

Univerza v Mariboru
Fakulteta za naravoslovje in matematiko
Oddelek za biologijo

MAGISTRSKO DELO
Ana Urisk Gajšek

Maribor, junij 2020

Univerza v Mariboru
Fakulteta za naravoslovje in matematiko
Oddelek za biologijo

Ana Urisk Gajšek

**Izboljšanje kakovosti onesnaženih tal na degradiranih
območjih Celjske kotline s pomočjo energetske rastline
*Miscanthus x giganteus***

MAGISTRSKO DELO

**Improving soil quality in degraded areas of the Celje basin
using the energy crop *Miscanthus x giganteus***

Mentorica: prof. dr. Jana Ambrožič Dolinšek

Somentorica: prof. dr. Vesna Bukovac

Maribor, junij 2020

Urisk Gajšek, A.: Izboljšanje kakovosti onesnaženih tal na degradiranih območjih Celjske kotline s pomočjo energetske rastline *Miscanthus x giganteus*. Magistrsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za biologijo, 2020

UNIVERZA V MARIBORU
Fakulteta za naravoslovje in matematiko

(ime članice UM)

IZJAVA O AVTORSTVU IN ISTOVETNOSTI TISKANE IN ELEKTRONSKE OBLIKE ZAKLJUČNEGA DELA

Ime in priimek študent-a/-ke: Ana Urisk Gajšek

Študijski program: BIOLOGIJA IN EKOLOGIJA Z NARAVOVARSTVOM

Naslov zaključnega dela: Izboljšanje kakovosti onesnaženih tal na degradiranih območjih Celjske kotline s pomočjo energetske rastline *Miscanthus x giganteus*

Mentor: Jana Ambrožič-Dolinšek

Somentor: Vesna Bukovac

Podpisan-i/-a študent/-ka Ana Urisk Gajšek

- izjavljam, da je zaključno delo rezultat mojega samostojnega dela, ki sem ga izdelal/-a ob pomoči mentor-ja/-ice oz. somentor-ja/-ice;
- izjavljam, da sem pridobil/-a vsa potrebna soglasja za uporabo podatkov in avtorskih del v zaključnem delu in jih v zaključnem delu jasno in ustrezno označil/-a;
- na Univerzo v Mariboru neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravico shranitve avtorskega dela v elektronski obliki, pravico reproduciranja ter pravico ponuditi zaključno delo javnosti na svetovnem spletu preko DKUM; sem seznanjen/-a, da bodo dela deponirana/objavljena v DKUM dostopna široki javnosti pod pogoji licence Creative Commons BY-NC-ND, kar vključuje tudi avtomatizirano indeksiranje preko spleta in obdelavo besedil za potrebe tekstovnega in podatkovnega rudarjenja in ekstrakcije znanja iz vsebin; uporabnikom se dovoli reproduciranje brez predelave avtorskega dela, distribuiranje, dajanje v najem in priobčitev javnosti samega izvirnega avtorskega dela, in sicer pod pogojem, da navedejo avtorja in da ne gre za komercialno uporabo;
- dovoljujem objavo svojih osebnih podatkov, ki so navedeni v zaključnem delu in tej izjavi, skupaj z objavo zaključnega dela;
- izjavljam, da je tiskana oblika zaključnega dela istovetna elektronski obliki zaključnega dela, ki sem jo oddal/-a za objavo v DKUM.

Uveljavljam permissivnejšo obliko licence Creative Commons: _____ (navedite obliko)

Datum in kraj: Maribor, 18.05.2020

Podpis študent-a/-ke:



IZVLEČEK

Dolgoletno onesnaževanje okolja je danes globalni problem. Zaradi človeških dejavnosti kot so industrija, rudarjenje, kmetijstvo, promet ter širjenje urbanih območij so tla močno obremenjena s težkimi kovinami.

Namen naše naloge je povezan z reševanjem težav onesnaženosti Celjske kotline s težkimi kovinami. Ugotoviti smo želeli ali je možna fitoremediacija teh območij z rastlinsko vrsto prstastega trstikovca oziroma miskantusa (*Miscanthus x giganteus*). Leta 2015 smo s to vrsto zasadili tri načrtno izbrana onesnažena območja na vzhodnem delu Celjske kotline. Pred poskusom in po treh mesecih smo analizirali talne vzorce ter jih primerjali med seboj. Analiza talnih vzorcev je pokazala, da so tla v tem delu Celjske kotline močno obremenjena predvsem s cinkom, kadmijem in svincem. V dvotedenskem intervalnem obdobju smo spremljali različne rastne parametre sadik. Rastline so rasle na vseh treh rastiščih ne glede na tip onesnaženosti tal. Čeprav so veliko bolje uspevale v s težkimi kovinami manj onesnaženih tleh, je bila rast rastlin v močno obremenjenih tleh še vedno zelo dobra. Na najbolj onesnaženih tleh se je delež težkih kovin v tleh praviloma zmanjšal. Ugotovili smo, da ima miskantus na tem z onesnaženjem obremenjenem območju velik fitoremediacijski potencial.

Ključne besede: težke kovine, Celjska kotlina, fitoremediacija, *Miscanthus x giganteus*.

ABSTRACT

Today, year-long environmental pollution is a global problem. Human activity such as industry, mining, agriculture, traffic, and expansion of urban areas has resulted in heavy pollution of the soil with heavy metals.

The purpose of our thesis is to resolve the problems related to the heavy metal pollution of the Celje Basin. We were looking to examine the possibilities of phytoremediation of these areas with the plant species *Miscanthus x giganteus*. In 2015, we planted this species in three deliberately selected polluted areas in the eastern part of the Celje Basin. We analysed the soil samples before the experiment and after three months, and compared the results. The analysis of the soil samples showed that the soil in this part of the Celje Basin is heavily polluted especially with zinc, cadmium, and lead. We monitored the various growth parameters of the seedlings across two-week intervals. The plants grew in all three planting sites, regardless of the type of soil pollution. Although they prospered better in soil with a lowed degree of heavy metal pollution, plant growth in heavily polluted soil was still very solid. In the areas with the highest degree of soil pollution, the share of heavy metal uptake by the plants was the highest. We found that the *Miscanthus* has great phytoremediation potential in this polluted area.

Keywords: heavy metals, Celje basin, phytoremediation, *Miscanthus x giganteus*.

KAZALO VSEBINE

1. UVOD.....	1
1.1. Onesnaženje tal s težkimi kovinami	2
1.2. Onesnaženje s težkimi kovinami v Celjski kotlini.....	5
1.3. Fitoremediacija.....	6
1.4. Opis vrste <i>Miscanthus x giganteus</i>	9
1.5. Pregled raziskav fitoremediacij z miskantusom	11
1.5.1. Privzem težkih kovin.....	11
1.5.2. Vpliv značilnosti tal	12
2. NAMEN	13
2.1. Namen in cilji.....	13
2.2. Delovne hipoteze.....	13
3. MATERIALI IN METODE	15
3.1. Izvedba poljskega poskusa	15
3.2. Rastlinski material v poskusu	16
3.3. Analiza talnih vzorcev	17
3.3.1. Potenciometrično določanje potencialne kislosti tal	19
3.3.2. Volumetrična določitev vsebnosti organskega ogljika v tleh.....	19
3.3.3. Določanje vsebnosti gline v talnem vzorcu	19
3.3.4. Določanje izmenljivega fosforja in kalija v talnih vzorcih	20
3.3.5. Vsebnost karbonatov v tleh	21
3.3.6. Tekstura tal.....	22
3.3.7. Težke kovine, skupni dušik, magnezij, bor in kalcij ter vsebnost arzena v tleh.....	23
3.3.8. Statistična analiza	23
4. REZULTATI	24
4.1. Rezultati laboratorijskih analiz talnih vzorcev.....	24
4.1.1. Določanje potencialne kislosti tal	24
4.1.2. Določanje vlage v talnih vzorcih	24
4.1.3. Odstotek organskega ogljika v tleh	25

Urisk Gajšek, A.: Izboljšanje kakovosti onesnaženih tal na degradiranih območjih Celjske kotline s pomočjo energetske rastline *Miscanthus x giganteus*. Magistrsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za biologijo, 2020

4.1.5. Delež karbonatov v talnih vzorcih	27
4.1.6. Določanje teksture tal s sedimentacijsko metodo.....	28
4.1.7. Vsebnost mineralnega dušika, magnezija, bora in kalcija v talnih vzorcih.....	30
4.1.8. Težke kovine v talnih vzorcih.....	31
4.1.9. Rastni parametri po posameznih lokacijah	33
5. RAZPRAVA	40
6. SKLEPI.....	43
7. ZAHVALA.....	44
8. REFERNCE.....	45

KAZALO SLIK

Slika 1: Fitoremediacijske metode za čiščenje tal (prirejeno po Razzaq, 2017).	7
Slika 2: Karta vzhodnega dela Celjske kotline z vrisanimi lokacijami poskusov (številke 1, 2 in 3) ter obratoma Cinkarne Celje ter Železarne Štore	16
Slika 3: Shema poljskega vrstnega poskusa	17
Slika 4: Založenost tal s fosforjem in kalijem v talnih vzorcih po lokacijah in času meritev	26
Slika 5: Delež karbonatov v talnih vzorcih po lokacijah	27
Slika 6: Teksturni trikotnik ameriške teksturne klasifikacije (vir: wikipedia)	28
Slika 7: Teksture talnih vzorcev na treh lokacijah (od zgoraj navzdol so prikazane lokacije deponija Vrhe, Bukovžlak in Kompole). Prikazan je delež posamezne strukture (GP - grobi pesek, G - glina, FM - fini melj, FP - fini pesek in GM - grobi melj) glede na celoten talni vzorec iz posamezne lokacije.	29
Slika 8: Primerjava razvoja novih poganjkov miskantusa posajenega na različnih lokacijah. Prikazane so povprečne vrednosti števila poganjkov (\pm SD) izmerjene v dvotedenskih intervalih v času od junija do septembra 2015. Med seboj smo primerjali rastne parametre zbrane istočasno znotraj posameznega vzorčenja. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (ANOVA, Tukey HSD, $P \leq 0,05$; $N \geq 6$).	34
Slika 9: Primerjava obsegov šopov miskantusa posajenega na različnih lokacijah. Prikazane so povprečne vrednosti obsega šopov (\pm SD) izmerjene v dvotedenskih intervalih v času od junija do septembra 2015. Med seboj smo primerjali rastne parametre zbrane istočasno znotraj posameznega vzorčenja. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (ANOVA, Tukey HSD, $P \leq 0,05$; $N \geq 6$).	35
Slika 10: Primerjava treh najvišjih listov v šopu miskantusa (višina) posajenega na različnih lokacijah. Prikazane so povprečne vrednosti treh najvišjih listov (\pm SD) izmerjene v dvotedenskih intervalih v času od junija do septembra 2015. Med seboj smo primerjali rastne parametre zbrane istočasno znotraj posameznega vzorčenja. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (ANOVA, Tukey HSD, $P \leq 0,05$; $N \geq 6$).	36
Slika 11: Primerjava števila listov treh najvišjih poganjkov v šopu miskantusa (število listov) posajenega na različnih lokacijah. Prikazane so povprečne vrednosti števila listov treh najvišjih poganjkov v šopu (\pm SD) izmerjene v dvotedenskih intervalih v času od junija do septembra 2015. Med seboj smo primerjali rastne parametre zbrane istočasno znotraj posameznega vzorčenja. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (ANOVA, Tukey HSD, $P \leq 0,05$; $N \geq 6$).	37
Slika 12: Primerjava debeline stebel treh najvišjih poganjkov v šopu miskantusa (debelina) posajenega na različnih lokacijah. Prikazane so povprečne vrednosti debeline treh najvišjih poganjkov v šopu (\pm SD) izmerjene v dvotedenskih intervalih v času od junija do septembra 2015. Med seboj smo primerjali rastne parametre zbrane istočasno	

Urisk Gajšek, A.: Izboljšanje kakovosti onesnaženih tal na degradiranih območjih Celjske kotline s pomočjo energetske rastline *Miscanthus x giganteus*. Magistrsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za biologijo, 2020

znotraj posameznega vzorčenja. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (ANOVA, Tukey HSD, $P \leq 0,05$; $N \geq 6$).....38

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Zračna oddaljenost izbranih lokacij poskusa od vira onesnaženja	15
Preglednica 2: Uporabljene metode za določanje posameznih parametrov v talnih vzorcih	18
Preglednica 3: Vrsta talnih delcev, njihova velikost in čas usedanja	22
Preglednica 4: Rezultati meritev pH tal	24
Preglednica 5: Rezultati meritev vlage v talnih vzorcih	25
Preglednica 6: Meritve vsebnosti organskega ogljika v talnih vzorcih.....	25
Preglednica 7: Založenost tal s kalijem in fosforjem ter meje razredov (Leskošek, 1993).....	27
Preglednica 8: Vsebnost dušika, magnezija, bora in kalcija v talnih vzorcih ter mejni razredi	30
Preglednica 9: Mejne, opozorilne in kritične vrednosti za težke kovine v tleh.....	31
Preglednica 10: Prisotnost težkih kovin v talnih vzorcih.....	32

1. UVOD

Onesnaženje tal s težkimi kovinami je danes globalni problem, ki ne vpliva samo na zdravje ljudi, pač pa tudi na zdravje drugih organizmov. Med težkimi kovinami se v tleh najpogosteje pojavljajo svinec (Pb), kadmij (Cd), baker (Cu), živo srebro (Hg), nikelj (Ni), aluminij (Al), selen (Se), cink (Zn), krom (Cr) in arzen (As). Vse lahko značilno toksično vplivajo na organizme. V tleh so lahko prisotne v sledovih ali pa vse do 100.000 mg/kg. Na nekaterih območjih naravno prisotne, za večino območij, onesnaženih s težkimi kovinami pa je odgovoren človek. Do kontaminacije tal s težkimi kovinami pride zaradi različnih procesov kot so prekomerno izkoriščanje naravnih virov, rudarjenje, kovinarska industrija, promet, kmetijstvo, namakanje rastlin, termo elektrarne, odlagališča odpadkov itd. (Jha in sod., 2017).

Vzhodni del Celjske kotline je bil desetletja pod vplivom dveh velikih polutantov. Železarna Štore je izpuščala v okolje *siderofilne elemente* (po Goldschmidtovem kemičnem razvrščanju elementov so siderofilni elementi Au, C, Co, Fe, Ge, Ir, Mo, Ni, Os, P, Pd, Pt, Re, Rh, Ru, Sn, zanje je značilna močna afiniteta do železa, pri čemer se tvorijo kovinske vezi; zaradi slednjega so dobro topni v staljenem železu), kot so železo, krom, mangan, nikelj in kobalt, obrati Cinkarne Celje pa so bili močan vir cinka, kadmija, svinca in arzena ter v zadnjih 30 letih tudi titana (Žibret in Šajn, 2006). Ti elementi v ekosistemu povzročijo negativne vplive na bioto, kar lahko ima tudi toksičen učinek na človekov metabolizem, saj se bioakumulirajo in biomagnificirajo znotraj prehranjevalnih verig.

Osnovna usmeritev politike varstva okolja je zagotavljanje trajnostnega razvoja, ki omogoča preživetje tudi bodočim generacijam in poleg skrbi za preprečevanje in zmanjševanje onesnaževanja, na viru poudarja tudi manjšo in bolj smotno rabo naravnih virov ter ohranjanje biotske raznovrstnosti (NPVO, 1999). Eden izmed ciljev v programu je tudi okolju varno izboljšanje kakovosti tal (bivalnega okolja). Ta cilj bi lahko dosegli tudi z gojenjem energetske rastline prstastega trstikovca oziroma miskantusa (*Miscanthus x giganteus*).

Bioenergetsko rastlino prstastega trstikovca lahko uporabimo za fitoremediacijo onesnaženih tal, pri čemer rastlina proizvede biomaso, ki se uporabi za proizvodnjo

bioenergije (bioplina in biogoriva), kar je cenejša, varnejša, trajnostna in obnovljiva energija v primerjavi s fosilnimi gorivi. Nasadi miskantusa imajo tudi nekaj drugih prednosti kot sta npr. kontrola erozije tal in vzpostavitev novih habitatov za prosto živeče živali.

1.1. Onesnaženje tal s težkimi kovinami

Onesnaževanje okolja je neposredno ali posredno vnašanje snovi ali energije v zrak, vodo ali tla ali povzročanje odpadkov in je posledica človekove dejavnosti, ki lahko škoduje okolju ali človekovemu zdravju ali posega v lastnikovo pravico tako, da poškoduje ali uniči predmet lastninske pravice ali posega v njeno uživanje ali v pravico do rabe okolja (Ur. l. RS, št. 41/04). Največji problem kemikalij v okolju je, da zlasti tal ne moremo več očistiti. Naravi ne moremo več vrniti prvotne podobe tudi več desetletij potem, ko z onesnaževanjem prenehamo (Drobne in Martinčič, 1997).

Tla so stičišče litosfere, hidrosfere in atmosfere. Omogočajo rasti in razmnoževanje rastlin ter živali (Leštan in sod. 1997). So naravni vir, potreben za pridelavo hrane, industrijskih surovin in pridobivanje energetskih virov, pa tudi naravna vrednota, ki jo varujemo kot naravno dediščino. Kot naravni vir, naravna vrednota in kot nosilec prostora, so za obstoj in razvoj človeštva nenadomestljiva. Ohranitev naravnega vira tal pred fizičnim uničenjem in onesnaževanjem ter ohranitev ravnovesja med tlemi in ostalimi deli ekosistema je danes ena pomembnih aktivnosti v slovenskem prostoru. Gospodarjenje s tlemi mora zagotoviti ohranjanje naravnih značilnosti tal in omogočiti ustrezno raven življenja človeka (NPVO, 1999).

Degradacija tal je eden izmed okoljskih problemov, ki so že v preteklosti vplivali na propad družb in ena izmed težav, s katero se danes sooča človeštvo. Preteklo stoletje sta močno zaznamovali industrializacija in modernizacija kmetijstva, ki sta poleg boljšega življenjskega standarda prinesli še negativne posledice okolju, tudi tlom. Po nekaterih ocenah naj bi bilo na svetu degradiranih kar 40 % obdelovalnih površin (Houben, 2013). V Evropi je identificiranih 342.000 onesnaženih območij. Ocenjujejo, da naj bi poleg teh bilo še 2,5 milijona potencialno onesnaženih območij, hkrati pa pričakujejo, da se bo število le-teh do leta 2025 povečalo za kar 50 % (Werle in sod., 2016 po Werle, 2014).

Kovine so naravno prisotne v tleh, geološke in antropogene dejavnosti pa njihovo vsebnost v okolju povečujejo do vrednosti, ki so škodljive rastlinam in živalim. Nekatere od teh dejavnosti so rudarjenje, taljenje kovin, gorenje fosilnih goriv, promet, uporaba gnojil in pesticidov, proizvodnja baterij, kovinska industrija, odlagališča blata iz čistilnih naprav, komunalna odlagališča itd. (Chibuike in Obiora, 2014). Nekatere kovine so bioelementi (makro- in mikroelementi), ki so v normalnih deležih nujno potrebne za življenje, kadar pa je njihova vsebnost previsoka, lahko imajo negativen vpliv na organizme v okolju. Določene kovine močno vplivajo na zdravje ljudi, saj se kopičijo v prehranjevalnih verigah (Masarovičova in Kralova, 2012). Če je specifična gostota kovine večja od 5 g cm^{-3} , npr. Cd, Hg, Pb, Cr itd. zanje (pogosto) uporabljamo izraz težke kovine (Di Toppi in Gabrielli, 1999), prav tako za elementa As in Al, ki imata sicer specifično gostoto nižjo od 5 g/cm^3 uporabljamo izraz težki kovini, ker imata enak toksičen učinek na žive organizme kot ostale težke kovine (Sharma in Dietz, 2006).

Vnos težkih kovin v okolje je trajen in nepovraten poseg v okolje. Težke kovine se v tleh ne razgrajujejo, ampak ostajajo. Absorpcija težkih kovin v nadzemne dele rastlin, spiranje in erozija prispevajo k zmanjševanju vsebnosti težkih kovin v tleh. Po nekaterih ocenah je čas, v katerem se delež kovin v tleh zmanjša za polovico za Zn do 510 let, za Cd 13 do 1.100 let, za Cu 310 do 1.500 let in za Pb od 740 do 5.900 let (Kabata-Pendias in Pendias, 2001).

Eden izmed najpomembnejših dejavnikov, ki vpliva na topnost in s tem dostopnost anorganskih nevarnih snovi (kovin), je kislost tal, ki jo izražamo s pH vrednostjo (Alloway, 1990). Slednja vpliva na adsorpcijske lastnosti tal kot tudi na kemijsko obliko kovin v tleh. Kovine v kislem mediju so lažje dostopne kakor v bazičnem (Evans, 1989), zaradi česar se poveča mobilnost in dostopnost kovin rastlinam. Predvsem cink, kadmij, baker in v manjši meri tudi svinec so veliko bolj topni v pH območju med 4 in 5 kakor v pH območju med 5 in 7. pH vpliva tako na adsorpcijo kovin kot na *specifično adsorpcijo* (je proces vezave ionov težkih kovin z nabitimi površinami glinenih mineralov, s humosom in predvsem s hidriranimi kovinskimi oksidi, pri čemer se tvori kovalentna vez; težke kovine se na izmenjalna mesta vežejo specifično v naslednjem prednostnem zaporedju $\text{Cd} < \text{Zn} < \text{Cu} < \text{Pb}$; odvisna je tudi od pH) oziroma vezavo

kovinskih kationov v netopne oborine oziroma komplekse z organo-mineralnim delom trdne faze tal (Zupan in sod., 2006 po Alloway, 1990 in Evans, 1989).

Kako onesnažena so tla, interpretiramo s pomočjo lestvic, ki jih določa Uradni list RS, št. 68/1996. Izmerjene vrednosti anorganski (med drugim tudi težkih kovin) in organskih onesnažil v tleh uvrstimo s pomočjo lestvice za določen tip onesnažila v eno od spodaj navedenih kategorij.

Mejna imisijska vrednost (v nadaljnjem besedilu: mejna vrednost) je gostota posamezne nevarne snovi v tleh, ki pomeni takšno obremenitev tal, da se zagotavljajo življenjske razmere za rastline in živali, in pri kateri se ne poslabšuje kakovost podtalnice ter rodovitnost tal. Pri tej vrednosti so učinki ali vplivi na zdravje človeka ali okolje še sprejemljivi.

Opozorilna imisijska vrednost (v nadaljnjem besedilu: opozorilna vrednost) je gostota posamezne nevarne snovi v tleh, ki pomeni pri določenih vrstah rabe tal verjetnost škodljivih učinkov ali vplivov na zdravje človeka ali okolje.

Kritična imisijska vrednost (v nadaljnjem besedilu: kritična vrednost) je gostota posamezne nevarne snovi v tleh, pri kateri zaradi škodljivih učinkov ali vplivov na človeka in okolje onesnažena tla niso primerna za pridelavo rastlin, namenjenih prehrani ljudi ali živali ter za zadrževanje ali filtriranje vode.

Nevarne snovi v okolju vplivajo na rast in razvoj rastlin. Rastline, rastoče na tleh onesnaženimi s težkimi kovinami so manjše, kar je posledica fizioloških in biokemičnih procesov v rastlini (Chibuike in Obiora, 2014). Težke kovine v rastlinah povzročajo oksidativni stres, ki pomeni povišane koncentracije reaktivnih kisikovih spojin oz. RKS (s tujko ROS) (kisikovi ioni, prosti radikali in peroksidi) in posledično se lahko poveša tudi vsebnosti antioksidantov (vitamin C, E, glutatoin...) (Romih in sod., 2012). Zmanjšana rast posledično pomeni manjši pridelek, kar na koncu vodi v pomanjkanje hrane (Chibuike in Obiora, 2014). Težke kovine v tleh zmanjšujejo biodiverzitetu (Dahlin in sod., 1997).

1.2. Onesnaženje s težkimi kovinami v Celjski kotlini

Celjska kotlina se razteza v smeri vzhod-zahod. Z zahoda priteče reka Savinja, ki prav v Celju naredi oster ovinek proti jugu, v Posavsko hribovje, ki predstavljajo ostro geografsko mejo. Savinja ima v Celju dva pritoka, z vzhoda reko Voglajno in severa reko Hudinjo.

V neposredni bližini sotočja omenjenih treh rek se nahaja Cinkarna Celje, ki jo je leta 1873 ustanovila Avstro-ogrška monarhija. Od ustanovitve pa vse do leta 1973 je bila Cinkarna Celje obrat topilnice cinka. Leta 1973 so tovarno preselili na novo lokacijo in odprli obrat Titanov dioksid. V drugi polovici 20. stoletja se je podjetje iz metalurške dejavnosti preusmerilo v kemično-predelovalno industrijo ter postalo največje slovensko podjetje v tej panogi. Obrat obsega 46,4 ha (10,3 ha zavzemajo stavbeni deli, 12,6 ha betonirana območja okoli stavb) ter odlagališči Bukovžlak (36 ha) in Za Travnik (50,6 ha). V stoletnem delovanju so po ocenah iz statističnih letopisov RS Slovenije pridobili 580 000 ton surovega rafineriranega cinka. Zaradi postopka predelave ocenjujejo, da je bilo vsaj 3 % celotne produkcije Zn emitiranega v okolje v obliki prašnih delcev. Posledica delovanja Cinkarne se odraža med drugim tudi na tleh, ki na vzorčni točki blizu mesta onesnaženja vsebujejo 0,86 % Zn, 60 mg/kg Cd. Šajn in Žibret sta v raziskavi leta 2006 ugotovila, da vsebnost cinka in kadmija v tleh upadeta od vira onesnaženja po hipotetični potenčni krivulji. Ugotovila sta, da vsebnost tako kadmija kot cinka v tleh počasneje upada v smeri zahod-vzhod, kakor sever-jug, sklepada, da zaradi vpliva konstantnih vetrov (Šajn in Žibret, 2006).

Železarstvo se je na štajerskem začelo razvijati že pred 300 leti, o čemer pričajo najdbe starih fužin in pripadajočih objektov. Izgradnja Južne železnice, ki je povezala Dunaj s Trstom, je bila velika prelomnica tistih časov, tudi za Štore in razvoj železarstva. Prvi vlak je iz Gradca do Celja zapeljal leta 1946 (Ivanuša, 2012). Začetki železarstva v Štorah segajo v leto 1850, ko je takratni lastnik kupil vso premogovno posest v Štorah in hkrati pridobil koncesijo za ustanovitev pudlarne in valjarne. Tik pred prvo svetovno vojno se je železarna modernizirala z novo Siemens-Martinovo pečjo ter uporabo električne energije za pogon strojev. Pred drugo svetovno vojno je železarna Štore postala eno izmed treh železarskih središč v Sloveniji in hkrati največja livarna v Sloveniji. V 160-letni zgodovini se je železarna razvila v sodobno jeklarsko podjetje

(Železarski muzej Štore, 2014). Železarna v Štorah okolico neposredno močno obremenjuje s kovinami, izmerjene so bile izjemno visoke vsebnosti Zn, Cd in Pb. Visoke vsebnosti težkih kovin so bile prav tako ugotovljene v nekaterih organizmih, kar pomeni, da kovine vstopajo v presnovni proces organizmov in so potencialno nevarne za naslednje člene prehranjevalne verige (Drobne in Martinčič, 1997).

1.3. Fitoremediacija

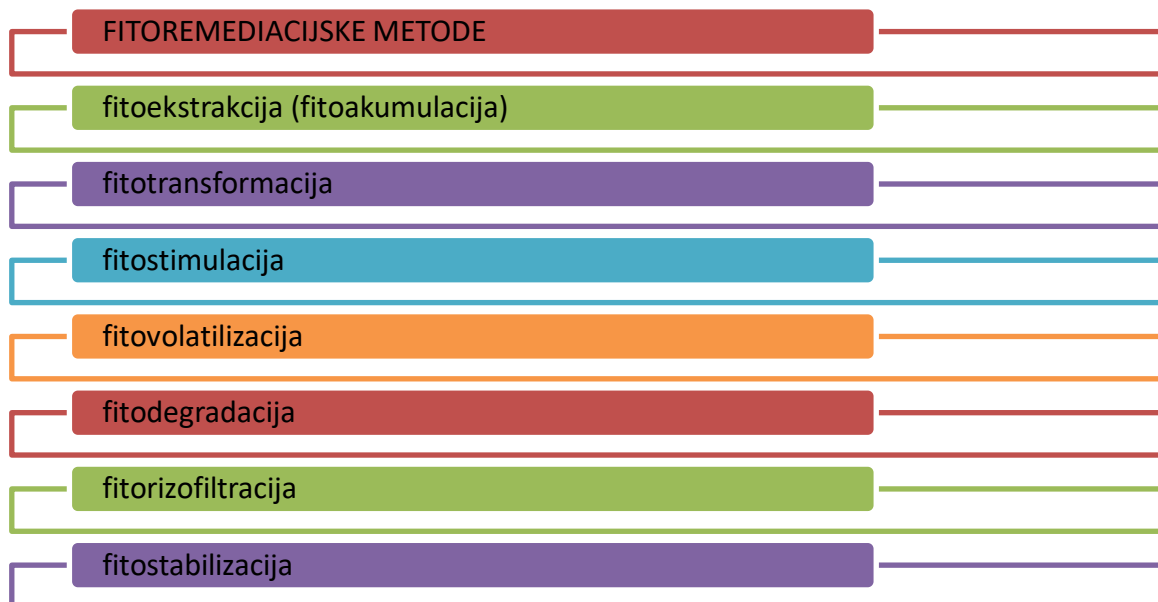
Pojem fitoremediacija se nanaša na postopke razstrupljanja okolja s pomočjo rastlin, pri čemer rastline iz okolja sprejemajo strupene snovi ter ga s tem čistijo, pri tem »onesnažijo« sebe (Ambrožič-Dolinšek, 2007). Tekom let lahko tla izgubijo samoočiščevalno sposobnost. Takšna tla predstavljajo nevarnost okolju, zato jih je potrebno očistiti. Kakšno tehniko čiščenja tal (remediacije) izbrati, je odvisno od vrste strupenih snovi v tleh in od finančne razpoložljivosti. Pri izbiri metode čiščenja je potrebno upoštevati:

- lastnosti tal: homogenost, propustnost, vlago, pH in oksid redukcijski potencial (Eh) tal, vsebnost humusa in organsko vezanega ogljika, biološko potrebo po kisiku, koncentracijo akceptorjev elektronov v tleh, morebitno prisotnost olj in masti itd.
- kemijske lastnosti,
- fizikalne lastnosti (Leštan in sod., 1997).

Tla lahko prečistimo na različne načine (tehniko), na biološki, fizikalno-kemijski ali termični, ki lahko potekajo *in-situ* (na mestu onesnaženja) ali *ex-situ*, kjer tla izkopljejo in šele na-to pričnejo s postopki čiščenja (Leštan, 2010). Razdelitev tehnik remediacije je prikazana na Sliki 1.

Večina konvencionalnih tehnik čiščenja tal je neprijaznih do okolja, je draga, poteka daljše časovno obdobje in hkrati nastanejo velike količine nerazgradljivih odpadkov. Pri fitoremediaciji se za čiščenja kontaminiranih tal, sedimentov ali vode uporabljajo rastline, hkrati pa je sam postopek cenovno ugodnejši, okolju prijazen in koristen ter ima estetske prednosti pred ostalimi postopki. Kakšno metodo fitoremediacije izbrati, je odvisno od stopnje in karakteristike onesnaženih tal, vrste rastlin s katero želimo

fitoremeditirati, fizičnih in kemičnih parametrov tal in klimatskih pogojev (Jha in sod., 2017).



Slika 1: Fitoremediacijske metode za čiščenje tal (prirejeno po Razzaq, 2017).

Glavni prednosti uporabe te tehnike sta nizki stroški in neškodljivost okolju. Metoda poteka »in situ«, zanjo niso potrebne nobene dodatne kemikalije in posebni stroji. Rastline so najpomembnejši del tehnike, zato je ključno, da zrastejo na licu mesta in potem tam učinkujejo. Za maksimalno učinkovitost metode je potreben daljši čas, saj v eni vegetacijski dobi rastlina akumulira le majhen delež npr. težkih kovin (Wanat, 2011).

Ena izmed fitoremediacijskih metod je tudi fitoekstrakcija, kjer rastline s prirastom biomase akumulirajo onesnažilo (težke kovine) iz rastišča in ga kopičijo v nadzemnih delih. S to metodo rastline učinkovito razstrupljajo tla. Nadzemni deli ali cele rastline se odstranijo, lahko sežgejo ter ostanke oziroma pepel deponirajo. Fitoremediacijske rastline sadijo oziroma sejejo v onesnažena tla in jih gojijo s pomočjo klasičnih agronomskih metod. Postopek razstrupljanja je počasen, saj je zanj potrebno dolgotrajno in večkratno gojenje rastlin, preden se onesnaženje zmanjša na primerno raven. Postopek je omejen na globino tal, ki jo prerašča koreninski sistem, in znaša od

nekaj centimetrov do nekaj metrov. Fitoekstrakcija je primerna za velika območja, ki so malo do srednje onesnažena (Ambrožič-Dolinšek, 2007).

Na splošno se organske spojine pri procesu fitoekstrakcije razgradijo blizu korenin, se absorbirajo in nato razgradijo, *sekvestrirajo* (ang. sequestration, pomeni odstranjevanje snovi iz okolja s fizikalnimi ali biološkimi procesi in shranjevanje v živih organizmih ali ekosistemih) ali izhlapijo. Anorganska onesnažila se zaradi svoje nerazgradljivosti fitoremediirajo s fitostabilizacijo ali sekvestracijo v rastlinskih delih (Pilon-Smits, 2005). Ena izmed omejitev te tehnike je čas, potreben za čiščenje, kar je običajno več let. Drug omejujoč dejavnik pa je biološka uporabnost elementov. Fitoremediacija bo uspešna le, če je del elementov biološko dostopen rastlinam. Vsekakor pa fitoremediacija vpliva na izboljšanje biodostopnosti elementov. Po končani fitoremediaciji je ostanek kontaminirana biomasa, ki se jo lahko uporabi za nadaljnjo predelavo v neprehranske namene, kot npr. les, karton, peleti, recikliranje elementov redkih težkih kovin (fitominiranje) (Wanat, 2011).

1.4. Opis vrste *Miscanthus x giganteus*

Miscanthus x giganteus (Greef in sod., 2001) ali prstasti trstikovec, za katerega se pogosto uporablja kar poslovenjeno rodovno ime miskantus, spada v družino trav (*Poaceae*) in je hibrid, ki je nastal s križanjem tetraploidne vrste *Miscanthus sinensis* in diploidne vrste *Miscanthus sacchariflorus*. Rod *Miscanthus* obsega med 11 in 25 vrst (Anderson in sod., 2014). Miskantus je visoko produktivna, sterilna, rizomatozna (razraščča se z rizomi), C4 trajnica, ki se uporablja za proizvodnjo bioenergije. Rastlino so začeli preučevati v osemdesetih letih, takrat so tudi pričeli s sajenjem omenjene rastline za proizvodnjo toplote in električne energije v Evropi. Ameriška vlada od leta 2005 spodbuja raziskave rastlinskih surovin za pridobivanje bioetanol kot goriva, zato se *M. x giganteus* na široko preučuje v ZDA. Tudi v evropskem interesu je povečati delež zelene energije v skupnem energetskem proračunu držav članic EU. V skladu s priporočili Evropske komisije se je Evropska unija strinjala s povečanjem prispevka skupne energije iz obnovljivih virov za povprečno 20 % do leta 2020 (Evropski parlament in Svet Evropske unije, 2009). Od teh 20 % naj bi se 60 % zelene energije pridobilo iz večletnih energetskih rastlin (med njimi je tudi miskantus), tako da pridelava in predelava ne bosta vplivali na proizvodnjo poljščin (FAO, 1999; sporočilo Komisije Evropskemu parlamentu, 2014).

V Evropo je rastlino prva prinesla gospa Aksel Olsen, leta 1935, z Japonske. Miskantus se sadi v aprilu ali maju, posadijo se korenine ali laboratorijsko razmnožene rastline. *M x giganteus* doseže največjo produktivnost v tretjem letu, ko doseže tudi končno višino 3,5–4 m. Odrasle in zrele rastline poženejo korenine do 1,8 m globoko. Največji prirast biomase je v mesecu avgustu (izmerjeno na zahodu ZDA), cveti pa sredi septembra ali v začetku oktobra. Staranje in odmiranje rastline se prične v mesecu septembru ali oktobru, ko je rastlina povsem suha, jo je potrebno požeti (Anderson in sod., 2014).

Prstasti trstikovec uvrščamo v skupino C4 rastlin, zanje je značilno, da pri procesu fotosinteze reducirajo ogljikov dioksid do spojine s štirimi ogljikovimi atomi, jo hranijo v celicah žilnega ovoja in po potrebi iz njih sproščajo substrat za fotosintezo CO₂. Ker za enako količino proizvedene biomase porabijo pol manj vode, so bolj prilagojene na vroče in sušno okolje in zaradi večje fotosintetske učinkovitosti rastejo hitreje kakor C3 rastline (Lovrenčak, 2003).

C4 fotosinteza rastlinam omogoča, da zelo učinkovito zadostijo presnovnim potrebam v okviru fotosintezne vezave atmosferskega ogljika (pridobijo zadostno količino CO₂) in hkrati z doslednejšimi omejitvami transpiracije lažje ohranjajo pozitivno vodno bilanco rastline tudi v manj ugodnih razmerah. Odlikuje jih učinkovitejša izraba vode, ki jim omogoča uspešno rast v toplih in sušnih rastnih razmerah. Opisana presnovna prilagoditev je potratnejša z vidika porabe energije (na eno molekulo CO₂ porabijo C4-rastline 5 molekul ATP, C3-rastline pa le tri). Razvoj C4 fotosinteze je bil v evoluciji prilagoditev na manj ugodne atmosferske razmere - nižje koncentracije CO₂ (Vodnik in sod., 2012).

M. x giganteus je naravno sterilen alotriploid ($2n = 3x = 57$). Sterilnost miskantusa je še posebej pomembna, saj se z njo zmanjša potencial, da bi rastlina postala invazivna ali plodna. Rastlina ima le vegetativno sposobnost razmnoževanja z rizomi. Sterilen triploid ima višjo sposobnost prirasta biomase kakor večina ostalih poljščin (Boersma in Heaton, 2011). Njegova prednost ni torej samo proizvodnja ogromnih količin celulozne biomase, ampak je le-ta bogata z lingocelulozo, hkrati pa vsebuje od 20-50 % manj dušika (Karp in Shield, 2008). Rastlina doseže višek proizvodnje biomase po dveh ali treh letih gojenja, ta pa znaša približno 25 t/ha, zaradi slednjega jo uvrščajo med najbolj produktivne zemeljske rastline zmernega klimata. Biomasa miskantusa se lahko uporabi za mnogo različnih namenov:

- biogorivo (za proizvodnjo električne energije)
- zmanjševanje emisij toplogrednih plinov (predvsem CO₂),
- nadomestek fosilnim gorivom – kurjava,
- živalska stelja,
- pri proizvodnji biomaterialov (izolativni in ostali gradbeni materiali),
- pri proizvodnji bioplastike (Wanat, 2011).

1.5. Pregled raziskav fitoremediacij z miskantusom

1.5.1. Privzem težkih kovin

Raziskovalci, ki so preučevali privzem težkih kovin iz tal v nadzemne dele trstikovca so ugotovili, da so bile najvišje vsebnosti težkih kovin v rastlinskih tkivih v prvem letu študije oz. v prvem letu rasti. Vsebnost težkih kovin v rastlinah se je iz leta v leto postopoma zmanjševala, to ugotovitev pripisujejo vedno večjem prirastu rastlinske biomase in postopni porazdelitvi težkih kovin po biomasi (Kocon in Jurga, 2017). Wanat in sod. (2013) so ugotovili, da je letna akumulacija svinca v nadzemnih delih rastlin miskantusa od 0,6 do 43 mg Pb/kg, njihovo ugotovitev sta potrdila tudi Kocon in Jurga (2017), ki sta v svojem eksperimentu ugotovila podobno kopičenje svinca in sicer od 0,7 do 38,5 mg Pb/kg. Nsanganwiman in sod. (2015) so prav tako preučevali rast miskantusa in njegovo sposobnost bioakumulacije v tleh onesnaženimi s Cd, Pb in Zn, v poskus so vključili dodatek inokuluma arbuskularnih mikoriznih gliv. Ugotovili so, da miskantus po drugi rastni sezoni akumulira višje koncentracije cinka in nižje koncentracije svinca ter kadmija (letna sposobnost akumulacije je torej od 80 do 127 mg/kg za Zn; od 1,5 do 2,0 mg/kg Pb in 1,0 do 1,7 mg/kg Cd). Precej raziskovalcev se strinja, da je kljub velikim koncentracijam svinca v tleh, majhna vsebnost tega elementa v biomasi posledica kopičenja svinca v koreninah rastlin (Kocon in Jurga, 2017 po Liu in sod., 2004; Moosavi in Seghatoleslami, 2013; Nsanganwimana, 2015; Sekara in sod., 2005; Stanislawski-Glubiak in sod. 2015 ter Yoon in sod. 2006).

Kocon in Jurga (2017) sta v raziskavi Vrednotenja rasti in fitoekstrakcijskega potenciala pri *Miscanthus x giganteus* in *Sida hermaphrodita* v tleh kontaminiranih s Cd, Cu, Ni, Pb in Zn ugotovila, da je bioakumulacijski faktor (BF je merilo mobilnosti in razpoložljivosti težkih kovin v rastlini; izračunamo ga tako, da vsebnost težkih kovin v nadzemnih delih rastline (mg/kg) delimo z deležem težkih kovin v tleh (mg/kg); BF mora biti pri akumulatorskih rastlinah vedno večji od 1) ne glede na preučevano rastlinsko bioakumulatorsko vrsto vedno višji pri Zn in Cd kot pa pri Cu in Pb. Razlog, zakaj sta stopnji privzema Zn in Cd višji, pripisujeta kopičenju teh dveh elementov v nadzemni masi ter kopičenju Cu ter Pb v koreninah. Cd, Pb in Zn so elementi, ki jih rastline miskantusa pretežno akumulirajo v koreninah (Kocon in Jurga, 2017). Korenine torej zmanjšujejo prenos kovin v nadzemne dele rastline. Z dodatkom inokuluma

arbuskularnih mikoriznih gliv se poveča mobilnost predvsem Cd in Zn v nadzemne organe in poganjke (Nsanganwimana in sod., 2015).

1.5.2. Vpliv značilnosti tal

Na uspešnost fitoekstrakcije močno vpliva tudi tekstura tal. V povprečju so za ilovnata tla (težka tla, z višjim odstotkom gline) značilne višje koncentracije vseh elementov razen organskih delcev v primerjavi s peščenimi tlemi (lahka tla, z velikim deležem peska in peščenih delcev) (Kocon in Jurga, 2017). Tako za ilovnata kot peščena tla sta elementa Pb in Zn toksična za rastline, medtem ko so elementi Cd, Cu in Ni toksičnih le v višjih koncentracijah (Kabata-Pendias in Pendias, 2001). Rezultati raziskave Kocona in Jurge (2017) so pokazali, da je miskantus rasel uspešnejše na peščenih tleh kot pa na ilovnatih. Do enakih ugotovitev so prišli tudi drugi raziskovalci (Kocon in Jurga, 2017 po Faber in sod., 2008; Matyka, 2013), ki so pripisali višjo prirast biomase hitrejšemu segrevanju tal oz. so rastline miskantusa pri ugodnih temperaturnih pogojih in ustreznimi količinami padavin, zrastle višje na lažjih tleh kot pa na težkih tleh. Rastline na peščenih tleh ne le zrastejo višje, ampak imajo tudi večje število poganjkov, večji premer šopa poganjkov ter daljše poganjke (Kocon in Jurga, 2017). Kakšno količino težkih kovin bo rastlina absorbirala iz tal, pogojuje tudi količina organske snovi v tleh. Akumulacija je nižja pri rastlinah, kjer je v tleh prisoten znatni delež organskih snovi, saj se težke kovine v večji meri vežejo na talne komplekse, kjer so imobilizirane in težje dostopne rastlinam (Kocon in Jurga, 2017 po Pikula in Stepien, 2007; Chlopecka in Adriano, 1997; Nawab in sod., 2016). Poljski raziskovalci so prišli do ugotovitve, da uporaba mineralnega gnojila (NPK) za gojenje energetskih rastlin na onesnaženih tleh s težkimi kovinami sicer zniža pH tal, vendar poviša mobilnost in dostopnost predvsem Cd in Zn, s tem pospeši njuno absorpcijo v rastline (Pogrzeba in sod. 2017).

2. NAMEN

2.1. Namen in cilji

Namen našega dela je raziskati ali so degradirana območja znotraj Celjske kotline primerna za zasaditev s prstastim trstikovcem. Na celjskem je bilo narejenih že kar nekaj raziskav, kako sanirati degradirana območja, nihče pa še ni raziskal potencialnih možnosti fitoremediacije z miskantusom.

Cilj naloge je ugotoviti,

- kakšne so razlike v rasti trstikovca (spremljali bomo rastne parametre) glede na vsebnost težkih kovin v tleh na treh različnih lokacijah,
- vsebnost težkih kovin in mineralov v tleh in njihov vpliv na rastne parametre,
- katera degradirana območja znotraj Celjske koline so še primerna za sajenje miskantusa.

2.2. Delovne hipoteze

1. Onesnažena tla vplivajo na rast in razvoj prstastega trstikovca.
 - Različno onesnažena tla različno vplivajo na rast in razvoj sadik miskantusa, posledično so rastline na različnih območjih različno velike.
 - Pričakujemo, da bo na bolj obremenjenih tleh (lokaciji odlagališče Vrhe in Bukovžlak) rast sadik manjša.
2. Vsebnost težkih kovin (Cu, Zn, Mn, Fe, Cr, Ni, Cd, Pb, As, Hg) na izbranih testnih poljih je različna.
 - Onesnaženost tal vpliva na delež akumulacije težkih kovin. Rastline trstikovca, ki so posajene na bolj onesnaženih tleh (lokaciji odlagališče Vrhe in Bukovžlak) bodo zmanjšale vsebnost težkih kovin v tleh.

3. Tla na odlagališču Vrhe in v Bukovžlaku bodo najbolj onesnažena s težkimi kovinami, kljub temu bodo na njih dobro uspevale rastline miskantusa. To bi pomenilo, da so zelo degradirana tla prav tako primerna za zasaditev s to energetsko rastlino.

3. MATERIALI IN METODE

3.1. Izvedba poljskega poskusa

Poskus smo izvedli na treh lokacijah na vzhodnem robu Celjske kotline (*ex situ*):

- Kompole (46.21°N, 15.33°E) (slika 1: lokacija 3),
- odlagališče železarne Štore na Vrheh (46.23°N, 15.32°E) (slika 1: lokacija 1),
- Bukovžlak (46.24°N, 15.31°E) (slika 1: lokacija 2).

Lokacije poskusa smo izbrali načrtno, zaradi lege zemljišč, ki so bila v prejšnjih desetletjih pod velikim vplivom onesnaževanja in deloma z razlogom, ker so zemljišča privatna (Kompole, Bukovžlak) oz. v lasti podjetja (Štore Steel), da smo lahko enostavneje pridobili dovoljenje za izvedbo poskusa. Oddaljenost posameznih izbranih lokacij našega poskusa od dveh največjih polutantov je prikazana v Preglednica 1. Razdaljo smo izračunali na podlagi zračne razdalje med lokacijami in referenčnimi točkami železarne Štore oz. Cinkarne Celje, ki sta predstavljali približno geometrično sredino kompleksov.

Preglednica 1: Zračna oddaljenost izbranih lokacij poskusa od vira onesnaženja

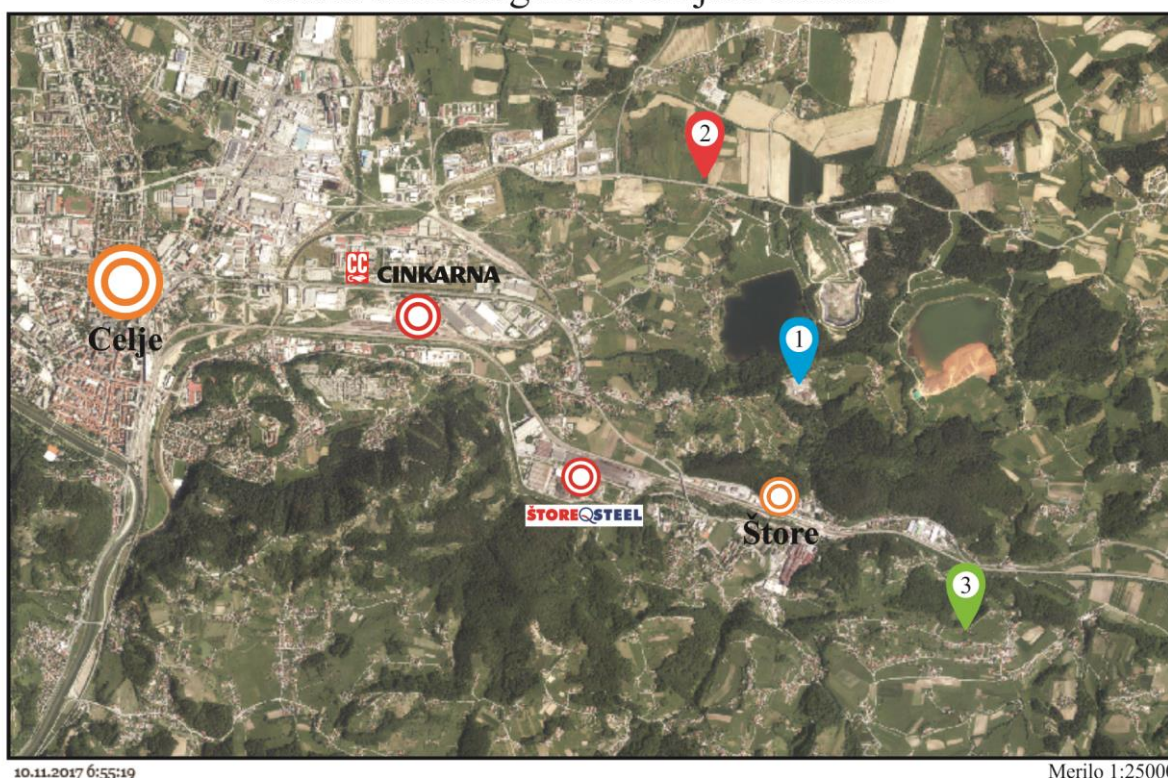
Lokacija poskusa	Oddaljenost od vira onesnaženja Cinkarna Celje
Kompole	4,3 km
odlagališče železarne - Vrhe	2,5 km
Bukovžlak	1,7 km

Lokacija poskusa	Oddaljenost od vira onesnaženja železarna v Štorah
Kompole	2,7 km
odlagališče železarne - Vrhe	1,5 km
Bukovžlak	1,8 km

Raziskava je trajala od 16. junija 2015 do 26. septembra 2015 (102 dni). Vzorčenja tal na posameznih lokacijah smo izvedli v dveh terminih in sicer prvič pred sajenjem miskantusa (16. 6. 2015) in drugič ob koncu poskusa (26. 9. 2015).

Spremljali smo tudi rastne parametre rastlin. Terenske meritve rastlin na vseh lokacijah hkrati smo opravili v šestih različnih terminih med junijem in septembrom 2015: 16. junij (vse sadike so bile enake), 3. julij, 20. julij, 6. avgust, 25. avgust in 26. september (pet poznejših meritev). Rastni parametri, ki smo jih merili in spremljali pri rastlinah so bili število poganjkov, obseg šopa, višina treh najvišjih poganjkov, število listov in debelina stebela treh najvišjih poganjkov.

Karta vzhodnega dela Celjske kotline



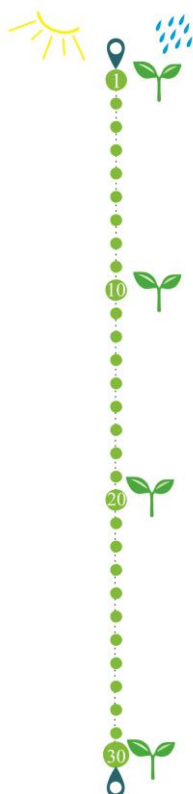
Slika 2: Karta vzhodnega dela Celjske kotline z vrisanimi lokacijami poskusov (številke 1, odlagališče železarne Štore na Vrheh; 2, Bukovžlak in 3, Kompole) ter obratoma Cinkarne Celje ter Železarne Štore

3.2. Rastlinski material v poskusu

Vse rastline v poskusu nam je podarilo podjetje Miskantus d.o.o. iz Murske Sobote, ki uvaža sadike iz laboratorija VitroGen (Poljska). Sadike so bile vzgojene *in-vitro* in imajo certifikat proizvajalca. Sadike miskantusa smo posadili na prosto 16. junija 2015, po 30 sadik v vrsto na lokacijah Bukovžlak in odlagališče Vrhe ter 40 sadik v vrsti na lokaciji v Kompolah (slika 3). Rastlin nismo zalivali, škropili in dodatno gnojili. Za kontrolo smo pet sadik posadili v globoko korito z neoporečno zemljo (s certifikatom,

brez težkih kovin). To korito smo na dan sajenja postavili v vrsto, del poljskega poskusa lokacije Kompole, da so rastline prejemale isto količino padavin, vetra, sonca itd. kot ostale sadike. 10 sadik od 40 smo na lokaciji v Kompolah tedensko zalivali z mineralnimi gnojili NPK (20 + 20 + 20; Humko). Te rastline smo pri analizi obravnavali posebej, kot četrto lokacijo.

Poljski vrstni poskus



Slika 3: Shema poljskega vrstnega poskusa

3.3. Analiza talnih vzorcev

Parametre tal smo analizirali v laboratoriju Univerze v Mariboru, Fakultete za kmetijstvo in biosistemske vede, Katedre za kemijo, agrokemijo in pedologijo.

Talne vzorce smo odvzeli na površini, ki je bila določena za izvajanje poskusa. Predpostavljamo, da vsebnost elementov v vzorcih podaja naravno sestavo tal, ki

vključuje vpliv podnebnih značilnosti. Tla smo vzorčili na dva načina in sicer s sondo ter plastično lopatko. Vzorce v katerih smo analizirali težke kovine smo odvzeli s pomočjo plastične lopatke, saj je sonda kovinska in bi lahko prišlo do kontaminacije vzorca s kovinami. Ostali vzorci so bili odvzeti s sondo za vzorčenje tal. Vzorčili smo na globini med 0-30 cm. Na posamezni lokaciji smo vzorčili na treh različnih mestih. Posamezen talni vzorec smo zbrali v vedro, ga dobro premešali in odvzeli kilogram homogenega vzorca. Le-tega smo shranili v plastificirane papirnate vrečke in takoj zamrznili (pri temperaturi $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Talni vzorci potrebujejo za nadaljnjo analizo predpripravo. Talne vzorce smo posušili na zraku do konstantne mase. Posušenim vzorcem smo nato odstranili večje kamenje in korenine, nato pa smo jih zmleli v posebnem mlinu (Elko, Slovenija) ter presejali skozi sito s premerom odprtin 1 mm. V tako pripravljenih vzorcih smo lahko nato izmerili in določali različne analitske parametre za določanje kvalitete tal (Bukovac in Muršec, 2017).

V našem poskusu smo določali parametre tal po različnih standardnih metodah (preglednica 2). Vsak poskus je bil izveden v najmanj dveh paralelkah.

Preglednica 2: Uporabljene metode za določanje posameznih parametrov v talnih vzorcih

Parameter	Metoda
pH (1 mol/l KCl)	ISO 10390:2005
Odstotek organskega ogljika	Önorm l 1081
Odstotek gline v tleh	Janitzky, 1986; Soil Survey manual, 1993
Izmenljiv fosfor in kalij	Egner-Riehm-Domingo
Odstotek karbonatov v tleh	ISO 10693
Tekstura tal	ISO 11277:2011
Skupni dušik, magnezij, bor in kalcij	SIST ISO 11261:1996
Vsebnost cinka, kadmija, svinca, niklja, bakra, kroma, železa in mangana	ISO 11047:1998
Vsebnost arzena	ISO/FDIS 20280:2007

3.3.1. Potenciometrično določanje potencialne kislosti tal

Potencialno kislost tal (pH) smo določili v raztopini KCl. Talnim vzorcem smo dodali raztopino kalijevega klorida, dobro premešali in izmerili pH vrednost z umerjenim pH metrom Iskra MA 5750 s kombinirano stekleno elektrodo HEC 0101 (Iskra, Horjul, Slovenija).

3.3.2. Volumetrična določitev vsebnosti organskega ogljika v tleh

Vsebnost organskega ogljika v talnih vzorcih smo preverili po postopku z oksidacijo v raztopini, Önorm 1 1081. Zračno suhim in presejanim talnim vzorcem smo dodali raztopino kalijevega dikromata in žveplove (VI) kisline. Po popolni oksidaciji smo raztopini dodali fosforjevo (V) kislino. Raztopini z vzorcem smo nazadnje dodali še raztopino difenilamina in jo titrirali z raztopino železovega (III) sulfata do preskoka barve.

$$\%C_{org} = \frac{0,3 \times (a - \frac{a \times c}{b})}{Z}$$

pri čemer so:

a - dodatek raztopine kalijevega dikromata v ml

b - poraba raztopine železovega sulfata pri slepem vzorcu v ml

c - poraba raztopine železovega sulfata pri vzorcu v ml

Z - masa vzorca v g

3.3.3. Določanje vsebnosti gline v talnem vzorcu

Vsebnost gline v talnih vzorcih smo izmerili s pomočjo sedimentacijsko pipetne metode (Janitzky, 1986; Soil Survey manual, 1993). Talnim vzorcem smo dodali natrijev pirofosfat, jih pustili stati čez noč, nato smo jih štiri ure stresali na stresalniku in pustili zmes usedati. Po sedmih urah in 35 minutah, smo zajeli suspenzije vzorcev iz globin 10 cm in jih izparili.

Izračun deleža gline:

$$\%G = \frac{(m_g - 0,0068) \times 100}{0,1}$$

pri čemer je:

m_g – masa gline v vzorcu (stehtana ohlajena v eksikatorju)

3.3.4. Določanje izmenljivega fosforja in kalija v talnih vzorcih

Vsebnost izmenljivega kalija ter fosforja v talnih vzorcih smo ugotavljali z AL-metodo. Talne vzorce smo zbrali v plastenko s pokrovom in jih ekstrahirali z AL-ekstrakcijsko raztopino (amonijev laktat). Zaprto plastenko smo 2 uri stresali na rotacijskem stresalniku (35 obr/min). Suspenzijo smo filtrirali preko nagubanega filter papirja srednje poroznosti - bel trak (MN 619 G $\frac{1}{4}$, Macherey Nagel, Nemčija). V filtratu smo določali vsebnost fosforja z merjenjem molekularno absorpcije pri valovni dolžini 659 nm ter vsebnost kalija z merjenjem atomske emisije kalijevih atomov pri valovni dolžini 766,5 nm. Kot slepi vzorec nam je služila AL-ekstrakcijska raztopina (Bukovac in Mursec, 2017).

Meritve vsebnosti fosforja so potekale na detekcijskem instrumentu Varian Cary 50 (Varian, Mulgrave, Avstralija), pri 659 nm in 0,1 s intervalu. Iz rezultatov smo narisali umeritveno krivuljo ter s pomočjo spodnje enačbe izračunali koncentracijo izmenljivega fosforja v talnih vzorcih.

$$P_2O_5 \left(\frac{mg}{100 g} tal \right) = \frac{\mu P_2O_5}{ml} \times 20$$

pri čemer je:

$\frac{\mu P_2O_5}{ml}$ - odčitek iz umeritvene krivulje

Na detekcijskem instrumentu za merjenje atomske emisije Varian SpectrAA-10 (Varian, Mulgrave, Avstralija) smo izmerili vsebnost kalija pri valovni dolžini 766,5 nm

v plamenu zrak/acetilen (pretok acetilena 1,5 mL/min). Kot slepi vzorec je služila AL-ekstrakcijska raztopina. Iz različnih koncentracijskih raztopin smo narisali umeritveno krivuljo, iz slednje smo določili koncentracijo kalija v raztopini, za preračun koncentracije v tleh pa smo uporabili spodnjo enačbo.

$$K_2O \left(\frac{mg}{100 g \text{ tal}} \right) = \frac{\mu K_2O}{ml} \times 4,8$$

pri čemer je:

$\frac{\mu K_2O}{ml}$ - odčitek iz umeritvene krivulje

3.3.5. Vsebnost karbonatov v tleh

Karbonate v tleh smo določali z volumetrično metodo SIST ISO 10693, pri čemer morajo vsi talni vzorci imeti pH vrednost nad 6,5 (v CaCl₂). Talnim vzorcem smo dodali klorovodikovo kislino, ki je razgradila prisotne karbonate. Sproščen ogljikov dioksid smo določili volumetrično in ga obračunali kot kalcijev karbonat z upoštevanjem temperature in pritiska oz. s kalibracijo z analitsko čistim kalcijevim karbonatom. Za določanje smo uporabili Scheiblerjev aparat.

$$W_{CaCO_3} = \frac{a \times P \times K}{(273 + T) \times E} [\%CaCO_3]$$

pri čemer so:

a - volumen CO₂ v ml

P - zračni pritisk v mm Hg ali v hPa

K - konstanta 0,1605 (P v mm Hg); 0,1203 (P v hPa)

T - sobna temperatura v °C

E - natehta v g

3.3.6. Tekstura tal

Pred analizo smo talne vzorce presejali skozi sito s premerom 2 mm. Teksturo tal smo ugotavljali s sedimentacijsko metodo, ki temelji na hitrosti usedanja delcev različnih velikosti v stoječi vodi (preglednica 3). Osnova metode je Stokesov zakon, ki podaja zvezo med hitrostjo usedanja delcev in njihovo velikostjo.

$$v = \frac{2(\rho_d - \rho)r^2g}{9\eta}$$

v – hitrost usedanja delcev

ρ_d – specifična teža delcev (2,6 g/cm³)

ρ – specifična teža tekočine (1,0 g/cm³)

r – polmer delca

g – zemeljski pospešek (980 cm/s²)

η – viskoznost tekočine

Iz enačbe je razvidno, da je hitrost usedanja večjih delcev večja kot hitrost usedanja manjših delcev in sicer se hitrost povečuje sorazmerno s kvadratom premera delcev.

Preglednica 3: Vrsta talnih delcev, njihova velikost in čas usedanja

Talni delci	Velikost	Čas usedanja (pri sobni temperaturi)
fini pesek	0,2-0,005	44 sekunde
grobi melj	0,005-0,002	4 minute 27 sekund
fini melj	0,002-0,002	7 ur 35 minut
glina	<0,002	

Za pravilno izvedbo postopka in popolno disperzijo delcev, smo morali preprečiti koagulacijo, zato smo dodali suspenziji natrijev pirofosfat. Suspenzijo smo stresali tri minute.

3.3.7. Težke kovine, skupni dušik, magnezij, bor in kalcij ter vsebnost arzena v tleh

Vsebnost težkih kovin v talnih vzorcih so določili v akreditiranem laboratoriju Kmetijskega inštituta Slovenije. Talne vzorce smo jim predpripravili in sicer tako, da so bili vzorci homogenizirani, posušeni, zmleti in presejani v skladu s SIST ISO 11464:2006.

Težke kovine v tleh kot so cink, kadmij, svinec, nikelj, baker, krom železo in mangan se določajo po ISO 11047:1998 standardu (Soil quality – Determination of cadmium, chromium, cobalt, copper, lead, manganese, nickel and zinc – Flame and electrothermal atomic absorption spectrometric methods). Po razklopu z zlatotopko se izmeri vsebnost npr. kadmija, svinca ipd. z aparatom kot je npr. ETAAS Varian, AA240Z.

Skupni dušik, magnezij, bor in kalcij se ugotavljajo s postopkom vlažne oksidacije po Kjeldahlu (SIST ISO 11261:1996). Metoda je razdeljena na tri dele. V prvem delu poteče razgradnja organske snovi ob dodatku H_2SO_4 , katalizatorja in ob segrevanju. V drugem delu poteče destilacija v Kjeldahlovem destilacijskem aparatu. Zadnji del metode je titracija destilata z raztopino H_2SO_4 znane molarnosti.

3.3.8. Statistična analiza

Vrednosti rasti, razvoja, biokemijskih in fizioloških parametrov smo podali kot povprečno vrednost in standardno napako ($\pm SD$). Meritve so bile statistično ovrednotene z enosmerno analizo variance (ANOVA), z uporabo programske opreme SPSS 25 (SPSS Inc., Chicago, IL, Amerika). Signifikantne razlike ($P < 0,005$) med povprečji so bile določene s Post Hoc Tukey testom, označili pa smo jih z različnimi črkami.

4. REZULTATI

4.1. Rezultati laboratorijskih analiz talnih vzorcev

4.1.1. Določanje potencialne kislosti tal

Potencialno kislost tal smo izmerili na vseh treh lokacijah, in sicer na začetku in ob koncu poskusa (preglednica 4). Tla na odlagališču Vrhe imajo najvišji pH ($\text{pH} > 8$) in so rahlo bazična. V Bukovžlaku smo izmerili najnižji pH ($\text{pH} < 7$), tla na tej lokaciji so najbolj kisla. Najbolj nevtralna tla so v Kompolah ($\text{pH} \geq 7$). Med meritvama v mesecu juniju in septembru je pH tal rahlo upadel na odlagališču Vrhe, povišanje pH pa smo opazili v Bukovžlaku.

Preglednica 4: Rezultati meritev pH tal

Lokacija (datum vzorčenja)	pH
odlagališče Vrhe 16. 6. 2015	8,80
odlagališče Vrhe 26. 9. 2015	8,18
Bukovžlak 16. 6. 2015	6,65
Bukovžlak 26. 9. 2015	6,77
Kompole 16. 6. 2015	7,24
Kompole 26. 9. 2015	7,23
Kompole gnojeno 26. 9. 2015	7,00

4.1.2. Določanje vlage v talnih vzorcih

V talnih vzorcih nabranih na vseh treh lokacijah smo izmerili vlago (preglednica 5). Izbrali smo vzorce vzorčene 26. 9. 2015. Najvišji odstotek vlage v tleh so imela tla v Kompolah in Bukovžlaku (28 % in 26 %), najnižjo stopnjo vlage pa so vsebovali talni vzorci iz odlagališča Vrhe (20 %).

Preglednica 5: Rezultati meritev vlage v talnih vzorcih

Lokacija	Masa vode v 100 g vzorca (v g)	% vlage v talnem vzorcu (v %)
odlagališče Vrhe	20,15 g	20
Bukovžlak	26,08 g	26
Kompole	27,6 g	28
Kompole - gnojeno	27,56 g	28

4.1.3. Odstotek organskega ogljika v tleh

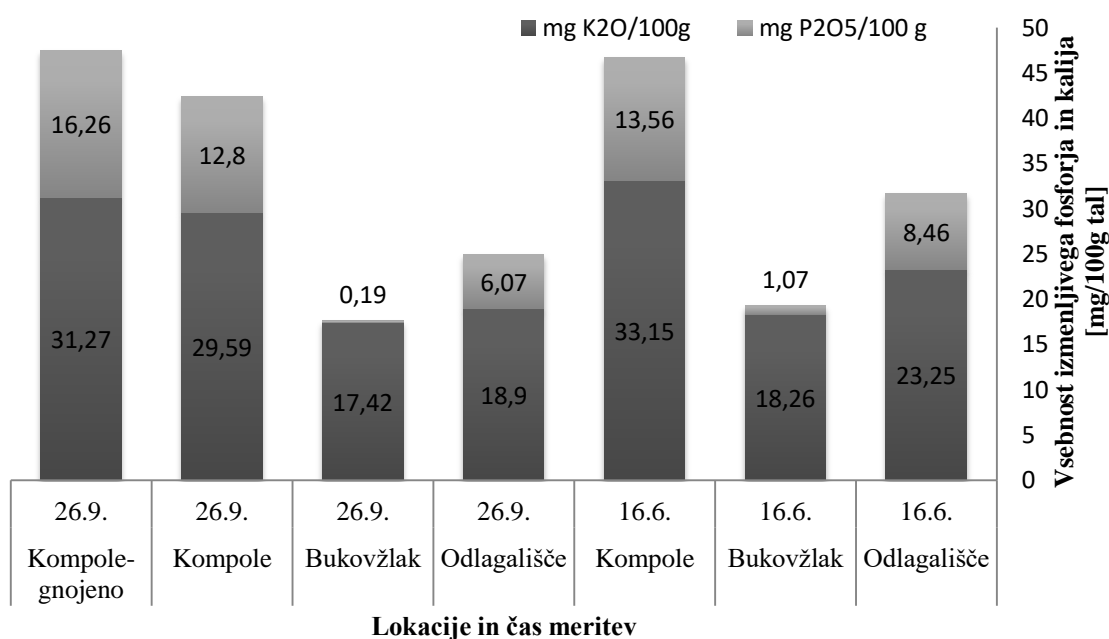
Na vseh treh lokacijah smo v tleh izmerili odstotek organskega ogljika (preglednica 6). Najvišji delež organskega ogljika v smo izmerili v talnem vzorcu iz Kompol, največ pa je vseboval vzorec, kjer so bila tla gnojena (3,50 %). Takšni rezultati uvrščajo Kompolska tla med srednje humosna tla (več kot 2 % organske snovi). Najmanjši odstotek organskega ogljika se nahaja na tleh odlagališča (manj kot 1 %), kar je zelo nizka založenost tal z ogljikom oz. organsko snovjo. Tla v Bukovžlaku so sorazmerno dobro založena z ogljikom, saj ga vsebujejo le nekoliko manj kot tla v Kompolah (2,84 % pred poskusom in 2,34 % ob koncu poskusa). Pri vzorcih ni opaznega trenda povišanja oz. zmanjšanja organskega ogljika v tleh tekom poskusa. Ponekod se je količina povišala (odlagališče Vrhe), ponekod pa zmanjšala (Kompole in Bukovžlak).

Preglednica 6: Meritve vsebnosti organskega ogljika v talnih vzorcih

Lokacija (datum)	Vsebnost organskega ogljika v talnih vzorcih (%)
odlagališče Vrhe 16.6.2015	0,81
odlagališče Vrhe 26.9.2015	0,82
Bukovžlak 16.6.2015	2,84
Bukovžlak 26.9.2015	2,34
Kompole 16.6.2015	2,81
Kompole 26.9.2015	2,99
Kompole – gnojeno 26.9.2015	3,50

4.1.4. Založenost tal z izmenljivim fosforjem in kalijem v tleh

V talnih vzorcih iz vseh treh lokacij smo določali založenost tal z izmenljivim fosforjem in kalijem (preglednica 6). Najvišja vsebnost izmenljivega fosforja in kalija je bila določena v talnih vzorcih iz lokacije Kompole (z mineralnim gnojilom gnojena tla). Najnižja vsebnost fosforja in kalija v tleh je bila določena v vzorcih iz Bukovžlaka. Pri vseh vzorcih je viden trend upadanja vsebnosti tako kalija kot fosforja tekom poskusa (v obdobju treh mesecev) (slika 4). Glede na založenost tal s kalijem so tla na odlagališču Vrhe srednje do dobro založena, v Bukovžlaku dobro založena, v Kompolah dobro do čezmerno založena in gnojena tla v Kompolah čezmerno založena. Pri založenosti tal s fosforjem so dobro založena tla v Kompolah (gnojeni del), srednje do dobro založena tla s fosforjem so tla v Kompolah, tla na odlagališču Vrhe so srednje založena ter tla v Bukovžlaku so glede na lestvico uvrščena v siromašno založena tla.



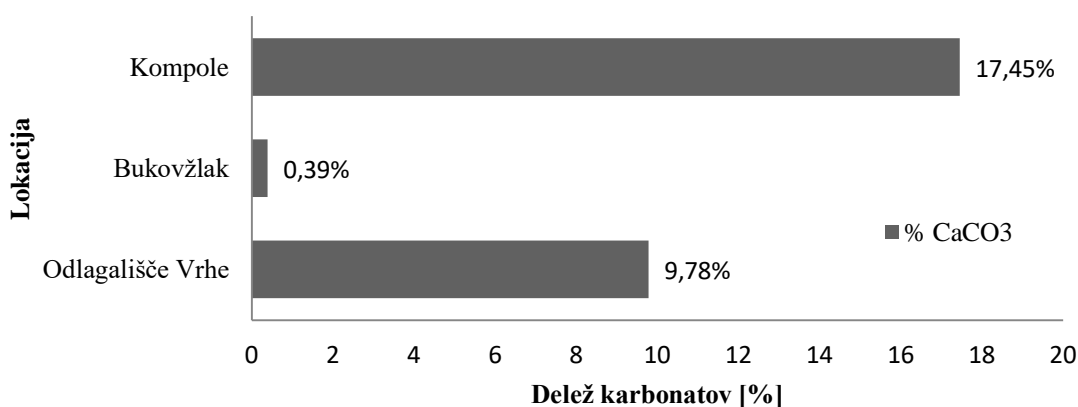
Slika 4: Založenost tal s fosforjem in kalijem v talnih vzorcih po lokacijah in času meritev

Preglednica 7: Založenost tal s kalijem in fosforjem ter meje razredov (Leskošek, 1993)

Založenost tal s kalijem po AL metodi in meje razredov (Leskošek, 1993)				Založenost tal s fosforjem po AL metodi in meje razredov (Leskošek, 1993)		
Stopnja	Lahka do srednje težka tla mg K ₂ O/100 g tal	Težka tla mg K ₂ O/100 g tal	Stanje preskrbljenosti tal	Stopnja	mg P ₂ O ₃ /100 g tal	Stanje preskrbljenosti tal
A	< 10	< 12	siromašno	A	< 6	siromašno
B	10 – 19	12 – 22	srednje preskrbljeno	B	6 – 12	srednje preskrbljeno
C	20 – 30	23 – 33	dobro	C	13 – 25	dobro
D	31 – 40	34 – 45	čezmerno	D	26 – 40	čezmerno
E	> 40	> 45	ekstremno	E	> 40	ekstremno

4.1.5. Delež karbonatov v talnih vzorcih

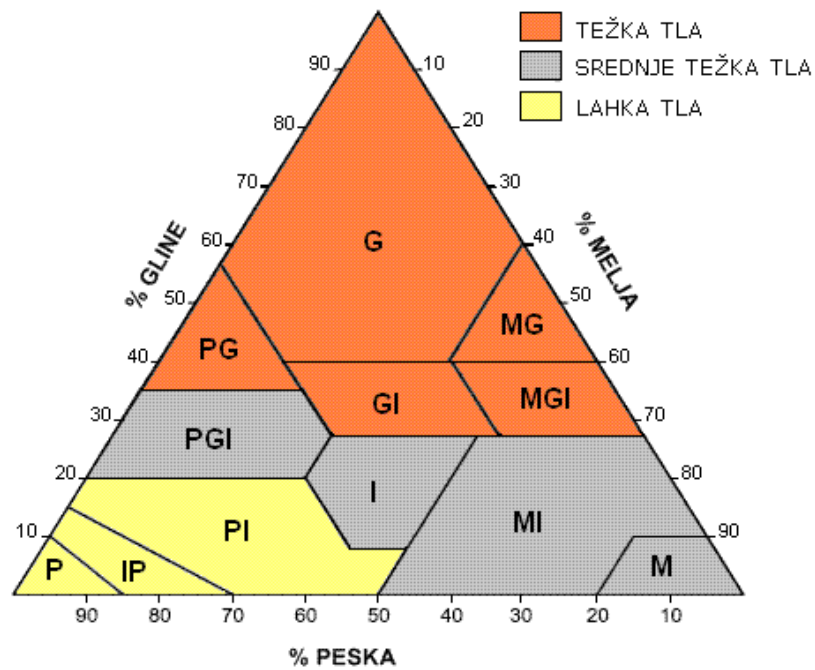
Najvišji odstotek karbonatov v tleh smo izmerili v talnih vzorcih iz Kompol. Najmanjši delež karbonatov vsebujejo tla v Bukovžlaku (slika 5).



Slika 5: Delež karbonatov v talnih vzorcih po lokacijah

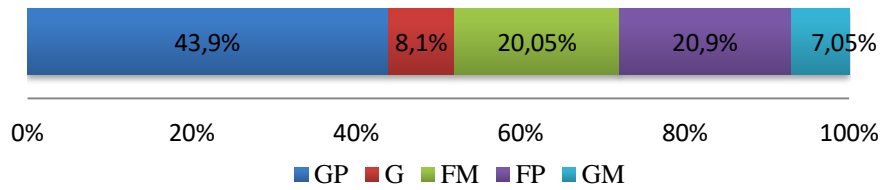
4.1.6. Določanje teksture tal s sedimentacijsko metodo

Za določanje teksturnega razreda posameznih tal smo uporabili teksturni trikotnik ameriške klasifikacije in razdelitve po Plasterju (1992) (slika 6). Tla odlagališča glede na posamezne deleže peska, gline in melja uvrščamo med lahka do srednje težka tla, tla v Bukovžlaku v skupino srednje težkih do težkih tal ter tla v Kompolah v skupino srednje težkih tal (slika 7).

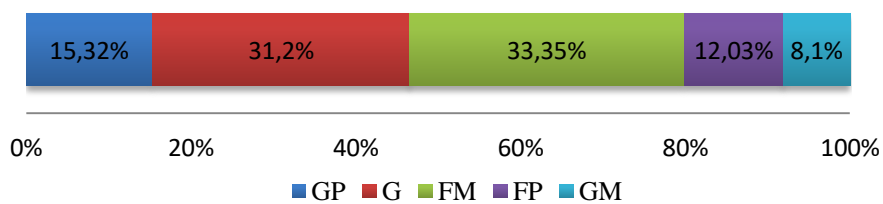


Slika 6: Teksturni trikotnik ameriške teksturne klasifikacije (vir: wikipedia)

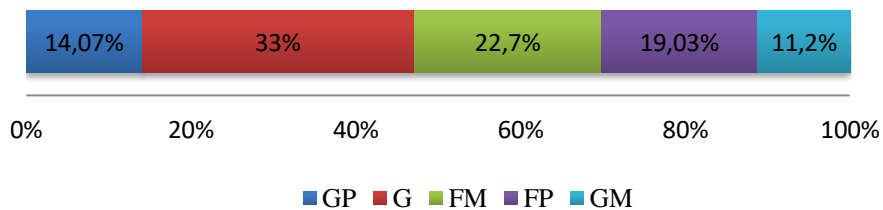
Tekstura tal - odlagališče Vrhe



Tekstura tal - Bukovžlak



Tekstura tal - Kompole



Slika 7: Teksture talnih vzorcev na treh lokacijah (od zgoraj navzdol so prikazane lokacije odlagališče Vrhe, Bukovžlak in Kompole). Prikazan je delež posamezne strukture (GP - grobi pesek, G - glina, FM - fini melj, FP - fini pesek in GM - grobi melj) glede na celoten talni vzorec iz posamezne lokacije.

4.1.7. Vsebnost mineralnega dušika, magnezija, bora in kalcija v talnih vzorcih

Talni vzorci z odlagališča Vrhe so siromašno založeni z dušikom (oznaka A ob rezultatu) in ekstremno preskrbljeni z magnezijem (oznaka E). V Bukovžlaku so tla bogata z dušikom (oznaka D) in ekstremno preskrbljena z magnezijem (oznaka E). Tla v Kompolah so zelo bogata z dušikom in srednje bogata z magnezijem (oznaki E in B). Oznaka A pomeni, da so tla zelo revna z dušikom oziroma magnezijem, kar pomeni, da je v takšnih tleh zelo malo dostopnega dušika oziroma magnezija rastlinam. Tudi pri oznaki B je rastlinam v tleh na voljo premalo dušika ali magnezija za optimalno rast in pridelke. Vse tla, ki vsebujejo dušik ali magnezij nad B mejo so dobro preskrbljena tla (preglednica 7).

Preglednica 8: Vsebnost dušika, magnezija, bora in kalcija v talnih vzorcih ter mejni razredi

Vzorec	Dušik (%)	Magnezij (mg/100 tal)	Bor (mg/kg)	Kalcij (%)
odl. Vrhe 16.6.2015	0,04 (A)	31,0 (E)	1,87	10,57
odl. Vrhe 26.9.2015	0,05 (A)	84,6 (E)	1,22	6,07
Kompole 16.6.2015	0,35 (E)	12,5 (B)	0,95	5,68
Kompole 26.9.2015	0,33 (E)	10,9 (B)	1,17	5,45
Kompole-gnojeno 26.9.2015	0,38 (E)	12,5 (B)	1,15	6,5
Bukovžlak 16.6.2015	0,23 (D)	34,5 (E)	0,85	0,6
Bukovžlak 26.9.2015	0,29 (D)	36,6 (E)	1,1	0,74

4.1.8. Težke kovine v talnih vzorcih

Rezultate vsebnosti težkih kovin v talnih vzorcih (preglednica 8) smo preučili in primerjali z zahtevo Uredbe o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh (Ur. list RS, št. 68/96), navedeni v (preglednica 9).

Preglednica 9: Mejne, opozorilne in kritične vrednosti za težke kovine v tleh (Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh, Uradni list RS, št. 68/96 in 41/04 – ZVO-1)

Parametri (mg/kg)	Mejna vrednost	Opozorilna vrednost	Kritična vrednost
Cink (Zn)	≥200	≥300	≥720
Kadmij (Cd)	≥1	≥2	≥12
Svinec (Pb)	≥85	≥100	≥530
Nikelj (Ni)	≥50	≥70	≥210
Baker (Cu)	≥60	≥100	≥300
Krom (Cr)	≥100	≥150	≥380
Arzen (As)	≥20	≥30	≥55
Živo srebro (Hg)	≥0,8	≥2	≥10
Železo (Fe)	-	-	-
Mangan (Mn)	-	-	-

Preglednica 10: Prisotnost težkih kovin v talnih vzorcih

Parametri (mg/kg)	Vzorčna mesta	Odlagališče Vrhe 16.06.2015	Odlagališče Vrhe 26.09.2015	Bukovžlak 16.06.2015	Bukovžlak 26.09.2015	Kompole 16.06.2015	Kompole 26.09.2015	Kompole-gnojeno 26.09.2015
Cink (Zn)		1288	674	579	607	393	384	391
Kadmij (Cd)		3,18	1,49	3,77	4,97	3,87	3,58	3,84
Svinec (Pb)		242	174	187	156	89	83	89
Nikelj (Ni)		52	32	42	41	45	46	41
Baker (Cu)		82	44	129	88	30	30	30
Krom (Cr)		370	215	51	56	32	47	39
Arzen (As)		17,5	13	72,1	62,7	13,3	16,9	17,8
Živo srebro (Hg)		0,1	0,007	0,27	0,17	0,08	0,08	0,08
Železo (Fe)		27	53	34	32	46	41	32
Mangan (Mn)		2988	1366	727	666	678	672	667

V vzorcih tal z odlagališča smo izmerili visoke kritične vrednosti cinka, opozorilne vrednosti kadmija, svineca in kroma (preglednica 10). Nad mejno vrednostjo sta nikelj in baker. Po treh mesecih poskusa, so bile vrednosti prej izjemno visokih vrednosti težkih kovin nekoliko nižje. Znižale so se vsebnosti cinka iz prej kritične vrednosti na opozorilno vrednost, prisotnost kadmija se je zmanjšala iz opozorilne vrednosti na mejno vrednost ter nikelj je upadel iz mejne na sprejemljivo raven. Pri vseh izmerjenih težkih kovinah smo opazili trend upada v trimesečnem obdobju z izjemo vsebnosti železa, ki je v tem času rahlo porastel.

V talnih vzorcih iz Bukovžlaka je vsebnost arzena nad kritično vrednostjo, nad opozorilno vrednostjo so vsebnosti cinka, kadmija, svineca in bakra znižala (svinec, nikelj, baker, arzen, živo srebro, železo in mangan), v nekaterih primerih pa zvišala

(cink, kadmij in krom). Bistveno se je znižala vsebnost bakra, in sicer iz opozorilne na mejno vrednost.

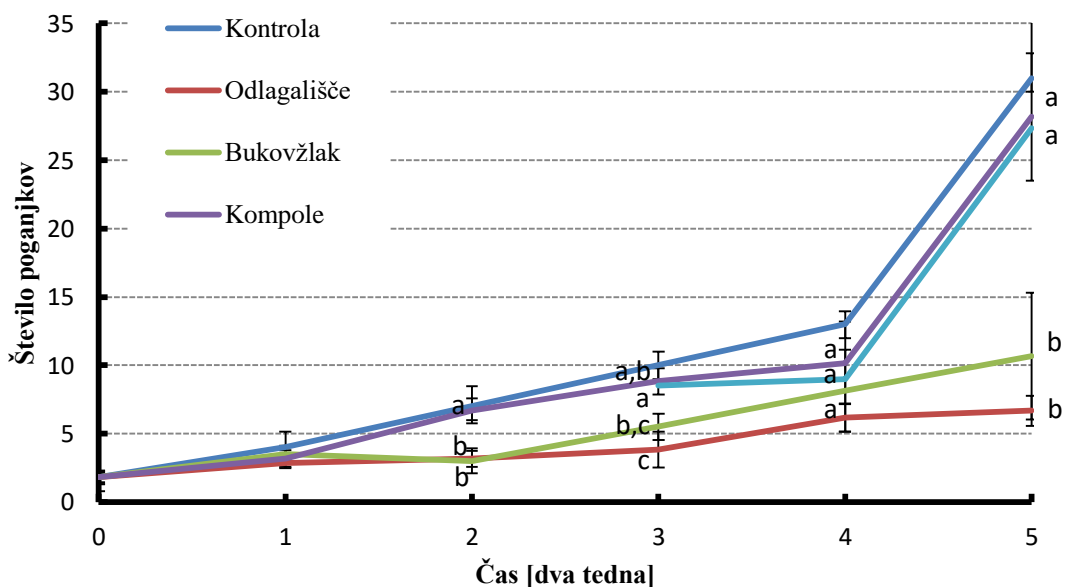
Talni vzorci z lokacije Kompole so v primerjavi z ostalimi lokacijami, vključenimi v raziskavo najmanj obremenjeni s težkimi kovinami. Nad opozorilno vrednostjo sta le cink in kadmij, na meji mejne vrednosti so le vsebnosti svinca. Pri večini težkih kovin smo tudi na tej lokaciji opazili trend upada vsebnosti v trimesečnem obdobju. Izjemo predstavljajo le vsebnosti niklja, kroma in arzena, ki so se rahlo povišale. V talnih vzorcih, kjer smo tla pognojili, ob koncu poskusa nismo zaznali nižjih vsebnosti težkih kovin, opazili smo le malenkostno višje vsebnosti kroma in arzena.

4.1.9. Rastni parametri po posameznih lokacijah

Neodvisni spremenljivki v poskusu sta bili čas (časovno zaporedje petih meritev) ter mesta vzorčenja (štiri lokacije in kontrola). Število poganjkov, obseg šopa, višina treh najvišjih oz. najdaljših listov, število listov treh najvišjih poganjkov in debelina šopa pa so bile odvisne spremenljivke. Izračunali smo povprečje števila poganjkov, obsega šopa, višine listov, števila listov ter debeline šopa.

Neodvisni spremenljivki, lokacija in čas meritev miskantusa sta vplivali na povprečno število poganjkov (slika 8). Na odlagališču Vrhe je število poganjkov naraščalo zelo počasi. V povprečju se je število poganjkov v celotnem času poskusa povečalo le za pet poganjkov. V Bukovžlaku smo prav tako opazili počasno naraščanje števila poganjkov. Ob koncu poskusa so v povprečju rastline miskantusa imele devet poganjkov več kakor na začetku. Povprečno število poganjkov se je značilno povišalo v Kompolah tako na negnojenem kot na gnojenem območju. Opazili smo, da so rastline na koncu poskusa imele v povprečju 26 poganjkov več kakor na začetku. Najmanjši prirast poganjkov smo opazili na odlagališču in najvišjega v Kompolah. Ta trend je bil opazen celoten čas trajanja našega poskusa.

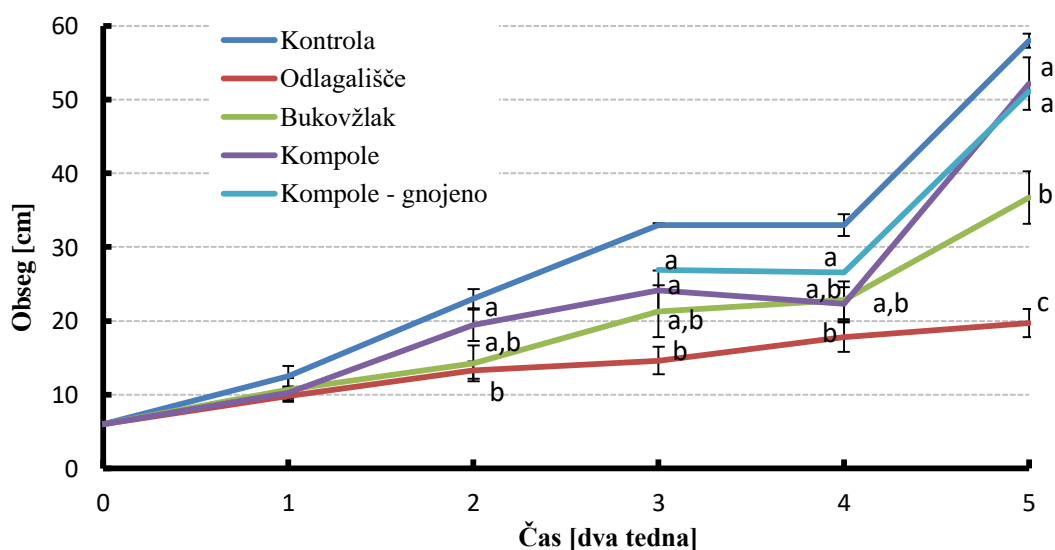
Že pri prvem in drugem merjenju števila poganjkov smo opazili, da so najmanj poganjkov imele rastline na lokacijah Vrhe in Bukovžlak, največ pa rastline v Kompolah. Statistično značilne razlike med meritvami in časom trajanja poskusa so se pojavile pri tretji in četrti meritvi povprečnega števila poganjkov, ko je bilo povprečno število poganjkov najvišje v Kompolah (Tukey test, $P \leq 0,05$). Kontrola ves čas odstopa od ostalih meritev, saj so kontrolne rastline imele vseskozi statistično največ poganjkov.



Slika 8: Primerjava razvoja novih poganjkov miskantusa posajenega na različnih lokacijah. Prikazane so povprečne vrednosti števila poganjkov (\pm SD) izmerjene v dvotedenskih intervalih v času od junija do septembra 2015. Med seboj smo primerjali rastne parametre zbrane istočasno znotraj posameznega vzorčenja. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (ANOVA, Tukey HSD, $P \leq 0,05$; $N \geq 6$).

Prav tako sta na obseg šopa vplivali neodvisni spremenljivki (slika 9). Največji obseg šopov miskantusa smo skozi celoten poskus opazali v kontrolni skupini. Med testnimi lokacijami smo s statistično značilnostjo (Tukey test, $p \leq 0,001$) zabeležili največji obseg šopa v Kompolah (na gnojenih in negnojenih testnih poljih). V povprečju in s statistično značilnostjo je bil obseg sadik na omenjeni lokaciji za 16,7 cm večji kakor na lokaciji Bukovžlak in za 33,2 cm večji kakor na odlagališču Vrhe (Tukey test, $p \leq 0,001$).

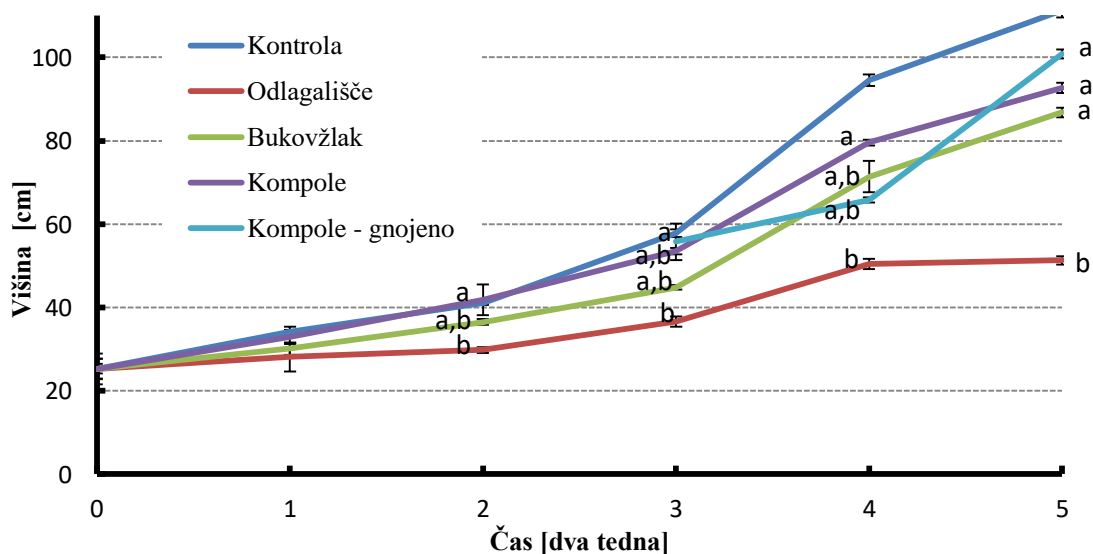
Trajanje poskusa je povečevalo razlike med obsegi šopov med posameznimi lokacijami. V vseh časovnih intervalih so bili povprečni obsegi šopov največji v Kompolah, sledili so obsegi v Bukovžlaka, najmanjše smo zabeležili na odlagališču Vrhe. Statistično značilne razlike so bile v celotnem časovnem intervalu skoraj enake $P < 0,05$, vendar smo statistično značilno razliko lahko opazili pri zadnjem merjenju (Tukey test, $P \leq 0,05$).



Slika 9: Primerjava obsegov šopov miskantusa posajenega na različnih lokacijah. Prikazane so povprečne vrednosti obsega šopov (\pm SD) izmerjene v dvotedenskih intervalih v času od junija do septembra 2015. Med seboj smo primerjali rastne parametre zbrane istočasno znotraj posameznega vzorčenja. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (ANOVA, Tukey HSD, $P \leq 0,05$; $N \geq 6$).

Lokacija in čas meritev sta vplivali tudi na višino listov (slika 10). Pri kontrolni skupini smo izmerili v vseh časovnih intervalih najvišje liste v šopih. V Kompolah smo skozi celoten poskus beležili najvišje liste, sledili so jim listi z Bukovžlaka in nato z odlagališča Vrhe. Na odlagališču smo s statistično značilno razliko opazili najmanjšo rast listov (Tukey test, $P \leq 0,05$). Njihova povprečna višina se je med junijem in septembrom 2015 v povprečju povečala le za 25,0 cm, medtem ko se je v Kompolah povečala za 75,6 cm.

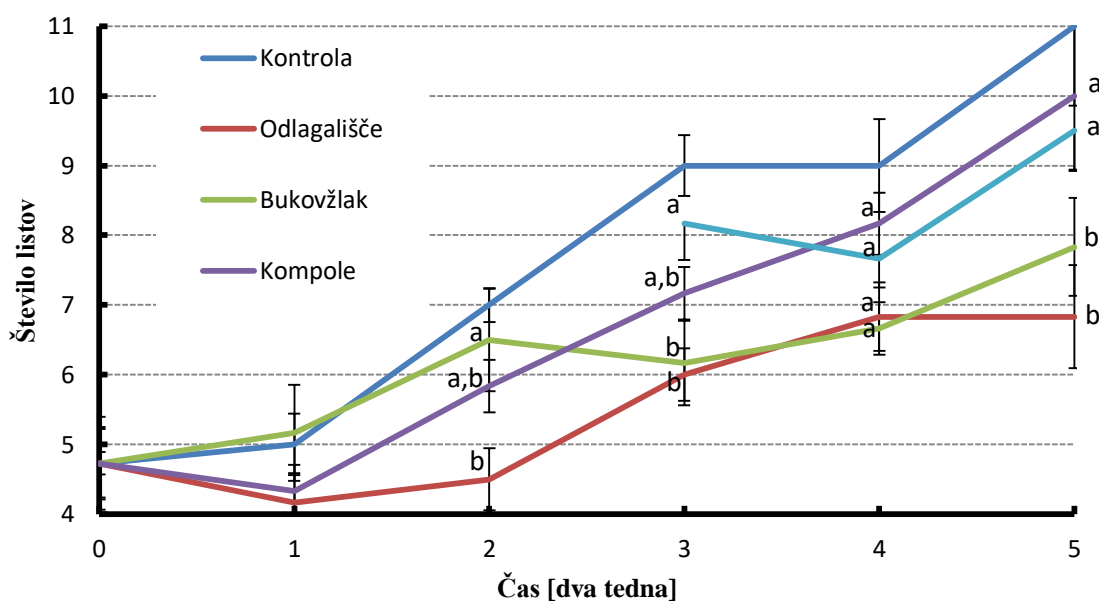
Razlike med višinami treh najvišjih listov so se skozi celoten čas poskusa povečevale. Zopet je bila najočitnejša in statistično značilna razlika pri zadnjem, petem merjenju. Povprečna višina treh najvišjih listov je bila v Kompolah v povprečju kar 41,42 cm večja kakor na odlagališču Vrhe ($p \leq 0,001$) v istem obdobju (september 2015). V Bukovžlaku so bile v povprečju rastline nižje od gnojnih iz Kompol za 14,08 cm, a višje za 35,52 cm od rastlin posajenih na odlagališču Vrhe (Tukey test, $P \leq 0,05$).



Slika 10: Primerjava treh najvišjih listov v šopu miskantusa (višina) posajenega na različnih lokacijah. Prikazane so povprečne vrednosti treh najvišjih listov (\pm SD) izmerjene v dvotedenskih intervalih v času od junija do septembra 2015. Med seboj smo primerjali raste parametre zbrane istočasno znotraj posameznega vzorčenja. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (ANOVA, Tukey HSD, $P \leq 0,05$; $N \geq 6$).

Vpliv neodvisnih spremenljivk lokacije in časa meritev je bil opazen tudi pri številu listov treh najvišjih poganjkov (slika 11). Celoten čas trajanja poskusa smo opazili, da so imele rastline največje število listov v kontrolni skupini, sledile so jim rastline iz Kompol. Število listov pri treh najvišjih poganjkih se je v kontrolni skupini med junijem in septembrom 2015 v povprečju in s statistično značilno razliko povečalo za 6,27 listov, v Kompolah pa za 5,27 listov. Na lokaciji Bukovžlak in na odlagališču Vrhe smo opazili najmanjši prirast novih listov. Sadikam se je na omenjenih lokacijah število listov v povprečju povečalo le za 3,10 v Bukovžlaku in le za 2,10 na odlagališču Vrhe.

Čas meritev je pomembno vplival tudi na število listov. Rastlinam v kontrolni skupini in v Kompolah se je število listov med posameznimi meritvami enakomerno povečevalo. Počasnejši prirast listov smo opazili pri sadikah z odlagališča Vrhe. Na lokaciji Bukovžlak so med prvimi tremi meritvami (obdobje šestih tednov) listi priraščali precej enakomerno, med tretjo in peto meritvijo se je rast novih listov upočasnila. Pri zadnjem merjenju najvišjih listov smo opazili, da so imele rastline s statistično značilno razliko v Kompolah v povprečju 2,17 lista več kakor rastline v Bukovžlaku in kar 3,17 listov več kakor rastline z odlagališča Vrhe (Tukey test, $P \leq 0,05$).

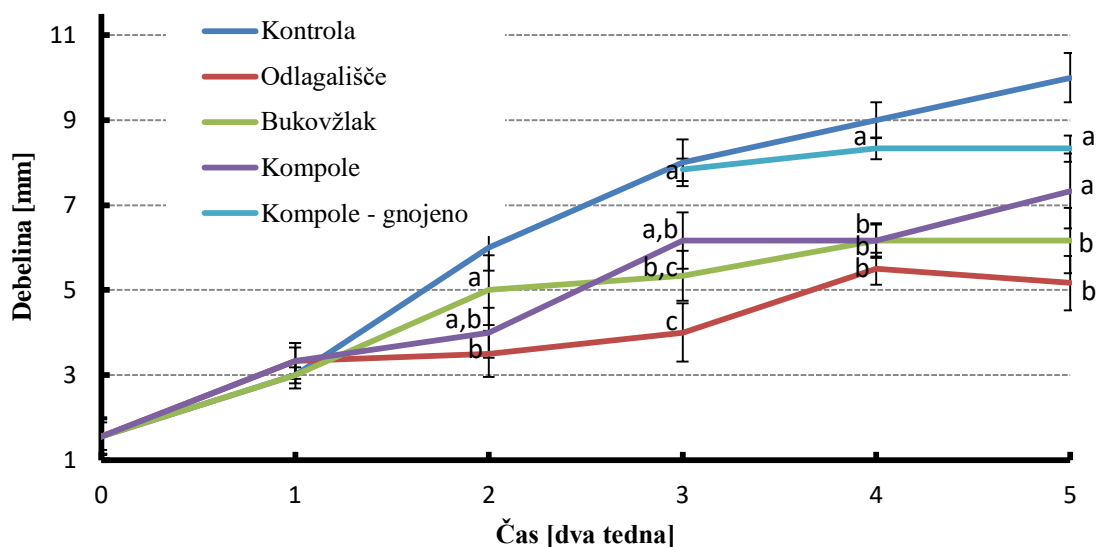


Slika 11: Primerjava števila listov treh najvišjih poganjkov v šopu miskantusa (število listov) posajenega na različnih lokacijah. Prikazane so povprečne vrednosti števila listov treh najvišjih poganjkov v šopu (\pm SD) izmerjene v dvotedenskih intervalih v času od junija do septembra 2015. Med seboj smo primerjali rastne parametre zbrane istočasno znotraj posameznega vzorčenja. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (ANOVA, Tukey HSD, $P \leq 0,05$; $N \geq 6$).

Na povprečno debelino stebela sta tako kot pri vseh ostalih izmerjenih parametrih rastlin pomembno vplivali neodvisni spremenljivki (slika 12). Najdebelejša stebela smo tekom meritev izmerili pri kontrolni skupini ter pri rastlinah v Kompolah, kjer so bila tla gnojena. V času poskusa se je povprečna debelina stebel v kontrolnem eksperimentu povečala za 8,4 mm oz. na gnojenih tleh v Kompolah za 6,8 mm. V Kompolah in Bukovžlaku so bila stebela v povprečju približno enako debela (približno 5 mm).

Najmanjši prirast v debelini stebel smo izmerili na odlagališču Vrhe, kjer se je debelina v povprečju povečala le za 3,6 mm.

Znotraj časovnega razpona meritev smo opazili, da so bila stebela v kontrolni skupini s statistično razliko najdebelejša ($p \leq 0,05$) in na odlagališču Vrhe najtanjša ($p \leq 0,019$). Med drugo in tretjo meritvijo smo opazili zanimiv preobrat. Pri drugem merjenju so bila stebela v Bukovžlaku v povprečju debelejša kakor v Kompolah, medtem ko so bila pri tretji meritvi stebela rastlin iz Kompol s statistično razliko debelejša od stebel iz Bukovžlaka. Med posameznimi meritvami je najbolj izstopala peta meritev. Pri zadnji meritvi so razlike med debelinami stebel statistično najznačilnejše (Tukey test, $P \leq 0,05$) med lokacijami Kompole, odlagališče Vrhe ter Bukovžlak, pri čemer je debelina stebel miskantusa v Kompolah v povprečju za 1,17 mm večja kakor v Bukovžlaku (Tukey test, $P = 0,039$) in kar za 2,17 mm večja od povprečne debeline stebel na odlagališču Vrhe (Tukey test, $P \leq 0,001$).



Slika 12: Primerjava debeline stebel treh najvišjih poganjkov v šopu miskantusa (debeline) posajenega na različnih lokacijah. Prikazane so povprečne vrednosti debeline treh najvišjih poganjkov v šopu (\pm SD) izmerjene v dvotedenskih intervalih v času od junija do septembra 2015. Med seboj smo primerjali rastne parametre zbrane istočasno znotraj posameznega vzorčenja. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (ANOVA, Tukey HSD, $P \leq 0,05$; $N \geq 6$).

Ugotovili smo, da so statistične razlike tako pri meritvah, lokacijah in njunem skupnem učinku ($P \leq 0,05$). Pokazali smo, da obstajajo statistično značilne razlike med

Urisk Gajšek, A.: Izboljšanje kakovosti onesnaženih tal na degradiranih območjih Celjske kotline s pomočjo energetske rastline *Miscanthus x giganteus*. Magistrsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za biologijo, 2020

lokacijami, meritvami in skupnem učinku. Ker je bila interakcija med meritvami in lokacijami statistično značilna, moramo poročati o »preprostih glavnih učinkih« (*ang. Simple main effects*).

5. RAZPRAVA

Kemikalije, ki so produkt človekove aktivnosti, prihajajo v okolje iz zelo različnih virov. Izmed vseh kemikalij so kovine tiste, ki najbolj bremenijo okolje in vstopajo v metabolizem bakterij, rastlin in živali. Največji problem onesnaževanja s kemikalijami je, da zlasti tal ne moremo več popolnoma očistiti. Naravi se ne da povrniti prvotne podobe tudi več desetletij potem, ko z onesnaževanjem prenehamo. Naša naloga je odkrivanje posledic učinkov kemikalij v okolju, za kar je potrebno vedeti, kakšno je bilo okolje prej, kakšno je sedaj in kakšno si želimo da bo (Drobne in Martinčič, 1997).

Industrializacija in njene posledice so močno spremenile okolje v celjski kotlini. Mnogo območij je degradiranih in neprimernih za kmetijsko rabo. Tudi kmetijske površine še zdaleč niso brez težkih kovin. V raziskavi smo izbrali tri različna območja, za katera smo menili, da so različno obremenjena s težkimi kovinami. Predpostavili smo, da so tla v Kompolah najmanj obremenjena, v Bukovžlaku bolj obremenjena, tla odlagališča pa najbolj obremenjena z vsebnostjo težkih kovin. Našo hipotezo smo z raziskavo potrdili. Ugotovili smo, da je na odlagališču Vrhe kar šest težkih kovin nad mejno vrednostjo, pri čemer je Zn nad kritično, kovine Cd, Pb in Cr nad opozorilno ter Ni in Cu nad mejno vrednostjo. Rezultati analize tal v Bukovžlaku so uvrstili tamkajšnja tla med srednje onesnažena, kar pet težkih kovin je bilo nad mejno vrednostjo, vsebnost As je bila nad kritično vrednostjo, vsebnost Zn, Cd, Pb in Cu pa nad opozorilno vrednostjo. Kot smo predvidevali, tla v Kompolah so se izkazala za najmanj obremenjena, le tri težke kovine so bile nad mejno vrednostjo in sicer Zn in Cd sta bila nad opozorilno, Pb pa nad mejno vrednostjo.

Z raziskavo lahko potrdimo, da so vsi trije tipi analiziranih tal primerni za sajenje z miskantusom, saj so na vseh treh območjih sadike več ali manj uspešno rastle na testnih poljih. Tla z največjim potencialom za fitoremediacijo z miskantusom so bila degradirana tla, rahlo obremenjena s težkimi kovinami (kot npr. Kompole in Bukovžlak). Opazili smo, da so rastline na takšnih tleh sorazmerno dobro uspevale kljub povišanim vsebnostim nekaterih težkih kovin. Zelo onesnažena tla s težkimi kovinami (kot npr. odlagališče Vrhe) so se v našem poskusu izkazala prav tako primerna za zasaditev z miskantusom. Rast na zelo obremenjenih tleh je bila sicer

manjša, vendar so poskus preživele vse sadike, ki še naprej uspevajo in kažejo na to, da bi lahko miskantus vključili tudi v fitoremediacijo bolj onesnaženih tal.

Rast na tleh odlagališča je bila najmanjša skozi celoten poskus. Poleg najnižjih listov treh najvišjih poganjkov smo zabeležili tudi najmanjši obseg šopa, najmanjšo debelino stebel in najmanjše število listov najvišjih treh poganjkov. V Kompolah so bila tla najmanj obremenjena s težkimi kovinami, to smo tako predvidevali kot tudi potrdili. Tamkajšnje sadike miskantusa so tako imele najbolj optimalne pogoje in posledično so najbolj uspevale. Beležili smo najvišje število poganjkov, največji obseg šopa, izmerili smo najvišje rastline in le-te so imele tudi najbolj številčne liste. Tla v Bukovžlaku smo uvrstili med srednje onesnažena tla, vendar so analize pokazale, da so tik za zelo obremenjenimi tlemi iz odlagališča Vrhe (glede na vsebnost težkih kovin). Kljub temu, so tam rastline razmeroma dobro uspevale. Rast sadik miskantusa smo na tej lokaciji ocenili kot malenkostno boljše od tistih z odlagališča Vrhe.

V raziskavi smo le deloma potrdili drugo delovno hipotezo. Vsebnost težkih kovin je bila na testnih poljih različna, vendar ne moremo z gotovostjo trditi, da so na lokaciji, kjer so bile v tleh najvišje rastline akumulirale težke kovine v največjem deležu. Ob koncu poskusa smo opazili, da je vsebnost težkih kovin najbolj upadla na tleh odlagališča, za katera smo ugotovili, da so vsebovala najvišje vsebnosti težkih kovin (npr. zmanjšale so se vsebnosti Zn za 614 mg/kg, Cd za 1,69 mg/kg, Pb za 68 mg/kg, Ni za 20 mg/kg, Cu za 38 mg/kg ter Cr za 155 mg/kg). Najmanjši upad deleža težkih kovin smo zabeležili v kompolskih negnojnih in gnojnih tleh (negnojna tla: zmanjšale so se vsebnosti Zn za 2 mg/kg, Cd za 0,03 mg/kg, Ni za 4 mg/kg, vsebnosti Pb in Cu sta ostali enaki, vsebnost Cr se je rahlo povešala). V Bukovžlaku so v trimesečnem obdobju upadle le vsebnosti Pb, Cu in As (konc. Pb se je znižala za 31 mg/kg, Cu za 41 mg/kg ter As za 9,4 mg/kg), ostale so se nekoliko povečale. Povišanje vsebnosti težkih kovin v tem obdobju pripisujemo predvsem naši napaki, verjetno so bili talni vzorci slabo oz. neenakomerno premešani. Težko bi trdili, da je prišlo v tem kratkem obdobju do močnega onesnaženja tal.

Smiselno bi bilo, da v prihodnje analiziramo še rastlinski material, s čimer bi ugotovili ali miskantus akumulira težke kovine, in če jih akumulira, v katerih rastlinskih delih so vsebnosti najvišje. Zanimivo bi bilo ugotoviti, kakšna je sezonska dinamika

Urisk Gajšek, A.: Izboljšanje kakovosti onesnaženih tal na degradiranih območjih Celjske kotline s pomočjo energetske rastline *Miscanthus x giganteus*. Magistrsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za biologijo, 2020

privzemanja in prerazporejanja med nadzemnim in podzemnim delom rastlin, ter raziskati vsebnosti težkih kovin glede na obremenjenost posamezne lokacije in stanje spremljati v daljšem časovnem obdobju.

6. SKLEPI

- Obremenjenost tal s težkimi kovinami je negativno povezana z rastjo miskantusa. Višja kot je vsebnost težkih kovin v tleh, manjša je rast miskantusa.
- Rastline miskantusa, ki so bile posajene na bolj onesnaženih tleh, so akumulirale najvišji delež težkih kovin.
- Rezultati kažejo, da je bila rast miskantusa tudi na najbolj obremenjenih tleh pozitivna, zato ocenjujemo, da so vsa degradirana območja na celjskem primerna za zasaditev z miskantusom.
- V Celjski kotlini so tla močno obremenjena s pretežno cinkom, kadmijem in svincem, ponekod pa tudi z arzenom, bakrom, nikljem in kromom.

7. ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Jani Ambrožič Dolinšek, da mi je pomagala izbrati aktualno temo ter za vso pomoč in nasvete med raziskovalnim delom in pri nastajanju magistrske naloge.

Somentorici dr. Vesni Bukovac se zahvaljujem za prijazno vodenje tekom raziskovalnega dela, in da mi je omogočila opravljanje laboratorijskega dela na Fakulteti za kmetijstvo in biosistemske vede.

Največja zahvala gre mojim staršem, ki so mi omogočili študij ter mi skozi celoten šolski proces vedno stali ob strani.

Hvala možu Primožu za neizmerno podporo in vso potrpežljivost. Hvala, da si mi pomagal leteti, ko moja krila niso več zmogla.

Posebna zahvala gre tudi gospodu Josipu Fabijanču in njegovemu podjetju Miskantus d.o.o. iz Murske Sobote, ki nam je podaril vse sadike miskantusa.

Hvala tudi vsem ostalim, ki ste mi pomagali med pisanjem magistrskega dela. Zahvaljujem se tudi Danici in Andreji, ki sta mi pomagali v laboratoriju. Hvala Urošu za pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

8. REFERNCE

Alloway, B.J . (1990). Heavy Metals in Soils. (str. 339) New York: John Wiley & Sons, Inc., London and Glasgow.

Anderson, E., Arundale, E., Maughan, M., Oladeinde, A., Wycislo, A. in Voigt, T. (2014). Growth and agronomy of *Miscanthus x giganteus* for biomass production, *Biofuels*, 2(1), str. 71-75.

Boersma, N. N. in Heaton, E. A. (2011). Effects of temperature, illumination and node position on stem propagation of *Miscanthus x giganteus*, *GCB Bioenergy*, 4(6), str. 680-687.

Bukovac, V. in Muršec, M. (2017). Sledenje onesnaženja s cinkom v ekosistemu vinograda. (str. 31-37) Pivola: Univerzitetna založba Univerze v Mariboru.

Chibuike, G. U . in Obiora, S.C. (2014). Heavy Metal Polluted Soil: Effect on Plants and Bioremediation Methods. *Applied and Environmental Soil Science*, 14(12), str. 1-2.

Pridobljeno 15.5.2017, iz <https://www.hindawi.com/journals/aess/2014/752708/cta/>

Chłopecka, A. in Adriano, D. C. (1997). Zinc uptake by plants an amended polluted soils. *Soil Science and Plant Nutrition*, 43, str. 1031-1036.

Dahlin, S., Witter, E., Martensson, A., Turner, A. in Baath, A. (1997). Where is the limit? Changes in the microbiological properties of agricultural soils at low levels of metal contamination. *Soil Biology and Biochemistry*, 29(9-10), str. 1405-1415.

Di Toppi, L. S. in Gabbrielli, R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany*, 41(2), str. 105-130.

Drobne, D. in Martinčič, A. (1997). Odločitve o okoju – odločitve o življenju. Projekt Evropskega leta varstva narave 1995: Kemizacija okolja in življenja – do katere meje? (str. 32) Ljubljana: Slovensko ekološko gibanje.

Dolinšek, A. J. (2007). Rastline in razstrupljanje okolja, onesnaženega s težkimi kovinami. *Proteus*, 70(2), str. 57-63.

Urisk Gajšek, A.: Izboljšanje kakovosti onesnaženih tal na degradiranih območjih Celjske kotline s pomočjo energetske rastline *Miscanthus x giganteus*. Magistrsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za biologijo, 2020

Evans, L. J. (1989). Chemistry of metal retention by soils. *Environmental Science and Technology*, 23, str. 1046-1056.

FAO (1999). CGIAR Research Priorities for Marginal Lands. Consultative Group on International Agricultural Research (CGIAR). Pridobljeno 23.1.2018, iz <http://www.fao.org/Wairdocs/TAC/X5784E/x5784e00.htm#Contents>

Houben, D. (2013). Heavy metal mobility in contaminated soils as affected by plants, amendments and biochar. Implication for phytostabilization. Louvain, UCL, Universite catholique de Louvain, 1, str. 1-4.

Ivanuša, A. (2012). Pridobljeno 26. 3. 2018 iz: <http://www.andros.si/doc/D16-juzna-proga.pdf>.

Jha, A. B., Misra, A. N., Sharma, P. (2017). Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Soil Using Bioenergy Crops. *Phytoremediation Potential of Bioenergy Plants*. (3: str. 64-65) Singapore: Springer.

Kabata-Pendias, A. in Pendias, H. (2001). Trace elements in soils and plants. 3rd edition (str. 413). Florida: CRC Press LLC, Boca Raton.

Karp, A. in Shield, I. (2008). Bioenergy from plants and the sustainable yield challenge. *New Phytologist*, 179(1), str. 15-32.

Kocon, A. in Jurga, B. (2017). The evaluation of growth and phytoextraction potential of *Miscanthus x giganteus* and *Sida hermaphrodita* on soil contaminated simultaneously with Cd, Cu, Ni, Pb and Zn. *Environ Sci Pollut Res* (24: str. 4990-5000). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

Leštan, D., Zupan, M., Hudnik, V., Lobnik, F. (1997). Kemikalije v tleh. Projekt Evropskega leta varstva narave 1995: Kemizacija okolja in življenja – do katere meje? (str. 32) Ljubljana: Slovensko ekološko gibanje.

Leštan, D. (2010). Remediacija zemljine z območja stare cinkarne v Celju. Onesnaženost okolja in naravni viri, kot omejitveni dejavniki razvoja v Sloveniji -

Urisk Gajšek, A.: Izboljšanje kakovosti onesnaženih tal na degradiranih območjih Celjske kotline s pomočjo energetske rastline *Miscanthus x giganteus*. Magistrsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za biologijo, 2020

modelni pristop za degradirana območja: zbornik 1. konference. (str. 161-169) Celje: Inštitut za okolje in prostor.

Lovrenčak, F. (2003). Osnove biogeografije (str. 410). Ljubljana: Znanstvena založba Filozofske fakultete Univerze v Ljubljani.

Masarovičová, E. in Kráľová, K. (2012). Plant-Heavy Metal Interaction: Phytoremediation, Biofortification and Nanoparticles, Advances in Selected Plant Physiology Aspects (str. 66). Rijeka: InTech Europe.

Matyka, M. (2013). Production and economic aspects of cultivation of perennial crops for energypurposes. Monographs and dissertations. IUNG-PIB Puławy 35, str. 1-9.

Moosavi, S. G. in Seghatoleslami, M. J. (2013). Phytoremediation: a review, Advance in Agriculture and Biology, 1, str. 5-11.

Nacionalni program varstva okolja – NPVO (uradno prečiščeno besedilo (ZVO-1). Uradni list RS, št. 83/99 in 41/04.

Nawab, J., Khan, S., Aamir, M., Shamshad, I. in Qamar, Z. (2016). Organic amendments impact the availability of heavy metal(loid)s in mine impacted soil and their phytoremediation by *Penisitum americanum* and *Sorghum bicolor*. Environmental Science and Pollution Research, 23, str. 2381-2390.

Nsanganwimana, F., Pourrut, B., Waterlot, C., Louvel, B., Bidar, G., Labidi, S., Fontaine, J., Muchembled, J., Sahraoui A. L. H., Fourrier, H., Douay, F. (2015) Metal accumulation and shoot yield of *Miscanthus x giganteus* growing in contaminated agricultural soils: insights into agronomic practices. Agriculture, Ecosystems & Environment, 213, str. 61-71.

Pogrzeba, M., Rusinowski, S., Sitko, K., Krzyzak, J., Skalska, A., Malkowski, E., Ciszek, D., Werle, S., McCalmont, J. P., Mos, M., Kalaji, H. M. (2017). Relationships between soil parameters and physiological status of *Miscanthus x giganteus* cultivated on soil contaminated with trace elements under NPK fertilisation vs. microbial inoculation. Environmental Pollution, 225: str. 163-174.

Urisk Gajšek, A.: Izboljšanje kakovosti onesnaženih tal na degradiranih območjih Celjske kotline s pomočjo energetske rastline *Miscanthus x giganteus*. Magistrsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za biologijo, 2020

Raskin, I., Smith, RD., Salt, DE. (1997). Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biotechnology*, 8, str. 221-226.

Razzaq, R. (2017). Phytoremediation: An Environmental Friendly Technique – A Review. *Journal of Environmental Analytical Chemistry* 4(2), str. 195.

Romih, N., Grabner, B. in Ribarič, L. C. (2012). Remediacija onesnaženih tal s težkimi kovinami, IOP. Pridobljeno 16.5.2017, iz http://arhiv.kis.si/datoteke/file/kis/SLO/MEH/Biomasa/PRIROCNIK_IOP-1.pdf.

Sharma, S. S. in Dietz, K. J. (2006). The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J Exp Bot*, 57(4): str. 711-726.

Stanislawski-Glubiak, E., Korzeniowska, J. in Kocon, A. (2015). Effect of peat on the accumulation and translocation of heavy metals by maize growth in contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, str. 4706-4714.

The European Parliament, and the council of the European Union. (2009). Directive 2009/28/EC of the European Parliament and of the council. *Offic. J. Euro. Union* L140, str. 16–62.

Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh (neuradno prečiščeno besedilo). *Uradni list RS*, št. 68/96 z dne 29. 11. 1996.

Vodnik, D., Batič, F., Krajnc, A. U. (2012). *Osnove fiziologije rastlin*. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo.

Zakon o varstvu okolja (uradno prečiščeno besedilo) (ZVO-1-UPB1). *Uradni list RS*, št. 41/04.

Zupan, M., Grčman, H., Lobnik F. (2006). Raziskave onesnaženosti tal Slovenije v letu 2006 (str. 19-23). Ljubljana: Agencija RS za okolje.

Železarski muzej Štore, različni avtorji. (2014). *Zgodovina rudarstva in železarstva v Štorah*. Pridobljeno 28. 3. 2018, iz:

Urisk Gajšek, A.: Izboljšanje kakovosti onesnaženih tal na degradiranih območjih Celjske kotline s pomočjo energetske rastline *Miscanthus x giganteus*. Magistrsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za biologijo, 2020

http://zelezarski-muzej.si/novo/wp-content/uploads/2016/10/Zgodovina_rudarstva_in_zelezarstva_v_Storah.pdf.

Žibret, G., in Šajn, R. (2006). Razširjenost onesnaženja s cinkom in kadmijem v Celjski kotlini. *Materials and Geoenvironment*, 52(3): str. 561-569.

Wanat, N. (2011). Potential adaptation of *Miscanthus x giganteus* for the phytoremediation of a former mine site highly contaminated. *Soil study* (str. 31). Limoges: University of Limoges.

Wanat, N., Austruy, A., Joussein, E., Soubrand, M., Hitmi, A., Moussard, C. g., Lenain, J. f., Vernay, P., Munch, J. C., Pichon, M. (2013). Potentials of *Miscanthus × giganteus* grown on highly contaminated Technosols. *Journal of Geochemical Exploration*, 126-127: str. 78-84.

Werle, S. (2014). Sewage sludge gasification: theoretical and experimental investigation. *Environmental Protection Engineering* (39: str. 25-32). Gliwice: Poland.

Werle, S., Biscorca, D., Wozniak, A. K., Pogrzeba, M., Krzyzak, J., Klosinska, I. R., Burnete, D. (2016). Phytoremediation as an effective method to remove heavy metals from contaminated area – TG/FT-IR analysis result of the gasification of heavy metal contaminated energy crops. *Journal of the Energy Institute*, 1(2), str. 3-4.

Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q. in Ma, L. Q. (2006). Accumulation of Pb,Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment*, 368, str. 456-464.