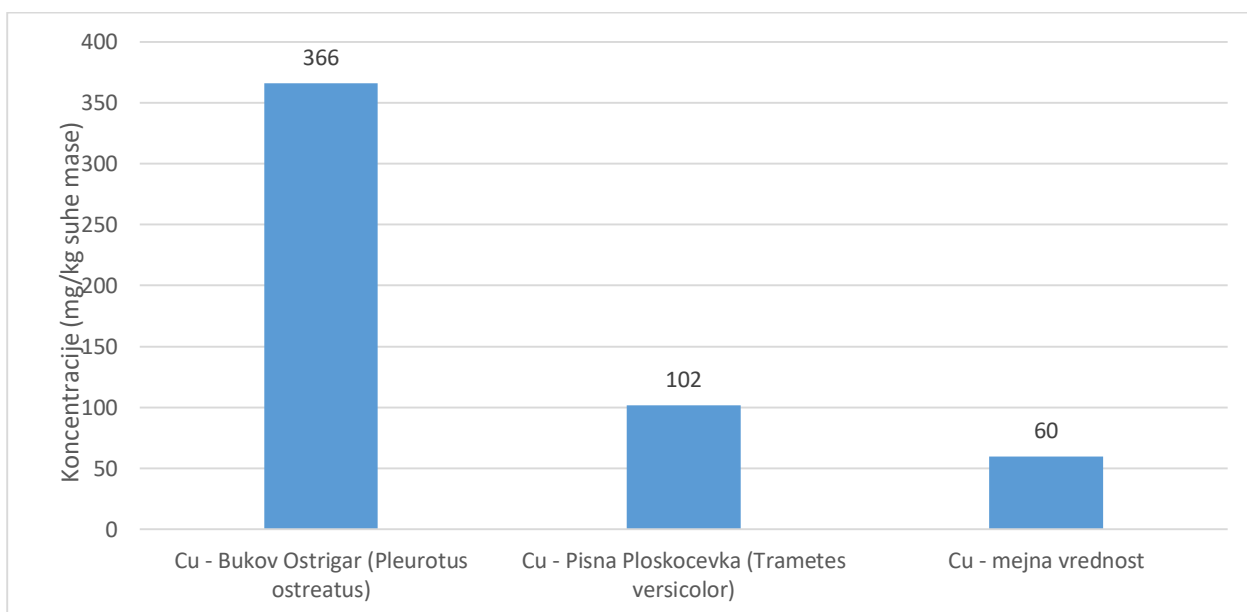
	KONCENTRACIJA BAKRA v SLAMI (mg/kg suhe mase)
Kontrolni vzorec	2380
Čista slama	3.68
Bukov ostrigar (slama)	236
Pisana ploskocevka (slama)	251

Tabela 9 Koncentracija akumuliranega bakra v glivah

	AKUMULIRANA KONCENTRACIJA BAKRA v GLIVAH (mg/kg suhe mase)
Mejna vrednost	60
Bukov ostrigar	366
Pisana ploskocevka	102



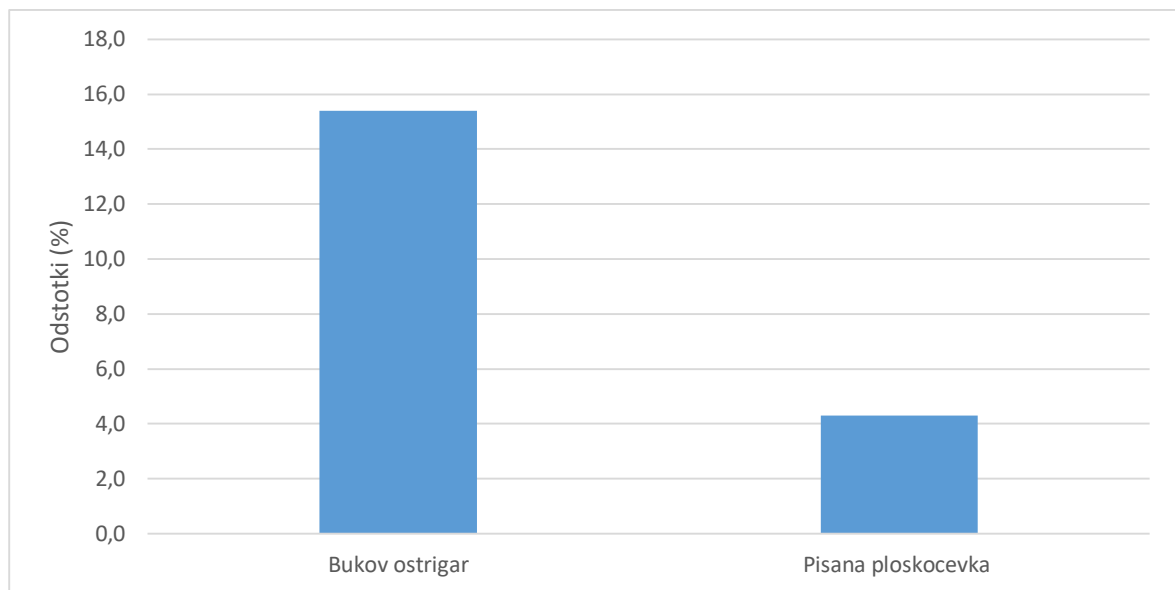
Graf 10 Vsebnost bakra v slami pri dodajanju znane koncentracije bakra



Graf 11 Koncentracija absorbiranega bakra v glivah

Tabela 10 Izračunan procentualni del akumuliranega bakra v glivah

	AKUMULIRANA KONCENTRACIJA BAKRA v GLIVAH (%)
Bukov ostrigar	15.4
Pisana ploskocevka	4.29



Graf 12 Izračunan procentualni del akumuliranega bakra v glivah in njuna primerjava

4.2.3. Svinec

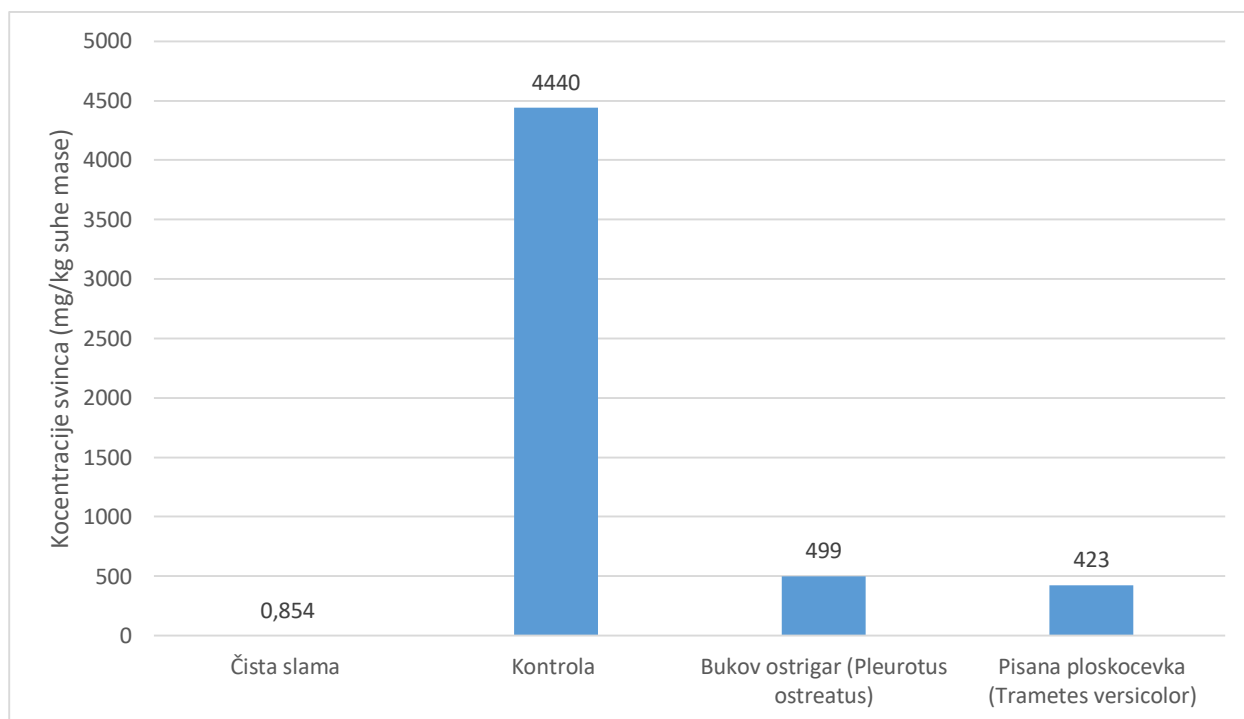
Pri tretjem okolju smo dodali znano koncentracijo svinca.

Tabela 11 Koncentracija svinca v slami

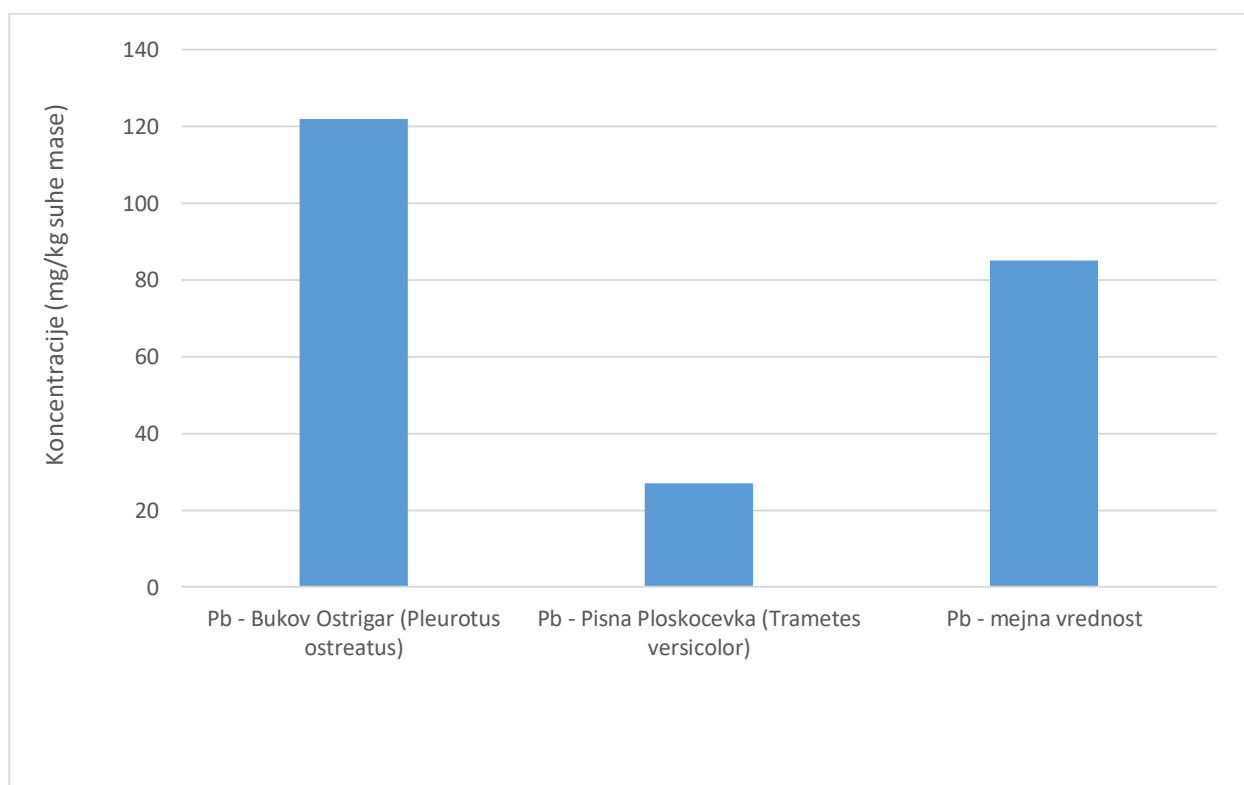
	KONCENTRACIJA SVINCA v SLAMI (mg/kg suhe mase)
Kontrolni vzorec	4440
Čista slama	0.85
Bukov ostrigar (slama)	499
Pisana ploskocevka (slama)	423

Tabela 12 Koncentracija akumuliranega svinca v glivah

	AKUMULIRANA KONCENTRACIJA SVINCA v GLIVAH (mg/kg suhe mase)
Mejna vrednost	85
Bukov ostrigar	122
Pisana ploskocevka	27



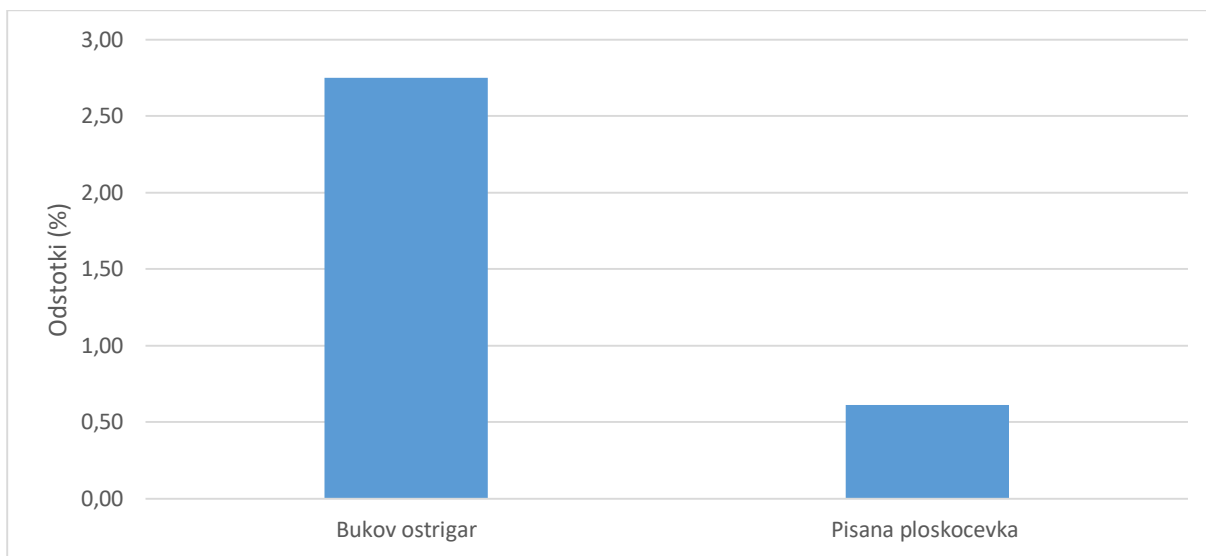
Graf 13 Vsebnost svinca pri dodajanju znane koncentracije svinca



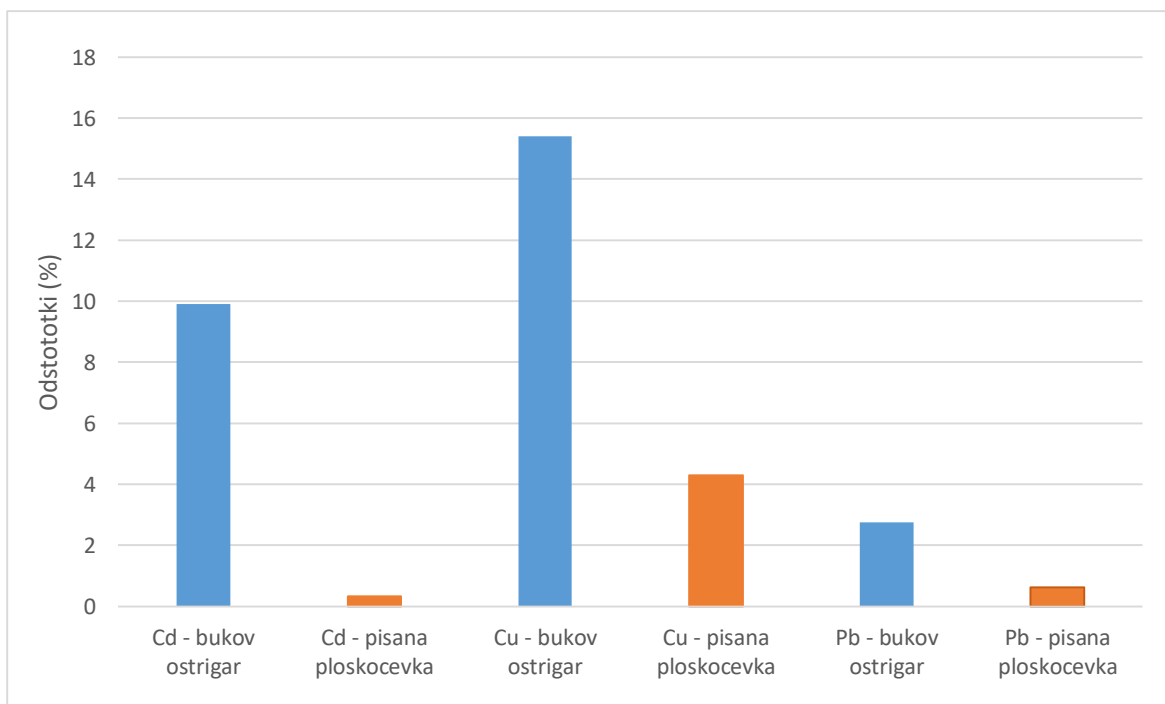
Graf 14 Koncentracija absorbiranega svinca v glivah

Tabela 13 Izračunan procentualni del akumuliranega svinca v glivah

	AKUMULIRANA KONCENTRACIJA SVINCA v GLIVAH (%)
Bukov ostrigar	2.75
Pisana ploskocevka	0.61



Graf 15 Izračunan procentualni del akumuliranega bakra v glivah in njuna primerjava



Graf 16 Primerjava gliv in njihovih akumulacij kadmija, bakra in svinca v odstotkih

5 RAZPRAVA

V raziskovalni nalogi smo s pomočjo dveh gliv: bukovega ostrigarja (*Pleurotus ostreatus*) in pisane ploskocevke (*Trametes versicolor*) preučevali njuno uspešnost pri odstranjevanju težkih kovin iz sedimenta, nabranega na treh mest na obrežju Drave (Priloga 1 in Priloga 2). Zanimalo nas je ali sta primerna mikoremedianta. Hkrati nas je zanimalo, v kolikšni količinah se v mulju, spuščnem iz Dravskih elektrarn, pojavljajo težke kovine, kot so kadmij, baker in svinec, in ali prekoračijo mejne vrednosti.

V sedimentu, ki je bil odvzet na lokaciji št. 1 je bilo izmerjeno 10 mg/kg suhe mase kadmija, 15.5 mg/kg suhe mase bakra in 173.3 mg/kg suhe mase svinca. Sedimentu, nabranem na lokaciji št. 2 smo izmerili 6.4 mg/kg suhe mase kadmija, 19.1 mg/kg suhe mase bakra in 219.7 mg/kg suhe mase svinca. Na lokaciji št. 3 smo nabrali sediment, ki je imel 4.6 mg/kg suhe mase kadmija, 21.2 bakra in 191.2 svinca. Največ kadmija je vseboval sediment, nabran na lokaciji št. 1, njegova vsebnost je bila kar dvakrat večja od vsebnosti kadmija nabranega na lokaciji št. 3. Največ bakra je vseboval sediment nabran na lokaciji št. 3, najmanj pa sediment nabran na lokaciji št. 1. Največ svinca, je bilo izmerjenega v sedimentu, najdenem na lokaciji št.2, najmanj pa na lokaciji št. 1. Vrednost kadmija in svinca, izmerjenega v sedimentih najdenih na vseh treh lokacijah, presega njune mejen vrednosti (1 mg/kg suhe mase pri kadmiju in 85 mg/kg suhe mase pri svinu). Izmerjene vrednosti bakra, pa so na vseh treh lokacijah pod mejno vrednostjo, ki je 60 mg/kg suhe mase.

Po 21 dneh preraščanja substrata z micelijem, smo izmerili vrednosti težkih kovin v substratu. Pri mikoremediaciji z micelijem bukovega ostrigarja je bila začetna vrednost koncentracije težkih kovin 9.88 mg/kg suhe mase kadmija, 19.5 mg/kg suhe mase bakra in 221 mg/kg suhe mase svinca. Po 21 dnevi mikoremediacije je bila koncentracija v substratu 7.1 mg/kg suhe mase kadmija, 19.3 mg/kg suhe mase bakra in 203 mg/kg suhe mase svinca. Izračunana akumulirana koncentracija kadmija je bila 2.8 mg/kg suhe mase, koncentracija bakra je bila 0.2 mg/kg suhe mase, koncentracija akumuliranega svinca pa je bila 8.0 mg/kg suhe mase. V procentih so količine akumuliranih težkih kovin sledeče, 28.1% je akumuliranega kadmija, 1.02% je akumuliranega bakra, 3.8% pa je akumuliranega svinca. Pri mikoremediaciji z pisano ploskocevko je pri kadmiju in bakru, končna količina težkih kovin presegala začetno, kar pripisujemo napakam pri merjenju koncentracij v laboratoriju. Začetna količina svinca je bila 229 mg/kg suhe mase, po opravljeni mikoremediaciji pa je bila vrednost svinca v sedimentu

216.2 mg/kg suhe mase. Izračunana akumulirana koncentracija svinca je 12.7 mg/kg suhe mase. V procentih je količina akumuliranega svinca 5.6%.

V drugem delu raziskovalne naloge, smo micelije zalivali z znano koncentracijo težkih kovin. V prvem okolju smo jih zalivali z znano koncentracijo kadmija, v drugem okolju smo jih zalivali z znano koncentracijo bakra, v tretjem okolju pa smo jih zalivali z znano koncentracijo svinca. V prvem okolju je slama v kontrolnem vzorcu vsebovala 6417 mg/kg suhe mase kadmija, ki se je ujemala z koncentracijo kadmija, s katero smo zalivali micelije. Bukov ostrigar je iz tega akumuliral 636 mg/kg suhe mase kadmija, pisana ploskocevka pa je akumulirala 21 mg/kg suhe mase kadmija. V odstotkih je bukov ostrigar akumuliral 9.9% kadmija, ki je bil vpeljan v okolje, pisana ploskocevka pa je akumulirala 0.33% kadmija. V drugem okolju je slama v kontrolnem vzorcu vsebovala 2380 mg/kg suhe mase bakra, kar se je ujemalo z koncentracijo, s katero smo okolje in micelije zalivali. Micelij bukovega ostrigarja, je iz tega okolja akumuliral 366 mg/kg suhe mase bakra, micelij pisane ploskocevke pa 102 mg/kg suhe mase bakra. V odstotkih je micelij bukovega ostrigarja akumuliral 15.4% bakra iz okolja, miceliji pisane ploskocevke pa je akumuliral 4.29% bakra. V tretjem okolju je slama v kontrolnem vzorcu vsebovala 4440 mg/kg suhe mase svinca, kar se je ujemalo z koncentracijo s katero smo zalivali okolja in micelije. Micelij bukovega ostrigarja je akumuliral 122 mg/kg suhe mase svinca, medtem ko je pisana ploskocevka akumulirala 27 mg/kg suhe mase svinca. V odstotkih je bukov ostrigar akumuliral 2.75% svinca iz okolja, micelij pisane ploskocevke pa je akumuliral 0.61% svinca iz okolja.

Našo prvo hipotezo, kjer smo predpostavili, da bodo koncentracije težkih kovi (kadmija, bakra in svinca) v substratih nabranih na odseku Malečnik – Zrkovcih obrežja reke Drave presegale njihove dovoljene mejene vrednosti, lahko delno potrdimo. Koncentracije kadmija in svinca presegata dovoljene mejne vrednosti (1 mg/kg suhe mase za kadmij in 85 mg/kg suhe mase za svinec) v sedimentih nabranih na vseh treh lokacijah. Koncentracije bakra v sedimentih pa ne presegajo dovoljene mejne vrednosti (60 mg/kg suhe mase za baker). Največja dosežena količina bakra v sedimentu je bila 21.2 mg/kg suhe mase. To se ni skladalo z našimi predvidevanjem, saj je na podlagi raziskav (Shanbehzadeh, et al., 2014) koncentracija bakra v rečnih sedimentih večja, po navadi tik pod mejno vrednostjo, kar pa v našem primeru ni bilo izmerjeno. Povečane koncentracije kadmija in svinca lahko povežemo z podatkom, da so Dravske elektrarne pred nekaj meseci spustile svoj mulj, tase pa je naložil na tisto območje.

Našo drugo hipotezo, kjer smo predvidevali, da bo koncentracija izbranih težkih kovin v odvzetih vzorcih substrata, po 21 dneh preraščanja z micelijem bukovega ostrigarja in pisane ploskocevke nižja od začetne koncentracije v substratu, lahko delno potrdimo. V vseh okoljih se je koncentracija kadmija, bakra in svinca po priraščanju znižala, razen pri prvem delu raziskovalne naloge, v okolju s pisano ploskocevko, kjer je končna koncentracija kadmija in bakra bila večja od začetne. To se ni skladalo z našimi pričakovanji, saj glede na raziskave, ki so bile opravljene na tem področju (Prakash, 2017), so glive dobri in uspešni mikoremedianti. V drugem delu raziskovalne naloge, kjer smo okolja zalivali z znanimi koncentracijami težkih kovin, so vsi miceliji bukovega ostrigarja in pisane ploskocevke akumulirali kadmij, baker in svinec. Izmerjen podatek, v katerem je razvidno, da pisana ploskocevka ni akumulirala kadmija ali bakra, ne moremo razložiti drugače, kot da gre za napako. Pisana ploskocevka namreč akumulira velike koncentracije kadmija, ena izmed raziskav je pokazala, da je v roku dveh ur pisana ploskocevka bioakumulirala vse kadmijeve ione (Singh, 2006).

Našo tretjo hipotezo, kjer smo predvidevali, da bo micelij bukovega ostrigarja akumuliral večjo količino kadmija, bakra in svinca, kot micelij pisane ploskocevke, lahko delno potrdimo. V prvem delu raziskovalne naloge, težko primerjamo rezultate, saj nimamo podatkov o absorpciji kadmija in bakra pri pisani ploskocevki. Primerjamo lahko akumulirani koncentraciji svinca. Micelij bukovega ostrigarja je akumuliral 8.0 mg/kg suhe mase svinca, oziroma 3.8% svinca. Micelij pisane ploskocevke je akumuliral 12.7 mg/kg suhe mase svinca, oziroma 5.6% le tega. Iz tega je razvidno, da je pisana ploskocevka akumulirala večjo koncentracijo svinca. V drugem delu naloge, pa je naša hipoteza pravilna. V drugem delu je micelij bukovega ostrigarja akumuliral 636 mg/kg suhe mase kadmija, oziroma 9.9%. Pisana ploskocevka je akumulirala 21 mg/kg suhe mase kadmija, oz. 0.33%. V drugem okolju je bukov ostrigar akumuliral 366 mg/kg suhe mase bakra, oz. 15.4%. Pisana ploskocevka pa 102 mg/kg suhe mase, oz. 4.29% bakra. V tretjem okolju je bukov ostrigar je akumuliral 122 mg/kg suhe mase svinca, oziroma 2.75%, Pisana ploskocevka je akumulirala 27 mg/kg suhe mase, oziroma 0.61% svinca. To je bilo v skladu z našimi pričakovani, saj, bukov ostrigar bolje uspeva pri temperaturi do 18°C, katero temperaturo smo pri rasti tudi vzdrževali. Pisana ploskocevka medtem najbolj uspeva pri temperaturi do 23°C (Cotter, 2014). Količino akumuliranih težkih kovin lahko z temperaturo povežemo, saj bele trohnobe, med katere spada tudi bukov ostrigar in pisana ploskocevka, akumulirajo onesnaževalce medtem ko rastejo. Hitreje ko rastejo, večjo količino težkih kovin

akumulirajo (Singh, 2006). Neskladnost rezultatov med prvim in drugim delom, lahko pojasnimo z napako narejeno med meritvami.

Na podlagi rezultatov vidimo, da je sediment nabran na obrežju Drave zelo onesnažen in koncentracije kadmija in svinca v njem presegajo mejne vrednosti le teh. Hkrati rezultati kažejo, da je mikoremediacija uspešen in naraven način čiščenja sedimenta.

5.1. Ocena metod in možnih virov napak

Naši dobljeni in izmerjeni rezultati so bili povprečni. Bilo je mnogo napak, in mnogo neujemanj, ki se jih ne da razložiti drugače, ko da so posledica napak med izvajanjem eksperimenta, oziroma pripravo vzorcev za analizo. Eksperimentalno delo bil lahko izboljšali, tako, da bi namesto v steklene kozarce, okolje postavili v škatle, to bi nam dalo možnost boljšega razraščanja in večjo količino vzorcev, ki bi jih nato v laboratoriju analizirali.

Pri prvem delu smo imeli eno kontrolo in dve ponovitvi pri vsaki glivi. Pri drugem delu naloge smo imeli eno kontrolo in po eno okolje glede na vrsto glive. Poskus, bi tako lahko izboljšali z več ponovitvami in z različnimi koncentracijami težkih kovin.

Problem se je pojavil pri analizi gliv, ki so rastle na sedimentu. Ko smo jih pobirali, je v njih ostalo veliko sedimenta, ki ga nismo mogli odstraniti. Tako je v vzorcih ostal sediment, ki je bil nato analiziran, in tako rezultati niso bili točni. Ti rezultati v raziskovalno nalogo niso vključeni, vendar je brez njih oteženo podati točne rezultate.

Do možnih napak je lahko prišlo pri pripravi koncentracij težkih kovin, saj je težko natehtati do mg natančno, in lahko hitro pride do odstopanj, tudi zaradi napak tehnice. Kot rešitev za to je več meritev.

Napake so lahko tudi posledica dela v laboratoriju, in pri pripravi vzorcev za analizo. Pri pripravi vzorcev je lahko prišlo do kontaminacije med prenašanjem in merjenjem vzorcev. V analizo smo lahko dali vzorec, ki je imel preveliko ali premalo koncentracijo. Razlog je lahko tudi v masnem spektrometru, ki se po analizi nekaj vzorcev umaže, in pride do raznih odstopanj. V primeru zelo kontaminiranega vzorca, lahko spektrometer težke kovine prenese v naslednji vzorec. To lahko odpravimo s čiščenjem spektrometra in s čim več ponovitvami analiz.

6 DRUŽBENA ODGOVORNOST

Tema in rezultati naše raziskovalne naloge temeljijo na osnovnih načelih družbene odgovornosti. Celotne raziskovalne naloge, tako nabiranja sedimenta kot eksperimenta, smo se lotili na odgovoren in varen način. Po končanih eksperimentih smo kontaminiran sediment, slamo ter glive odstranili na varen in odgovoren način.

Pri izdelavi raziskovalne naloge smo spoštovali človekov pravice, norme vedenja in pravno državo. Hkrati smo se obnašali etično, in kot že omenjeno, po koncu raziskovalne naloge poskrbeli, da so bili vsi odpadki in biološki material odstranjeni na pravilen način in na pravilno mesto.

Z nalogo smo želeli raziskati in hkrati tudi opozoriti na problematiko težkih kovin v prsti, ter kaj to pomeni za zdravje tako ljudi in živali kot tudi planeta. Z raziskovalno nalogo smo raziskali kolikšno količino težkih kovin gliva lahko absorbira in ali bi se takšnega načina čiščenja okolja lahko posluževali tudi v prihodnosti.

Iskreno upamo, da smo z raziskovalno nalogo in pridobljenimi rezultati javnosti predstavili problematiko težkih kovin v prsti in možnosti, ki jih predstavlja mikoremediacija, kot način čiščenja okolja.

7 ZAKLJUČEK

Cilj naše raziskovalne naloge je bil, raziskati kolikšno količino kadmija, bakra in svinca vsebuje sediment odvzet iz obrežja Drave, če te presegajo mejne vrednosti ter raziskati ali je metoda mikoremediacije ustrezna za čiščenje onesnaženih substratov. Cilj je tudi bil odkriti kolikšno količino kovin lahko akumulirata bukov ostrigar (*Pleurotus ostreatus*) in pisana ploskocevka (*Trametes versicolor*).

Pred delom smo postavili tri hipoteze, katere smo vse delno potrdili.

Prva hipoteza se je nanašala na količino kadmija, bakra in svinca v substratu, ki smo ga nabirali na obrežju Drave. Ugotovili smo, da koncentracije kadmija in svinca v sedimentih presegajo mejno vrednost, medtem ko so koncentracije bakra pod mejno vrednostjo. Zaključimo lahko, da je sediment zelo onesnažen. Druga hipoteza se je nanašala na sposobnost gliv, da lahko znižajo koncentracije težkih kovin. Prišli smo do zaključka, da se po 21 dneh preraščanj, koncentracija kadmija, bakra in svinca v substratu, nabranem na obrežju Drave in okolju, ki smo ga zalivali z znano količino prej naštetih težkih kovin, zmanjša. Tretja hipoteza se je nanašala na sposobnost odstranjevanja težkih kovin iz okolja oziroma substrata glede na vrsto glive. Odkrili smo, da bukov ostrigar akumulira več kadmija, bakra in svinca v okolju z zaznano koncentracijo težkih kovin, kot pisana ploskocevka. Naš zaključek glede na rezultate je, da je mikoremediacija ustrezna in okolju prijazna metoda čiščenja substrata. Zaključimo lahko tudi, da je v primerjavi med bukovim ostrigarjem in pisano ploskocevko, boljši mikoremediant bukov ostrigar. V prihodnosti bi raziskovali možnosti mikoremediacije z drugimi vrstami gliv in v drugih substratih, kot je na primer voda.

Eksperimenti in analize opravljene v tej raziskovalni nalogi, so le majhen del sedaj še ne raziskanega področja, ki počasi prejema vedno več pozornosti. Večina raziskav je narejenih v tujini, mnoge pa še zmeraj potekajo. Onesnaženost naših tal je dandanes zelo aktualna in pomembna tema. Mnoge rastline namreč iz prsi akumulirajo tudi onesnaževalce, med drugim so to tudi težke kovine, ki se nato nalagajo v tkivih rastlin. Te rastline, oziroma organizme živali in ljudje zaužijemo, kar lahko privede do zastrupitev. Naš namen je bil raziskati, ali bi se mikoremediacije lahko v prihodnosti posluževali, kot metodo za čiščenja okolja. Na podlagi rezultatov lahko rečemo, da je mikoremediacija možen in zelo dober način čiščenja okolja.

8 VIRI IN LITERATURA

Bollag, B. & Bollag, J.-M., 2009. *Pollution Issues*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <http://www.pollutionissues.com/Re-Sy/Soil-Pollution.html> [Citirano: 17.01.2019].

Cachada, A., Duarte, A. C. & Rocha-Santos, T., 2019. *Science Direct*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://www.sciencedirect.com/book/9780128498736/soil-pollution#browse-content> [Citirano: 17.01.2019].

Cotter, T., 2014. *Organic Mushroom Farming and Mycoremediation*. Vermont: Chelsea Green Publishing. str. 427 - 438, 450 - 454.

Dashtban, M., Schraft, H. & Qi, W., 2009. *Fungal Bioconversion of Lignocellulosic Residues; Opportunities & Perspectives*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2748470/> [Citirano: 29.01.2019].

Dr. Edward F. Group, 2017. *Toxic Metal: The Health Dangers of Lead*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <http://www.thefrigenews.com/toxic-metal-the-health-dangers-of-lead/> [Citirano: 05.02.2019].

European Copper Institute, 2018. *Copper Alliance*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://copperalliance.eu/benefits-of-copper/copper-and-the-environment/> [Citirano: 14.01.2019].

Godec, G. in drugi, 2015. *Naravoslovje 7*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <http://eucbeniki.sio.si/nar7/1817/index1.html> [Citirano: 18.01.2019].

Google Zemljevidi, 2019. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://www.google.si/maps/@46.5513386,15.6941711,1102a,35y,11.97t/data=!3m1!1e3?hl=sl&authuser=0> [Citirano: 16.01.2019].

Lenntech BV, 2018. *Lenntech*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://www.lenntech.com/periodic/elements/cd.htm> [Citirano: 17.01.2019].

Lenntech BV, 2018. *Lenntech*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://www.lenntech.com/periodic/elements/pb.htm> [Citirano: 17.01.2019].

Lenntech, 2018. *Lenntech*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://www.lenntech.com/periodic/elements/cu.htm> [Citirano: 16.01.2019].

McCoy, P., 2016. *Radical Mycology*. Portland: Chthaeus Press. str. 9 - 10, 40 - 42, 335 - 338.

Mehta, V., 2018. *Types of Environmental Pollution & their Harmful Effects!*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://www.toppr.com/bytes/environmental-pollution/> [Citirano: 17.01.2019].

Mikološka Zveza Slovenije, 2018. *Mikološka Zveza Slovenije*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <http://www.gobe-zveza.si/o-glivah/> [Citirano: 18.01.2019].

PerkinElmer, Inc., 2011. *The 30-Minute Guide to ICP-MS*. Waltham: PerkinElmer.

Prakash, V., 2017. Mycoremediation of Environmental Pollutants. [Elektronski vir]. Dostopno na: https://www.researchgate.net/publication/316408034_Mycoremediation_of_Environmental_Pollutants [Citirano: 14.01.2019].

Raymond, W. A. & Okieimen, F. E., 2011. *Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <http://dx.doi.org/10.5402/2011/402647> [Citirano: 14.01.2019].

Rhodes, C. J., 2014. Mycoremediation (bioremediation with fungi) – growing mushrooms to. *Chemical Speciation and Bioavailability*. [Elektronski vir]. Dostopno na: https://www.researchgate.net/publication/264428786_Mycoremediation_bioremediation_with_fungi_-_growing_mushrooms_to_clean_the_earth [Citirano: 14.01.2019].

Shanbehzadeh, S., Dastjerdi, M. V., Hassanzadeh, A. & Kiyanizadeh, T., 2014. *Heavy Metals in Water and Sediment: A Case Study of Tembi River*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3927859/> [Citirano: 01.02.2019].

Singh, H., 2006. *Mycoremediation*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. str. 1 - 10, 16 - 20, 484 - 509.

Singh, R., Gautam, N., Mishra, A. & Raji, G., 2011. *NCBI*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3113373/> [Citirano: 26.01.2019].

Sotenšek, U., 2017. *Glive in mikromediacija*. Velenje. Diplomsko delo.

Stamets, P., 2005. *Mycelium Running*. New York: Random House, Inc. str. 2 - 8, 15 - 18, 30 - 34, 48, 50 - 53, 55, 86 - 113.

Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K. & Sutton, D. J., 2014. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4144270/> [Citirano: 15.01.2019].

Uradni list RS, št. 68/96 in 41/04 – ZVO-11996. *Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <http://pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=URED114> [Citirano: 05.02.2019].

Wang, Y. P. in drugi, 2006. *The influence of soil heavy metals pollution on soil microbial biomass*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <http://www.dzumenvis.nic.in/Microbes%20and%20Metals%20Interaction/pdf/The%20influence%20of%20soil%20heavy%20metals%20pollution.pdf> [Citirano: 17.01.2019].

Wikipedia, 2009. *Copper*. [Elektronski vir]. Dostopno na: <https://en.wikipedia.org/wiki/Copper#/media/File:NatCopper.jpg> [Citirano: 05.02.2019].

9 PRILOGE

9.1. Priloga 1



Slika 24 Mesto odvzetega sedimenta (Google Zemljevidi, 2019)

9.2. Priloga 2



Slika 25 Lokacije odvzetih vzorcev sedimentov (Google Zemljevidi, 2019)