

VEREIN  
DEUTSCHER  
INGENIEURE

Biologische Messverfahren zur Ermittlung und  
Beurteilung der Wirkung von Luftverunreinigungen  
(Biomonitoring)

VDI 3957  
Blatt 21 / Part 21

Ermittlung phytotoxischer Wirkungen von  
Immissionen anhand der Exposition  
der Blattflechte *Hypogymnia physodes*

Biological measuring techniques  
for the determination and evaluation  
of effects of air pollutants (biomonitoring)

Evaluation of phytotoxic effects of ambient air pollutants  
with lichen exposure of *Hypogymnia physodes*

Ausg. deutsch/englisch  
Issue German/English

*Der Entwurf dieser Richtlinie wurde mit Ankündigung im Bundes-  
anzeiger einem öffentlichen Einspruchsverfahren unterworfen.*

*Die deutsche Version dieser Richtlinie ist verbindlich.*

*The draft of this standard has been subject to public scrutiny  
after announcement in the Bundesanzeiger (Federal Gazette).*

*The German version of this standard shall be taken as authori-  
tative. No guarantee can be given with respect to the English  
translation.*

Inhalt	Seite	Contents	Page
Vorbemerkung .....	2	Preliminary note.....	2
Einleitung .....	2	Introduction.....	2
<b>1 Anwendungsbereich</b> .....	<b>4</b>	<b>1 Scope</b> .....	<b>4</b>
<b>2 Normative Verweise</b> .....	<b>5</b>	<b>2 Normative references</b> .....	<b>5</b>
<b>3 Begriffe</b> .....	<b>5</b>	<b>3 Terms and definitions</b> .....	<b>5</b>
<b>4 Grundlage des Verfahrens</b> .....	<b>6</b>	<b>4 Basics of the method</b> .....	<b>6</b>
<b>5 Durchführung des Verfahrens</b> .....	<b>7</b>	<b>5 Implementation of the method</b> .....	<b>7</b>
5.1 Beschreibung der verwendeten Flechtenart .....	7	5.1 Description of the lichen species used .....	7
5.2 Vorbereitung .....	8	5.2 Prearrangement.....	8
5.3 Exposition .....	10	5.3 Exposure .....	10
<b>6 Ermittlung der Messwerte</b> .....	<b>11</b>	<b>6 Determination of the measuring values</b> .....	<b>11</b>
<b>7 Datenauswertung</b> .....	<b>12</b>	<b>7 Data analysis</b> .....	<b>12</b>
<b>8 Datenbewertung und Interpretation</b> .....	<b>16</b>	<b>8 Data evaluation and interpretation</b> .....	<b>16</b>
8.1 Spezifität und Selektivität .....	17	8.1 Specificity and selectivity.....	17
8.2 Interpretation.....	17	8.2 Interpretation .....	17
Schrifttum .....	19	Bibliography .....	19

VDI/DIN-Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) – Normenausschuss

Fachbereich Umweltqualität

VDI/DIN-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 1a: Maximale Immissions-Werte

## Vorbemerkung

Der Inhalt dieser Richtlinie ist entstanden unter Beachtung der Vorgaben und Empfehlungen der Richtlinie VDI 1000.

Alle Rechte, insbesondere die des Nachdrucks, der Fotokopie, der elektronischen Verwendung und der Übersetzung, jeweils auszugsweise oder vollständig, sind vorbehalten.

Die Nutzung dieser Richtlinie ist unter Wahrung des Urheberrechts und unter Beachtung der Lizenzbedingungen ([www.vdi.de/richtlinien](http://www.vdi.de/richtlinien)), die in den VDI-Merkblättern geregelt sind, möglich.

Allen, die ehrenamtlich an der Erarbeitung dieser Richtlinie mitgewirkt haben, sei gedankt.

Eine Liste der aktuell verfügbaren Blätter dieser Richtlinienreihe ist im Internet abrufbar unter [www.vdi.de/3957](http://www.vdi.de/3957).

## Einleitung

Zur Ermittlung und Beurteilung der Wirkung von Luftverunreinigungen auf Organismen wurden biologische Messverfahren entwickelt. Es werden verschiedene Organismen als Bioindikatoren eingesetzt, die eine enge Dosis-Wirkungs-Beziehung zu bestimmten Immissionsituationen aufweisen.

Für die Bioindikation der Wirkung von Luftverunreinigungen werden Flechten seit Jahrzehnten zum aktiven und passiven Monitoring herangezogen. Aufgrund ihrer hohen Empfindlichkeit gegenüber Luftverunreinigungen bieten sie Vorteile, die bei Gefäßpflanzen und den meisten Tierarten nicht gegeben sind (siehe Abschnitt 4).

In der Praxis des Biomonitorings von Luftverunreinigungen mit Flechten hat sich für den Fall, dass aufgrund hoher Immissionsbelastung in einem Untersuchungsgebiet nur noch wenige Flechtenarten vorhanden sind oder ihr Vorkommen durch Mangel an geeignetem Substrat (Bäume) limitiert ist, das Vorgehen mit der „Standardisierten Flechtenexposition“ bewährt. Bei dieser Methode sind innerhalb des Expositionszeitraums (ein Jahr) sowohl der zeitliche Verlauf als auch die räumliche Verteilung immissionsbedingter Schädigungen darstellbar. Das Expositionsverfahren zielt damit auf eine Erfassung der aktuellen Immissionswirkung, während sich die Flechtenkartierung (VDI 3957 Blatt 13) eher zur Überprüfung langfristiger Belastungssituationen eignet.

Die unter anderem auf Eichen weit verbreitete Blattflechte *Hypogymnia physodes* hat sich für die Exposition in vielen Untersuchungen bewährt und wurde deshalb in dem im Vorgängerdokument VDI 3799 Blatt 2 beschriebenen Verfahren verwendet.

## Preliminary note

The content of this standard has been developed in strict accordance with the requirements and recommendations of the standard VDI 1000.

All rights are reserved, including those of reprinting, reproduction (photocopying, micro copying), storage in data processing systems and translation, either of the full text or of extracts.

The use of this standard without infringement of copyright is permitted subject to the licensing conditions ([www.vdi.de/richtlinien](http://www.vdi.de/richtlinien)) specified in the VDI Notices.

We wish to express our gratitude to all honorary contributors to this standard.

A catalogue of all available parts of this series of standards can be accessed on the Internet at [www.vdi.de/3957](http://www.vdi.de/3957).

## Introduction

Biological measuring techniques have been developed to determine and evaluate the effect of air pollutants on organisms. Various organisms are used as bioindicators, which exhibit a close dose-response relationship to particular immissions.

For decades, lichens have been employed as bioindicators in active and passive monitoring of air pollution effects. Due to their high sensitivity to air pollutants, they offer advantages not at hand in vascular plants and most animal species (see Section 4).

In some cases where only a few lichen species are present due to high immissions or to a lack of suitable substrates (trees), the “standardized lichen exposure” for biomonitoring has proved effective. This method allows time-space analyses of air pollution-related damage to lichens within an exposure time of one year. This exposure method aims to determine the current immission effect, while lichen mapping (VDI 3957 Part 13) is more suitable to examine long-term stress situations.

The widespread foliose lichen *Hypogymnia physodes*, which grows, among other substrata, on oak, has proved its usability in many lichen exposure studies and was therefore employed in the procedure described in Standard VDI 3799 Part 2.

Im Verlauf der letzten Jahrzehnte haben sich nun Art und Konzentration der Luftverunreinigungen stark gewandelt. So wurde in Mitteleuropa seit den 1980er-Jahren die Konzentration saurer Schadgase erfolgreich reduziert. Gleichzeitig lässt die verstärkte Wirkung luftgetragener Nährstoffverbindungen, insbesondere Stickstoffverbindungen und Stäube, auf eine weiterhin hohe Eutrophierung der Umwelt schließen. Diese erweist sich zunehmend als Problem. Auf 48 % der Fläche der Bundesrepublik Deutschland ist die kritische Belastungsgrenze (Critical Loads) für reaktiven Stickstoff (hiermit sind oxidierte und reduzierte Stickstoffverbindungen wie  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NH}_3$  gemeint) überschritten [1]. Die negativen Wirkungen dieser Eutrophierung wurden vielfach beschrieben [2 bis 4].

Infolge der gewandelten Immissionssituation hat sich der epiphytische Flechtenbestand in mitteleuropäischen Ballungsgebieten stark zugunsten eutrophierungstoleranter Arten verändert [5 bis 14], da die meisten Flechten empfindlich auf bestimmte Stickstoffverbindungen reagieren, z.B. Ammoniak, der bei landwirtschaftlicher Tierhaltung und in geringerer Menge in Abgaskatalysatoren von Kraftfahrzeugen entsteht [15]. Je höher die Ammoniakimmission oder die Verkehrsbelastung eines Standorts, desto höher ist der Anteil von Nährstoffzeigerarten, während gegenüber Eutrophierung empfindliche Flechtenarten weniger häufig nachgewiesen werden [5; 6; 16; 17]. Die hier verwendete *Hypogymnia physodes* zählt zu den eutrophierungsempfindlichen Arten [18; 19].

Bei Jahresmittelwerten für  $\text{SO}_2$  in Mitteleuropa unter  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  Luft wird in der Regel auch der kritische Wert zum Schutz der Vegetation ( $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) eingehalten. Die Abnahme der Konzentration saurer Luftverunreinigungen in der Luft – insbesondere ihrer Leitkomponente Schwefeldioxid – führte dazu, dass bei den nach VDI 3799 Blatt 2 exponierten Flechten der Art *Hypogymnia physodes* in den vergangenen Jahren keine oder nur noch geringe Verfärbungen (Chlorosen) und Absterberscheinungen (Nekrosen) an den Thalli auftraten. Das Wirkungskriterium „Schädigungsgrad der Flechten“ lag mit wenigen Ausnahmen meist unterhalb eines Werts von 10 %. Damit war ein Immissionseinfluss nach VDI 3799 Blatt 2 nicht mehr nachweisbar und eine allein auf Säureeintrag zurückzuführende Interpretation erwies sich somit als nicht mehr zielführend für die Beurteilung der Immissionsbelastung.

Die hier vorgestellte Methode trägt dieser veränderten Immissionssituation Rechnung. Die standardisierte Flechtenexposition ermöglicht damit die Ermittlung der aktuellen Belastung eines Standorts durch

Over the past few decades, the nature and concentration of air pollutants have changed considerably. Thus, the concentration of acidic noxious gases has been successfully reduced in Central Europe since the 1980s. At the same time, the increased effect of airborne nutrient compounds, in particular nitrogen compounds and dusts, suggests that the environment continues to be highly eutrophicated which is increasingly proving to be a problem. For example, on 48 % of the area of the Federal Republic of Germany, the critical load limit (critical loads) for reactive nitrogen (meaning oxidized and reduced nitrogen compounds such as  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NH}_3$ ) is exceeded [1]. The negative effects of this have been described many times [2 to 4].

As a result of the altered immission situation, the epiphytic lichen population in Central European metropolitan areas has changed greatly in favour of eutrophication-tolerant species [5 to 14], since most lichens are sensitive to certain nitrogen compounds, such as ammonia, which is produced in agricultural animal husbandry and to a lesser extent by catalytic converters in motor vehicles [15]. The higher the ammonia immission or the traffic load of a site, the higher the proportion of nutrition indicator species, while lichen species sensitive to eutrophication are less often recorded [5; 6; 16; 17]. The lichen *Hypogymnia physodes* used here is one of the eutrophication sensitive species [18; 19].

With annual average values for  $\text{SO}_2$  in Central Europe below  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  of air, the critical value for the protection of the vegetation ( $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) is generally adhered to. The decrease in the concentration of acid air pollutants in the air, in particular their key component sulphur dioxide, caused, in the past years, no or only slight discolorations (chlorosis) and death phenomena (necrosis) in thalli of the lichen species *Hypogymnia physodes* exposed according to VDI 3799 Part 2. The effect measuring criterion “degree of damage of the lichen thalli” amounted, at few exceptions, usually below a value of 10 %. Thus, an immission influence according to VDI 3799 Part 2 was no longer detectable, and an interpretation based solely on acid entry proved to be no longer appropriate for the assessment of the pollution load.

The method presented here takes into account this changed immission situation. The standardized lichen exposure thus enables the determination of the current load of a site by both

- saure Luftverunreinigungen (mit den Leitkomponenten „Schwefeldioxid“ und „Stickstoffoxide“) und darüber hinaus durch
- eutrophierende Immissionen, insbesondere bioverfügbare Stickstoffverbindungen.

unter Einbeziehung möglicher Wechselwirkungen der Schadstoffe sowie anderer Standortbedingungen. Dies geschieht immer im Vergleich zu anderen Expositionsorten, da es keine absolute Schadenssymptomatik gibt, die einen direkten Rückschluss von der geschädigten Thallusfläche und Vorkommen/Konzentration eines bestimmten Schadstoffs zulässt.

Weiterhin stellt die Methode eine erprobte Vorgehensweise dar, um anhand von Analysen exponierter Flechten die immissionsbedingte Anreicherung von Schadstoffen nachzuweisen und ihre räumliche und zeitliche Dimension zu beschreiben [20].

## 1 Anwendungsbereich

Das Ziel der hier beschriebenen Methode der standardisierten Exposition von *Hypogymnia physodes* ist die räumlich differenzierte Erfassung einer sichtbaren phytotoxischen Wirkung von Immissionen auf die ausgebrachten Flechten. Die Methode ist geeignet zur Überwachung der Umgebung von Punktquellen (Schornstein) und Linienquellen (Straßen) oder großräumig belasteter Gebiete.

Prinzipiell sind zwei Arten der Untersuchung möglich, die bei längerfristigen Monitoringprogrammen auch kombiniert werden können:

- Untersuchungsziel „Standortvergleich“  
Standortvergleich hinsichtlich der Flechtenschäden; das Ergebnis sind *relative Unterschiede der Schädigungsgrade* zu einem Zeitpunkt (Ende des Expositionszeitraums).
- Untersuchungsziel „Trendmonitoring“  
Betrachtung eines Standorts: Schadentwicklung oder Regeneration an einer Expositionsstelle über die Zeit; hierbei wird die gleiche Stichprobe nach bestimmten Zeiträumen untersucht (Zwischenbonitur).

Bei jeweils einer Betrachtungsweise liegt ein einfaktorischer, bei simultaner Betrachtung ein zweifaktorieller Ansatz vor, was sowohl auswertetechnisch als auch im Hinblick auf die Teststatistik Berücksichtigung finden muss.

Anwendungsbeispiele sind:

- Umgebungsüberwachung einer Industrieanlage
- Ermittlung der Immissionswirkungen im Umfeld von Straßen oder großer Tierhaltungsbetriebe

- acidic air pollutants (with the leading components “sulphur dioxide” and “nitrogen oxides”) and, furthermore, by
- eutrophying immissions, in particular bioavailable nitrogen compounds.

whilst taking into account possible interactions of pollutants and other site conditions. This is always performed in comparison to other exposure sites, since there is no absolute symptomatology, which would allow, from the damaged thallus area, for a direct inference of the presence or concentration of a certain pollutant.

Furthermore, this method represents a tried-and-tested procedure for demonstrating the immission-related accumulation of pollutants and for describing their spatial and temporal dimensions by analysing exposed lichens [20].

## 1 Scope

The aim of the standardized exposure of *Hypogymnia physodes* as described here is the spatially differentiated detection of a visible phytotoxic effect of immissions on exposed lichen thallus samples. The method is suitable for monitoring the environment of point sources (chimney) and line sources (roads) or of areas polluted on larger scale.

In principle, two types of investigation are possible which can also be combined in long-term monitoring programs:

- Study objective “location comparison”  
Comparison of different sites as to lichen damage; the result here is *the relative differences in the levels of damage* at a certain time point (end of the exposure period).
- Study objective “trend monitoring”  
Examination of a single location; damage development or regeneration at an exposure site over time; in this case, the same sample is examined after certain periods (interim rating).

Each of them is a one-factorial approach, but when considered simultaneously it is a two-factorial approach in terms of both data analysis and the choice of statistical tests.

Examples of application are:

- environmental monitoring of an industrial plant
- examination of immission effects in the vicinity of roads or large livestock farms

- Überprüfung der Wirksamkeit von Emissionsminderungsmaßnahmen
- Einsatz zur Beweissicherung (Umweltverträglichkeitsprüfung (UVP), Umwelthaftungsgesetz)

Des Weiteren stellen Stickoxide (NO<sub>x</sub>), Ammoniak (NH<sub>3</sub>) und Schwefeldioxid (SO<sub>2</sub>) als Vorläufergase für sekundär gebildete Partikeln und ihre Umwandlung in Sulfat-Ionen und pflanzenverfügbare Stickstoffverbindungen wie Ammoniumnitrat/-nitrit und -sulfat eine starke Belastung für empfindliche Ökosysteme (z.B. Waldökosysteme und Hochmoorhabitate) dar. Dies gilt vor allem für Regionen im Staubereich von Mittelgebirgen und den Alpen, die durch Schadstoffe in Form von trockener und insbesondere nasser Deposition besonders stark belastet sind. Flechten reagieren besonders sensitiv auf Luftschadstoffe mit abgestuften und quantifizierbaren sichtbaren Schädigungen. Somit ist es mithilfe der Flechtenexposition möglich, die nicht sichtbaren Störungen anderer Organismen (z.B. Mykorrhizapilze, Bäume, Torfmoos) abzuschätzen. Dies ist besonders bedeutsam für Schutzgebiete, die nach der Fauna-Flora-Habitat-Richtlinie (FFH-Richtlinie) ausgewiesen wurden (Verschlechterungsverbot) und die dem Einfluss erhöhter Stickstoff- und Aerosolimmissionen ausgesetzt sind.

## 2 Normative Verweise

Das folgende zitierte Dokument ist für die Anwendung dieser Richtlinie erforderlich:

VDI 3957 Blatt 1:2014-09 Biologische Messverfahren zur Ermittlung und Beurteilung der Wirkung von Luftverunreinigungen auf Pflanzen (Biomonitoring); Grundlagen und Zielsetzung

- verification of the effectiveness of emission reduction measures
- preservation of evidence (Environmental Impact Assessment (EIA), Environmental Liability Act)

Nitrogen oxides (NO<sub>x</sub>), ammonia (NH<sub>3</sub>) and sulphur dioxide (SO<sub>2</sub>) put another heavy burden on sensitive ecosystems (e.g. forest ecosystems and upland moor habitats), since they serve as precursors for secondarily formed particles and can also be converted into sulphate ions and plant-available nitrogen compounds such as ammonium nitrate, -nitrite, and -sulphate. This applies in particular to regions in the windward side of low mountain ranges and the Alps, which are particularly heavily loaded by pollutants in the form of dry and especially wet deposition. Lichens react particularly sensitive to airborne pollutants with graded and quantifiable visible damage. Thus, with the help of lichen exposure it is possible to estimate the invisible disturbances of other organisms (e.g. mycorrhizal fungi, trees, peat moss). This is particularly important for protected areas designated under the Fauna-Flora-Habitats Directive (Habitats Directive; prohibition of deterioration) which are exposed to the influence of increased nitrogen and aerosol immissions.

## 2 Normative references

The following referenced document is indispensable for the application of this standard:

VDI 3957 Part 1:2014-09 Biological measuring techniques for the determination and evaluation of effects of air pollutants on plants (biomonitoring); Fundamentals and aims