

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE
ŠTUDIJSKI PROGRAM BIODIVERZITETA

Liljana RUŠNJAK

VPLIV ONESNAŽIL V PRIOBALNEM PASU NA ZAVIRANJE
RASTI MORSKE IN BRAKIČNE MAKROALGE CERAMIUM
TENUICORNE

Zaključna naloga

(Mentor: doc. dr. Elena Varljen Bužan)

Koper, 17. september 2012

KAZALO

1	POVZETEK.....	6
2	UVOD.....	8
2.1	Namen.....	12
2.2	Opis območja raziskave in možni viri onesnaženja.....	12
2.3	Pregled objav.....	19
2.3.1	Splošno o algi <i>Ceramium tenuicorne</i>	19
2.3.1.1	Taksonomska razvrstitev:.....	19
3	MATERIAL IN METODE DELO.....	21
3.1	Opis vzorčnega območja.....	21
3.1.1	Reka Dragonja.....	21
3.1.2	Reka Drnica.....	24
3.1.3	Reka Badaševica.....	24
3.1.4	Reka Rižana.....	25
3.2	MATERIAL.....	25
3.2.1	Vode.....	25
3.2.1.1	Vzorec reke Rižane.....	26
3.2.1.2	Vzorec reke Badaševice.....	26
3.2.1.3	Vzorec reke Drnice.....	26
3.2.1.4	Vzorec reke Dragonje.....	26
3.2.1.5	Opis in pomen terenskih meritev.....	28
3.2.1.5.1	pH.....	28
3.2.1.5.2	Temperatura vode in zraka.....	29
3.2.1.5.3	Slanost.....	29
3.2.1.5.4	Kisik.....	30
3.2.2	Testni organizmi.....	30
3.2.3	Naravna morska voda.....	31
3.2.4	Umetna morska voda.....	31
3.2.5	Hranila.....	32
3.2.5.1	Raztopina dušika.....	32

3.2.5.2	Raztopina fosforja.....	32
3.2.5.3	Raztopina železa	33
3.2.5.4	Raztopina elementov v sledovih.....	33
3.2.5.5	Raztopina vitaminov	33
3.2.6	Standardna raztopina	33
3.2.7	Pripomočki	34
3.3	METODE.....	35
3.3.1	Razvoj testnih organizmov	35
3.3.2	Test s standardno raztopino $ZnSO_7 \cdot 7H_2O$	35
3.3.2.1	Postopek izpostavitve testnih organizmov s standardno raztopino	35
3.3.3	Poskus zaviranja na vzorcu	37
4	REZULTATI Z DISKUSIJO	37
4.1	Meritve na terenu	37
4.2	Monitoring rek.....	38
4.3	Laboratorijske analize.....	43
4.3.1	Test zaviranja s standardno raztopino $ZnSO_7 \cdot 7H_2O$	43
4.3.2	Test zaviranja v rekah	45
5	ZAKLJUČEK	50
6	LITERATURA IN VIRI.....	52

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1:	Glavne poti vstopa v površinske vode (prirejeno po)	11
Preglednica 2:	Statistični podatki kmetijskih površin na prostem po posameznih občinah iz leta 2000 (Bolčič, 2000)	13
Preglednica 3:	Prednosti toksičnih testov (prirejeno po)	17
Preglednica 4:	Omejitve toksičnih testov (prirejeno po).....	18
Preglednica 5:	Sestava mikro im makro komponent (Nyabakken, 1997).....	29
Preglednica 6:	Umetna morska voda 100 S	32
Preglednica 7:	Raztopina elementov v sledovih	33
Preglednica 8:	Raztopina vitaminov	33
Preglednica 9:	Raztopine za izpostavitve testnih organizmov	34
Preglednica 10:	Rezultati terenskih meritev.....	37

Preglednica 11: Ocena vnosa v obalno morje R Slovenije z reko Rižano v letih od 2003 do 2011 (ARSO).....	39
Preglednica 12: Ocena vnosa v obalno morje R Slovenije z reko Badaševico v letih od 2003 do 2011 (ARSO).....	39
Preglednica 13: Ocena vnosa v obalno morje R Slovenije z reko Drnico v letih od 2003 do 2011 (ARSO).....	40
Preglednica 14: Ocena vnosa v obalno morje R Slovenije z reko Dragonjo v letih od 2003 do 2011 (ARSO).....	40
Preglednica 15: Povprečna stopnja rasti <i>C. tenuicorne</i> v standardni raztopini in kontroli ter odstotek zaviranja.....	44
Preglednica 16: Primerjalni test iz leta 2006, kjer je sodelovalo 6 laboratorijev	45
Preglednica 17: Zbrani podatki iz 6 laboratorijev, ki uporabljajo lastne standarde, izračun EC50.....	45
Preglednica 18: Zbrani podatki iz 6 laboratorijev, ki uporabljajo lastne standarde, izračun EC20.....	45
Preglednica 19: Zaviranje rasti.....	46
Preglednica 20: Zaviranje rasti.....	47
Preglednica 21: Zaviranje rasti.....	48

KAZALO SLIK

Slika 1: Batimetrična karta – globine slovenskega morja (www.hidrografija.si)	9
Slika 2: Morski tokovi v Tržaškem zalivu (www.hidrografija.si)	10
Slika 3: Hidrografska območja z več kot 5 % zemljišč, namenjenih posebnim kulturam (vinogradi, sadovnjaki, hmeljišča)	14
Slika 4: Opredelitev okoljske problematike v kmetijstvu (Rejec Brancelj, 2001).....	15
Slika 5: Reke Drnica, Dragonja, Badaševica in Rižana (http://gis.arso.gov.si).....	21
Slika 6: Koprski zaliv, vzorčenje rek Badaševice in Rižane (Google earth)	23
Slika 7: Piranski zaliv, vzorčenje rek Drnice in Dragonje (Google earth).....	23
Slika 8: Vzorčenje na izlivu reke Badaševice v morje (L. Rušnjak)	24
Slika 9: Izliv reke Rižane v morje (L. Rušnjak).....	25
Slika 10: Plimovanje v slovenskem morju (www.arso.gov.si)	27
Slika 11: Terenski merilec Multi 3420 z elektrodami za meritev pH, kisik in prevodnost (L. Rušnjak)	28
Slika 12: pH skala (Nyabakken, 1997).....	29
Slika 13: Spremembe kisika z globino (Nyabakken, 1997)	30
Slika 14: Kloni <i>Ceramium tenuicorne</i> (L. Rušnjak)	31
Slika 15: Rast ženskega gametofita in neenakomerna rast moškega gametofita (Eklund, 1998)	36
Slika 16: Začetna velikost alge (L. Rušnjak)	36

Slika 17: Dolžina rasti alge po sedmih dneh (Eklund, 1994).....	36
Slika 18: Razmerja glavnih sestavin v naravni morski vodi in rekah (Millero in Sohn, 1991).....	38
Slika 19: Grafični prikaz TP (t/l).....	41
Slika 20: Grafični prikaz TN (t/l).....	41
Slika 21: Grafični prikaz TSS (t/l)	42
Slika 22: Merilna mesta programa spremljanja kakovosti morja in vnosov onesnaženja s kopnega v	43
Slika 23: Odstotek zaviranja stopnje rasti	44
Slika 24: Grafični prikaz zaviranja od 8. 8 do 15. 8. 2012.....	46
Slika 25: Grafični prikaz zaviranja od 16. 8 do 23. 8. 2012.....	47
Slika 26: Grafični prikaz zaviranja od 30. 8. do 6. 9. 2012.....	48
Slika 27: Grafični prikaz vseh meritev rasti zaviranja	49

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ARSO: Agencija RS za okolje je organ v sestavi Ministrstva za kmetijstvo in okolje

BPK₅: biološka potreba po kisiku

EC₅₀: polovična (50-%) efektivna koncentracija oz. koncentracija, pri kateri je delež testnih organizmov 50 % manjši kot pri kontrolni raztopini

IC₅₀: polovična (50-%) inhibitorna koncentracija, oz. koncentracija, ki povzroči inhibicijo 50 % testnih organizmov

KPK: kemijska potreba po kisiku

LC₅₀: polovična (50-%) letalna koncentracija oz. koncentracija, ki povzroči smrt 50 % testnih organizmov glede na kontrolno raztopino

S: slanost, vsebnost raztopljenih snovi – soli v vodi, g soli/kg vodne raztopine (ppt, ‰)

TBT: Tributyltin, Tributylkositer

TN: celokupni dušik

TP: celokupni fosfor

TSS: celokupne suspendirane snovi

1 POVZETEK

Naše okolje je zaradi številnih dejavnikov čedalje bolj obremenjeno. Med obremenjena okolja sodi tudi slovensko morje, ki je del Tržaškega zaliva. Zaradi geografskih lastnosti in antropogenega vpliva sodi med ogrožene habitate. Pomemben dejavnik za njegovo ohranjanje je redni nadzor in zmanjšanje oz. odprava virov onesnaženja. Običajno se kvaliteto vode spremlja s fizikalno-kemijskimi in mikrobiološkimi analizami. Celovitejšo oceno tveganja za okolje in organizme, ki živijo v vodi ali se prehranjujejo s temi organizmi, nam poda le biološki test. Z biološkimi testi lahko določimo toksičnost tudi v primeru, ko ne poznamo kemijske sestave vode. Zelo težko je slediti hitremu trendu naraščanja novih kemikalij s kemijskimi analizami, poleg tega je nakup aparatur drag. Za vsako kemikalijo je predpisan varnostni list in običajno poznamo toksičnost posamezne kemikalije, težava nastopi, ko pride do medsebojne interakcije kemikalij, ki jih lahko določimo le z uporabo testnih organizmov. Cilj raziskave je bil ugotoviti primernost metode vpliva onesnažil, ki jih v priobalni pas prinašajo reke, na zaviranje rasti z morsko in brakično makroalgo *Ceramium tenuicorne* v vzorcih z višjo vsebnostjo soli. Naloga je obsegala vzorčenje štirih obalnih rek na izlivih v morje, terenske meritve in preskus zaviranja v laboratoriju. S terenskimi meritvami sem pred preskusom hitro ugotovila morebitna odstopanja, ki bi toksično vplivala na organizme. Standard SIST ISO 10710:2011 predpisuje za analizo maksimalno slanost 32 S, zato je bilo treba vzorčiti na gladini in ob oseki, da slanost ni presegala predpisane vrednosti. Že s tega stališča je metoda neprimerna za določanje čiste morske vode, saj vsebnost soli v slovenskem morju dosega tudi 38 S. Z metodo sem ugotovila, da je bilo maksimalno zaviranje 30 %, če ne upoštevam zaviranja na reki Drnici, kjer je bil odvzet samo en vzorec. Metodo se lahko uporabi za določanje zaviranja rasti v vodah z višjo vsebnostjo soli do maksimalne slanosti 32S.

1 ABSTRACT

Due to a number of factors, our environment is increasingly burdened. The Slovenian sea, which is a part of the Gulf of Trieste, is among one of these environments. Because of its geographical characteristics and anthropogenic impacts it is seen as an endangered habitat. An important factor for conserving this environment is regular monitoring and the reduction or furthermore the elimination of sources of pollution. Normally, water quality is monitored using physicochemical and microbiological analyses. Only a biological test gives us a comprehensive assessment of the risks to the environment and organisms which live in the water or that feed on these organisms. Using a biological test, we can also determine the toxicity, even in cases when we do not know the chemical composition of the water. It is very difficult to follow the rapid increase of new chemicals with chemical analyses; in addition, the purchase of the necessary apparatus is expensive. For each chemical a safety data sheet and the commonly known toxicity of the individual chemicals are required. The problem occurs when it comes to the mutual interactions of chemicals that can only be defined with the use of test organisms.

The aim of this study was to determine the suitability of the growth inhibition method with the marine and brackish macroalga *Ceramium tenuicorne* in polluted samples with high salt content, which were brought to the coastal zone by rivers. The task consisted of sampling four coastal rivers at the mouth where they join the sea, field measurements and inhibition tests in the laboratory. From the field measurements before the test I quickly found possible deviations that would toxically affect organisms. Standard ISO 10710:2011 allows for analysis to a maximum salinity of 32S, which is why it was necessary to sample at the surface and at low tide so that the salinity did not exceed the specified value. Even from this standpoint, the method is unsuitable for the determination of clean sea water, because the salt content in Slovenian waters reaches 38S. I have found that with this method there was a maximum inhibition of 30%, if I do not take into account the inhibition at Drnica River, where only one sample was taken. This method can be used to determine growth inhibition in waters with a higher salt content up to a maximum salinity 32S.

2 UVOD

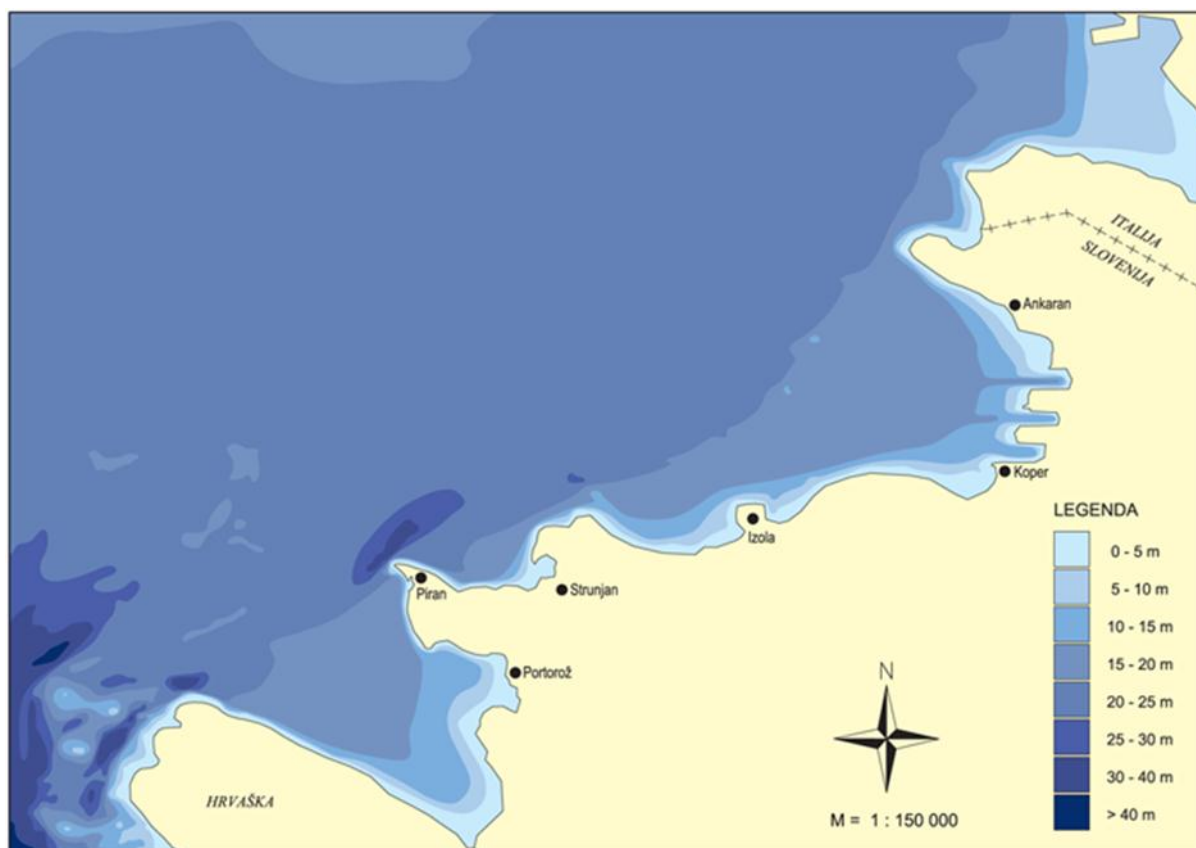
Jadransko morje sodi med najplitvejšje zatoke Sredozemskega morja in sega najseverneje. Alpe, Apeninski in Balkanski polotok oblikujejo njegove geografske značilnosti. Pokriva le 4,6 % površine Sredozemskega morja. Jadransko morje sodi med zaprta morja, razteza se od Beneške lagune do Otranskih vrat s skupno dolžino 870 km in s povprečno širino 159 km (Bricelj, 2004).

Slovensko morje je omejeno na jugozahodni del Tržaškega zaliva. Površina Tržaškega zaliva se z leti zmanjšuje zaradi dveh razlogov: (i) rečnih nanosov in (ii) antropogenega spreminjanja obalne površine (Rejec Brancelj I., 2003).

Slovenska obala se razteza v dolžini 43 km, je zelo gosto poseljena in pozidana v 80 odstotkih. Na tem območju živi približno 80.000 prebivalcev iz 117 naselij. Koprsko primorje je zgrajeno pretežno iz flišne kamenine, ki se menjuje s peščenjakom, v vzhodnem delu pa se pojavlja tudi apnenec. Tu se je razvila rečna mreža s pomembnimi vodotoki: Rižano, Badaševico, Drnico in Dragonjo (Rejec Brancelj I., 2003).

Severno Jadransko morje je zelo plitko, globina ne dosega 50 m (Turk in Odorico, 2009). Do danes je največja izmerjena globina 37,25 m na Rtu Madona. Globino so poimenovali »podvodni triglav« (Rejec Brancelj I., 2003). Zanj je značilna slojevitost vodnega stolpca, zelo velik vnos rek in s tem visoka produktivnost. Sodi med občutljive ekosisteme, saj je poleg geografskih značilnosti znan po intenzivnem ribištvi, turizmu in pomorskem prometu (Turk in Odorico, 2009).

Odrpto morje se loči od priobalnega morja po poteku 20-metrške izobate (Slika 1) z jugozahoda proti severozahodu. Priobalno morje sestavljata dva večja zaliva: Koprski in Piranski (Orožen Adamič, 2002).



Slika 1: Batimetrična karta – globine slovenskega morja (www.hidrografija.si)

Slovensko morje je velik del leta najhladnejši del Sredozemskega morja zaradi geografske lege in podnebja. Slanost je nekoliko nižja, ker ima veliko pritokov. V njem živi več reliktnih borealnih vrst (npr. *Fucus virsoides*). Plitvi akvatorij se v poletnih mesecih segreje, tako da omogoči življenje značilnim sredozemskim vrstam. V slovenskem delu Tržaškega zaliva so glede na litološko osnovo navzoči trije tipi morskega dna in obale s sestavo: apneniške (11 %), flišne (60 %) in aluvialne ravnice (29 %). Večji del Tržaškega zaliva predstavlja sedimentno dno, ozek priobalni pas pokriva trdno dno iz apnenca ali fliša. Slovensko morje z obalnim pasom obsega različne habitatne tipe, od odprtega morja do morskega dna s podmorskimi travniki pozejdonke, ki so biotsko izjemno raznovrstni in kljub vsemu še vedno dobro ohranjeni: odprto morje, morsko dno brez semenk, podmorski travniki s pozejdonko, s cimodocejo in z zostero, sredozemski morski klifi, flišni klif nad morsko obalo, submediteranske in mediteranske vegetacijske združbe.¹

V Jadranskem morju je morski tok šibek, zaradi česar sodi Jadran med najbolj ogrožene in občutljive ekosisteme (Bricelj, 2004). Morski tok se ob slovenski obali premika proti Trstu (Slika 2) s povprečno hitrostjo 0,8 vozlov, le ob rtih je nekoliko večji zaradi reliefne

¹ Vir: <http://www.naravovarstveni-atlas.si/ISN2KJ/profile.aspx?id=Epo@ZRSVN> (15. 7. 2012).

izoblikovanosti. Smer tokov je odvisna od plimovanja, pri majhnih globinah pa tudi od vremena, zlasti vetra (Rejec Brancelj, 2003).



Slika 2: Morski tokovi v Tržaškem zalivu (www.hidrografija.si)

Odvajanje odplak površinskih vod predstavlja pomemben vir onesnažil v svetu. Glavni viri onesnažil in poti vnosa so navedeni v preglednici 1. Vode iz gospodinjstva se v glavnem odvajajo v kanalizacijo. Industrijske vode se odvajajo tako v kanalizacijo kot direktno v površinske vode.²

Poznamo točkovne in razpršene vire onesnaženja. Pri točkovnem viru onesnaženja so onesnažila lokalno skoncentrirana, zato običajno prihaja do posledic bolj lokalnega značaja (Zupan in sod., 2008).

Iztoki iz čistilnih naprav in iztoki odpadnih vod predstavljajo točkovne vire onesnaženja. V odpadnih vodah so velikokrat raztopljene toksične, zdravju škodljive snovi. Pri rednem

² Vir: Walker C. H., Hopkin S. P., Sibly R. M., Peakal D. B., 2006. Principles of Exotoxicology. Third Edition. Taylor & Francis Group, 315 str., Chapter 2, str. 23.

spremljanju kakovosti odpadnih vod se uporablja t. i. integralni pristop, ki obsega kemijsko sestavo komponent v odpadnih vodah in tudi biološke preskuse (Tišler in sod., 2008).

Divja odlagališča odpadkov so umetno preoblikovane pokrajine, ki imajo negativne vplive na človeka in okolje. Poleg tega, da dajejo pokrajini neurejen videz, jo tudi onesnažujejo (Smrekar, 2007). Veliko nevarnost predstavljajo neurejena in nenadzorovana odlagališča industrijskih odpadkov. Odlaganje kompostiranih odpadkov, gošč komunalnih odpadkov in raznovrstnih sedimentov ima lahko negativne vplive na okolje, če odpadki vsebujejo veliko nevarnih snovi (Zupan in sod., 2008).

»Onesnaževanje voda iz razpršenih virov postaja povsod po svetu pereč problem, saj je te vire težje identificirati, količinsko opredeliti in sanirati kot onesnaženje iz točkovnih virov.« (Šajn in Griessler, 2007)

Med razpršene vire onesnaženja sodijo tako izpusti v zrak (industrijske emisije), plini in prašni delci iz termoelektrarn kot dimni plini iz domačih dimnikov in emisije iz prometa. Te snovi glede na vremenske razmere in agregatno stanje (lahko so v plinasti, tekoči in trdni obliki) potujejo različno daleč (Preglednica 1). Tako onesnaženje povzroči onesnaženje tudi drugod, ne le na mestu vira (Zupan in sod., 2008).

Preglednica 1: Glavne poti vstopa v površinske vode (prirejeno po ³)

Poti	Glavna onesnažila	Pripomba
Izlivni kanalizacije	Zelo širok spekter organskih in anorganskih onesnažil gospodinjstkih in komercialnih virov; večinoma prisotni detergenti	Visoka variabilnost; odvisna ne samo o tega, kar kanalizacije sprejmejo, ampak tudi od obdelave
Izlivni iz industrij	Odvisna od industrijske dejavnosti; široka paleta onesnažil kemične industrije; kovine v rudarstvu; obrati za proizvodnjo celuloze pomemben vir onesnažil v samem prostoru	Koncentracija onesnažil in efluentov mora ostati pod zakonsko mejo
Izlivni nuklearnih postaj	radionuklidi	Predmet rednega nadzora in končne kontrole v večini držav
Površinski odtoki zemljišč	Raznovrstna odlagališča onesnažil na zemeljskem površju; pesticidi	Običajno nenadziranje in težavnost meritev
Z zraka	(i) Precipitacija s snegom in dežjem (ii) Direktna uporaba biocidov	Včasih se onesnažila prenašajo na velike razdalje Nadzor škodljivcev, parazitov in prenašalcev bolezni in vodnih plevelov
Odlaganje v morje	Neobdelane odpadne vode; radiokemikalije in toksični odpadki v zapečatenih posodah, odloženih v globoke oceane	Včasih izražena skrb o izpustitvi posode na dolgi rok, ko propade

³ Vir: Walker C. H., Hopkin S. P., Sibly R. M., Peakal D. B., 2006. Principles of Exotoxicology. Third Edition. Taylor & Francis Group, 315 str., Chapter 2, str. 24.

Izpusti iz oskrbe olj in terminalov	Ogljikovodiki	Včasih naključna, včasih rezultat vojne (npr. Gulf war v Kuvajtu)
Brodolomi/nasedanje ladij	Ogljikovodiki in nekaj drugih organskih onesnažil	Problem so zlasti nasedli tankerji

Agencija RS za okolje izvaja monitoring kakovosti rek na podlagi Zakona o vodah, Zakona o varstvu okolja in podzakonskih aktov, ki v slovenski pravni red prinašajo zahteve evropskih direktiv s področja površinskih voda. V Sloveniji program spremljanja stanja vodnih teles rek poteka v skladu z zahtevami direktive o vodah od leta 2007 dalje.⁴

»Naravna razširjenost habitatnih tipov in habitatov rastlinskih in živalskih vrst, njihova kvaliteta ter povezanost je ogrožena predvsem zaradi skromnega deleža naravno ohranjenega obrežnega pasu, zaradi njegove razdrobljenosti in v veliki meri tudi zaradi velike količine neustrezno očiščenih komunalnih odpadkov.«⁵

2.1 Namen

Namen zaključne naloge je ugotoviti:

- vplive onesnažil v priobalnem pasu na izlivih rek v morje, ki jih prinašajo reke Dragonja, Drnica, Badaševica in Rižana;
- primernost metode SIST ISO 10710:2011, Preskus zaviranja rasti z morsko in brakično makroalgo *Ceramium tenuicorne*, (Growth inhibition test with the marine and brackish water macroalga *Ceramium tenuicorne*).

2.2 Opis območja raziskave in možni viri onesnaženja

Slovenska Istra je zaradi svoje lege in submediteranskega podnebja primerna za pridelavo zgodnje in v jeseni pozne zelenjave. V obalnem območju je približno 660 ha površin (Preglednica 2), kjer se goji zelenjavo intenzivno. To so zlasti ravninska področja (dolina Dekani, Sermin-Valmarin, dolina Vanganel, Bertoki, dolina Dragonje, dolina Drnice) (Bolčič, 2000).

Glede na statistične podatke je v občinah Koper, Izola in Piran več kot 40 % območij z obdelovalnimi površinami (Slika 1). Koper sodi v vinorodni okoliš, v katerem se nahajata dve podjetji za predelavo grozdja, to sta Vinakoper in Brič. Velik del kmetijskih površin je zasajenih s trsi (Slika 3). Poleg zelenjave, zelišč in vinske trte je tu doma tudi oljka. Agraria Koper je leta 1980 ustanovila center za vzgojo sadik Purisima. Povpraševanje po oljkah je čedalje večje, kar pomeni, da tudi oljčni nasadi predstavljajo velik del uporabne kmetijske površine. S slike 3 je razvidno, da je več kot 5 % površine namenjene posebnim kulturam, kot so trte, sadovnjaki in drugo. Intenzivna pridelava zelenjave poteka v dolinah rek Drnice,

⁴ Vir: <http://www.arso.gov.si/vode/reke/publikacije%20in%20poro%C4%8Dila/REKE%20porocilo%202009-2010.pdf> (15. 7. 2012).

⁵ Viri: <http://www.naravovarstveni-atlas.si/ISN2KJ/profile.aspx?id=Epo@ZRSVN> (15. 7. 2012).

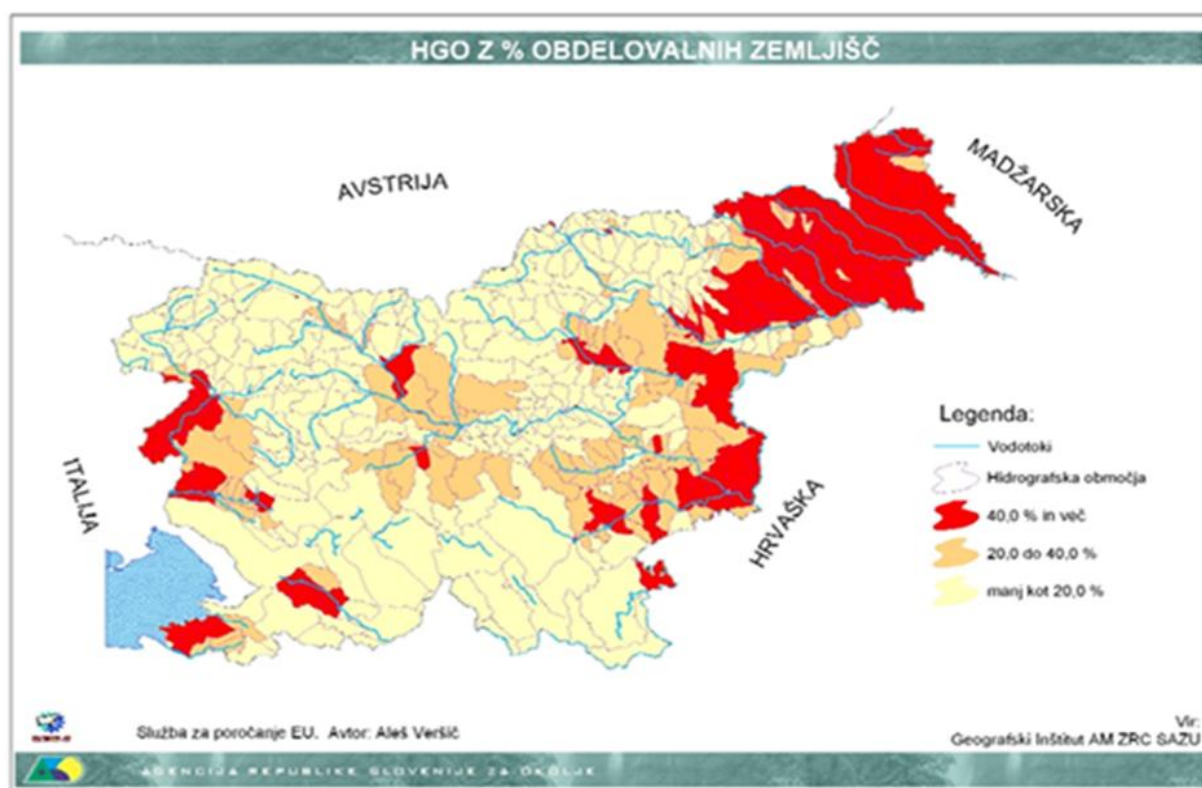
Rušnjak L. Vpliv onesnažil v priobalnem pasu na zaviranje rasti morske in brakične makroalge *C. tenuicornis*
Zaključna naloga. Koper, Univ. na Primorskem, Farnit, Štud. program Biodiverziteti, 2012

Dragonje in Rižane (Bolčič, 2000), kjer je možnost namakanja in kjer se lahko vzpostavi namakalne sisteme.

Poleg tega Faganeli in sod. (1988) ugotavljajo, da reke vplivajo na kemijske, biološke in sedimentološke procese v obalnem morju še posebej v estuarijih, ker so izvor raztopljenih in suspendiranih snovi.

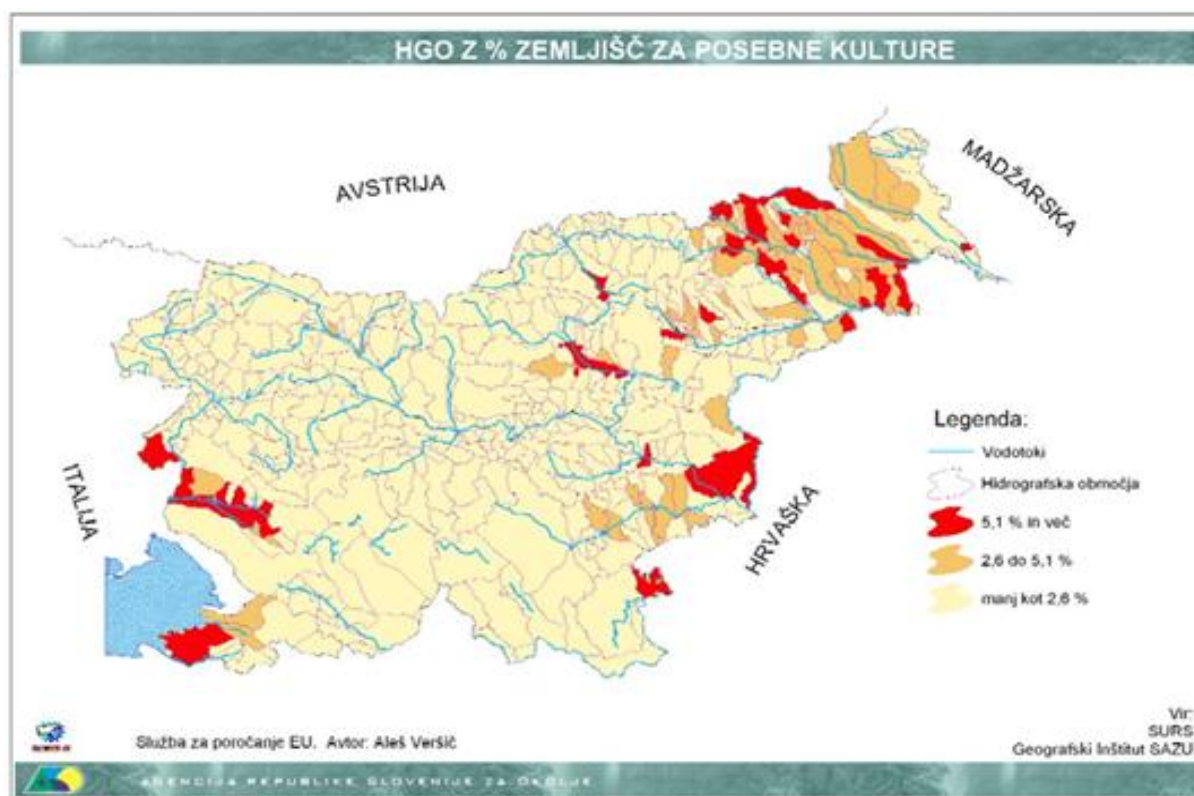
Preglednica 2: Statistični podatki kmetijskih površin na prostem po posameznih občinah iz leta 2000 (Bolčič, 2000)

Občina	Njive in vrtovi (ha)	Vrtnine (ha)	ostalo
Koper	924	380	žitarice, predvsem za kolobar
Koper, zaledje	3.431		živinoreja, poljedelstvo
Izola	420	71	žitarice, predvsem za kolobar
Piran	643	207	žitarice in koruza, predvsem v kolobarju



Slika 3: Hidrografska območja z več kot 40 % obdelovalnih zemljišč

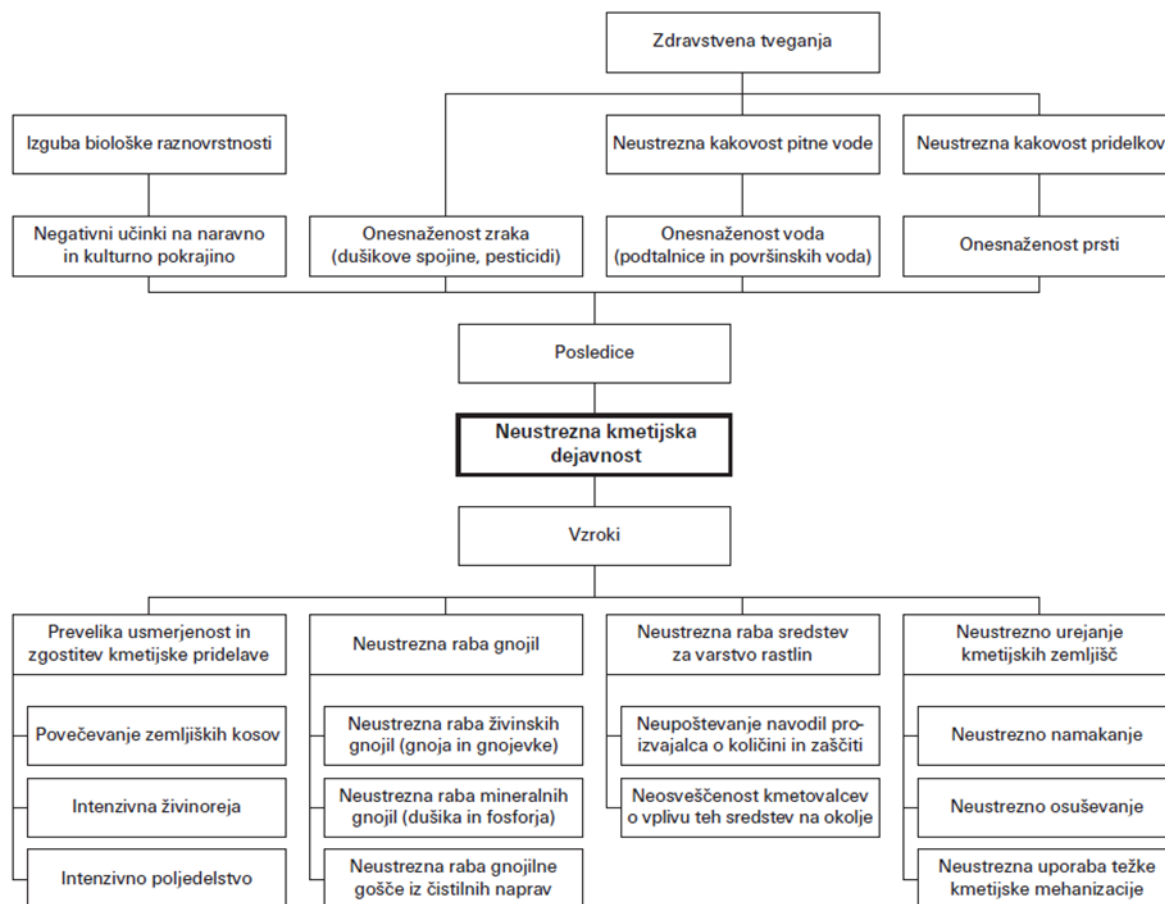
Rušnjak L. Vpliv onesnažil v priobalnem pasu na zaviranje rasti morske in brakične makroalge *C. tenuicornis*
 Zaključna naloga. Koper, Univ. na Primorskem, Farnit, Štud. program Biodiverziteta, 2012



Slika 3: Hidrografska območja z več kot 5 % zemljišč, namenjenih posebnim kulturam (vinogradi, sadovnjaki, hmeljišča)

Onesnaženje iz kmetijske dejavnosti je marsikje poglavitni vir onesnaženja voda. Javnost je zaskrbljena zaradi prisotnosti pesticidov in ostalih onesnažil, ki utegnejo zaiti v površinske in talne vode. Največjo verjetnost onesnaževanja predstavljajo: umetna gnojila, mehanizacija in številna fitofarmaceutvska sredstva. Z uporabo gnojil je možna prisotnost nitrata, ki se na plitvih in skeletnih tleh prekomerno spira skozi talni profil v površinske ali v podtalne vode (Slika 4). Poleg nitrata predstavljajo amonij, fosfati in kalij pomemben vir onesnaženja s kmetijskih površin (Šajn in Griessler, 2007).

Rušnjak L. Vpliv onesnažil v priobalnem pasu na zaviranje rasti morske in brakične makroalge *C. tenuicornis*.
Zaključna naloga. Koper, Univ. na Primorskem, Famnit, Štud. program Biodiverziteti, 2012



Slika 4: Opredelitev okoljske problematike v kmetijstvu (Rejec Brancelj, 2001)

Naraščanje kemikalij v svetu je vsak dan večje. CAS Register, najbolj zanesljiva zbirka dostopnih informacij o kemičnih snoveh, ima na seznamu 67 milijonov organskih in anorganskih snovi in 63 milijonov zmesi, dnevno dodajo na seznam 15000 novih snovi (CAS, 2012). Zaradi izrazitega naraščanja proizvodnje novih kemikalij je le-te težko določati s kemijskimi analizami. Ti analitski postopki so precej zahtevni (Preglednica 3 in 4). Nekatere kemikalije povzročajo biološke učinke v že zelo nizkih koncentracijah, npr. pesticidi, zdravila itd. Z biološkimi poskusi lahko dokazujemo tudi prisotnost kemikalij v nizkih koncentracijah, četudi ne poznamo kemijske sestave. Odpadne, izcedne vode in vode iz čistilnih naprav predstavljajo kompleksne mešanice kemikalij; za nekatere kemikalije lahko prisotnost v vzorcu potrdimo, za druge pa ne. Poznavanje kemikalij v vzorcu ne poda vedno odgovora o škodljivih učinkih v odpadni vodi, saj ne poznamo medsebojnega vpliva med kemikalijami. Ta odgovor nam dajo le biološki poskusi z uporabo organizmov (Wharfe, 2004 cit. po Tišler, 2008).

Edini način za merjene toksičnosti so testi na živih organizmih. V oceni tveganja za kemikalije je najbolje uporabiti alge, ker so primarni proizvajalci za nevretenčarje, ki so primarni porabniki, in ribe, ki so sekundarni porabniki. Zelo pomembna je standardizacija testov, le tako lahko primerjamo rezultate (Eklund, 2005).

Osnovni principi poskusov toksičnosti pri vodnih organizmih so podobni kopenskim organizmom. Vendar pa obstajajo vprašanja o glavnih smereh privzema, ki vplivajo na določene vidike načrtovanja testa. Za vodne organizme, ki imajo neposreden vnos iz vode, je pot zelo pomembna (npr. vnos skozi prepustno kožo pri žabah). Vnos se lahko izvrši tudi s prehrano med prehodom skozi prebavni sistem. Organizmi, ki živijo na dnu, so dodatno izpostavljeni ostankom v sedimentih. Poti sprejema se razlikujejo med organizmi in kemikalijami v odvisnosti od okoljskih razmer. V nekaterih primerih lahko vse te poti v enem organizmu delujejo hkrati. Veliko toksičnih testov se opravi z vodnimi organizmi (npr. ribe, *Daphnia*, *Gammarus pulex*), ki so izpostavljeni direktni absorpciji kemikalij iz vod. Organizme izpostavijo različnim koncentracijam kemikalij v vodi in določijo srednjo vrednost letalne doze.⁶

Zavezanci za zagotovitev prvih meritev in emisijskega monitoringa so upravljalci naprav, za katere je določeno s predpisom, ki ureja emisijo snovi in toplote pri odvajanju odpadnih vod v vode in javno kanalizacijo, da je izvajanje emisijskega monitoringa obvezno. Osnovni parametri odpadne vode so temperatura, pH-vrednost, neraztopljene in usedljive snovi, KPK in BPK₅, razen za komunalne ali skupne čistilne naprave, za katere so osnovni parametri odpadne vode neraztopljene snovi, KPK in BPK₅, in male komunalne čistilne naprave, za katere sta osnovna parametra KPK in BPK₅. Če odpadna voda iz naprave, pripadajoče industrijske čistilne naprave ali skupne čistilne naprave vsebuje nevarne snovi, določene s predpisom, ki ureja emisijo snovi in toplote pri odvajanju odpadnih vod v vode in kanalizacijo, in se odpadna voda odvaja neposredno v vode, je osnovni parameter tudi parameter strupenosti (Pravilnik o prvih meritvah..., 2007).

Parameter strupenosti se določa v odpadnih vodah, ki se iztekajo v vodotoke. Testa strupenosti se ne opravlja v komunalnih odpadnih vodah. Teste strupenosti v odpadnih vodah se izvaja po standardizirani metodi SIST EN ISO 6341:1996, Določanje zaviranja gibanja *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*) – Akutni toksični preskus (ISO 6341:2004). Kloridi predstavljajo veliko interferenco pri določanju strupenosti. Test lahko še uspešno opravimo pri vodah, ki vsebujejo manj kot 1500 mg/Cl⁻. Vsebnost kloridov v odpadnih vodah, zlasti odpadnih vodah v priobalnem pasu, večkrat presega mejno vrednost kloridov, do katere je mogoče določiti strupenost. Vodne bolhe pri vsebnosti kloridov nad 1500 mg/Cl⁻ umrejo, četudi odpadna voda ne vsebuje toksičnih snovi.

⁶ Vir: Walker C. H., Hopkin S. P., Sibly R. M., Peakal D. B., 2006. Principles of Exotoxicology. Third Edition. Taylor & Francis Group, 315 str., Chapter 6, str. 99.

Eden izmed problemov vodnega testiranja strupenosti je vzdrževanje stalne koncentracije kemikalij v vodi. Kemikalije se izgubljajo v vodi z (i) absorpcijo in s presnovo preskusnih organizmov ter (ii) z izhlapevanjem, razgradnjo in adsorpcijo iz vode. Kjer je stopnja izgube sorazmerno nizka, se lahko preskus izvede z uporabo statičnega ali polstatičnega sistema. S statičnim sistemom se voda ne spremeni v času testa. S polstatičnim sistemom se voda zamenja v rednih intervalih (navadno na vsakih 24 ur). Boljša, toda bolj zapletena in draga metoda za obnovitev preskusne raztopine se zagotavlja z neprekinjenim tokom skozi sistem. Sistem tega tipa zagotavlja kontinuirano obnovo koncentracije kemikalij in preprečuje kontaminacijo iz blata, sluzi in alg. Če so organizmi izpostavljeni dovolj dolgemu času, dosežejo stalno koncentracijo v tkivih.⁷

Nekatera onesnažila v proizvedenih količinah nimajo vidnih neposrednih vplivov na preživetje organizmov, vendar lahko spremenijo okolje kemijsko in fizikalno ter vplivajo na sposobnost preživetja organizmov. Tak primer predstavlja obogatitev celinskih vod in obalnih morij z anorganskimi hranilnimi snovmi, ki izvirajo iz odpadkov, kmetijskih gnojil in eutrofikacije na način, da se spremeni vrstna sestava organizmov s spremembo kemijskih lastnosti okolja.⁸

Preglednica 3: Prednosti toksičnih testov (prirejeno po⁹)

i.	Omogoča neposredno oceno letalnih in subletalnih učinkov. Kronični testi približajo dolgoročne učinke strupenih snovi.
ii.	Podajo stopnjo toksičnosti, ko strupena snov ni znana, ni opredeljena kemično, ali je premalo toksikoloških podatkov (zlasti je težko prepoznati celotno kemijsko sestavo v kompleksnih mešanicah, kot so odpadne vode).
iii.	Lahko zagotovi zgodnje opozarjanje ali napovedovanje potencialne okoljske škode. Tu so možni preventivni ukrepi.
iv.	Oceni učinke toksičnih mešanic. Daje celovit odgovor na skupni učinek različnih strupenih snovi v kompleksnih odpadkih.
v.	Omogoča hitrejša rezultate, ki so za javnost bolj verodostojni in dojemljivi, ker pokažejo škodo na živih organizmih.
vi.	Je običajno cenejši od kemičnih analiz. Preskusi toksičnosti so stroškovno bolj učinkoviti, ko uporabljamo samo eno vrsto organizmov, lahko pa tudi dražji, ko uporabljamo več različnih organizmov.

⁷ Vir: Walker C. H., Hopkin S. P., Sibly R. M., Peakal D. B., 2006. Principles of Exotoxicology. Third Edition. Taylor & Francis Group, 315 str., Chapter 6, str. 99–100.

⁸ Vir: Moriarty F. 2007. Ecotoxicology, The study of pollutants in ecosystems. Third edition. Academic press, str. 3

⁹ Vir: 5. Environment Canada, 1999. Guidance document on application and interpretation of single-species tests in environmental toxicology. EPS 1/RM/34, str. 203.

Preglednica 4: Omejitve toksičnih testov (prirejeno po¹⁰)

i.	Snov, ki povzroča toksičnost, ni identificirana (čeprav lahko kemični ali biološki proces identifikacije pomaga napovedati toksičnost).
ii.	Običajno so bili postopki v primerjavi z enostavnimi kemijskimi analizami počasnejši. Vendar so novejši testi toksičnosti precej hitri. Kemijske analize lahko zelo hitro ali celo nepretrgoma merijo pogoje, ki so lahko toksični za organizme (nizko vsebnost kisika, pH).
iii.	Testirali so le nekaj vrst od številnih prisotnih v ekosistemih. Kljub temu je omejitev manjša, saj se uporablja organizme iz več različnih prehrabnih nivojev (nevretenčarji, alge ali bakterije).
iv.	Preskusni organizmi niso izpostavljeni drugim obremenitvam (npr. ekstremnim temperaturam ali tokovom vode, plenilcem, prenašalcem bolezni), ki bi lahko bile prisotne v naravnem okolju. Nasprotno, preskusni organizmi niso deležni naravne absorpcije, razstrupljanja ali drugih blažilnih mehanizmov, ki so lahko prisotni v naravi. Prav tako organizmi nimajo možnosti, da bi se izognili strupenosti. Testi so namenoma optimalni in standardizirani. Optimalni so zato, da se izognemo lažni toksičnosti, kot je na primer pomanjkanje kisika. Standardizirani so zato, da se laboratoriji med seboj primerjamo in ugotavljamo, ali smo analitsko ustrezni, primerljivi.
v.	Variabilnost naravnega okolja ni zastopana.
vi.	Običajno se ne more neposredno izmeriti bioakumulacije ali ohranitve kemikalij. Vendar pa obstajajo metode s kombinacijo toksičnosti in bioakumulacije školjk in drugih organizmov.
vii.	Poenostavljena uporaba rezultatov bi utegnila zavajati javnost in zakonodajalce.

V nalogi sem postavila dve hipotezi:

Prva hipoteza

Kljub večji skrbi posameznikov, želji po integriranem kmetijstvu, je raba tal v okolici vodnih virov in rek izrazito kmetijska, kar bi lahko imelo negativne učinke na organizme, saj vse vode prej ali slej zaidejo v vodotoke.

Druga hipoteza

Onesnažila, ki jih reke prinašajo v estuarije, bi lahko zaradi nedovoljenih izpustov industrijskih in komunalnih vod vplivala na zaviranje rasti *C. tenuicorne*.

¹⁰ Vir: 5. Environment Canada, 1999. Guidance document on application and interpretation of single-species tests in environmental toxicology. EPS 1/RM/34, str. 203.

2.3 Pregled objav

2.3.1 Splošno o algi *Ceramium tenuicorne*

2.3.1.1 Taksonomska razvrstitev:

Cesarstvo: Eukaryota
Kraljestvo: Plantae
Podkraljestvo: Biliphyta
Deblo: Rhodophyta
Poddeblo: Eurhodophytina
Razred: Florideophyceae
Podrazred: Rhodymeniophycidae
Red: Ceramiales
Družina: Ceramiaceae
Poddružina: Ceramioideae
pleme: Ceramieae
rod: *Ceramium*

Rdeča makroalga *Ceramium tenuicorne* živi v manj slani vodi, pogosta in avtohtona je v Baltskem morju (Bergström L. in sod., 2003). Vrsta je kozmopolitanska, zato je razširjena po vsem svetu (Eklund, 2005).

Vrsta *Ceramium* pripada rodu, ki ga lahko najdemo v vseh oceanih po vsem svetu in je še posebej bogat v zmernih vodah (Eklund, 1990). Test zaviranja temelji na dveh klonih, ki sta do nedavnega bila obravnavana kot dve različni vrsti. Ti vrsti sta morska *Ceramium strictum* Harvey *sensu* Kylin in vrsta brakičnih vod *C. tenuicore* Kützing Waern. Študije so pokazale, da algi pripadata isti vrsti z veljavnim imenom *C. tenuicorne*. Morski klon, nekdanji *C. strictum*, ki se uporablja pri testih, je izoliral Dr. Jan Rueness z Univerze v Oslu. Izvira iz fjordov v Oslu s slanostjo 20–25 PSU in se kot kultura ohranja že 30 let. Klon brakičnih vod je izolirala Britta Eklund z Univerze v Stockholmu leta 1995. Izvira iz Baltskega morja, približno 100 km južno od Stockholma s slanostjo 7 S (Eklund, 2005).

Ceramium strictum Harvey *sensu* Kylin je od 2 do 10 cm dolga morska rdeča makroalga, ki raste pritrjena na dno ali kot epifit z vodne površine navzdol na globini 20 do 25 m. Kompleks vrste *C. strictum* se običajno pojavlja v zmernih območjih sveta. *C. strictum* in druge makroalge predstavljajo pomemben del obalnega ekosistema kot primarni proizvajalci, biotopi za organizme, kot so raki, mehkužci, substrat za ribje ikre in vzrejno območje (Eklund, 1998).

C. tenuicorne ima širok razpon slanosti, od 4 S do 32 S, zaradi česar jo je mogoče uporabljati v različnih območjih slanosti. Dolgoletne raziskave kažejo, da je uporaba *C. tenuicorne* primerna kot testna morska rastlina (Eklund, 2005). Izkazala se je potreba po testih v brakičnih in estuarijskih vodah (Eklund, 2005). Preskusne organizme je treba ustrezno preskusiti pod optimalnimi pogoji, brez zavajajočih učinkov drugih dejavnikov, ki bi vplivali na stres in tako prispevali k nepravilnim določitvam toksičnosti (Environment Kanada, 1999). Število standardnih testnih metod je manj za slane vrste kot pa za sladkovodne vrste in to je verjetno eden od razlogov za manjše število podatkov o toksičnosti morskih vrst (Eklund, 2005).

Eklund (2005) ugotavlja rast in maso alge pod določenimi pogoji, kot so temperatura, svetloba in slanost. Razlike v občutljivosti med in znotraj vseh skupin vrst so bile visoke. Občutljivost metode z inhibicijo rasti *Ceramium* je visoka. Visoka občutljivost *Ceramium* je lahko posledica dejstva, da je alga nitasta, kar pomeni, da je vsaka celica v neposrednem stiku z okoliško vodo in s tem izpostavljena vsem onesnažilom.

V zadnjih letih je bilo opravljenih veliko študij na ugotavljanju zaviranja rasti s *C. tenuicorne*, bilo je objavljeno veliko člankov.

Na razvoj ženskih in moških organov je vplival fenol. Pri oblikovanju reproduktivnih organov je bil vpliv fenola 20-krat večji pri ženskih kot pri moških (Eklund, 1998).

Karlsson in sod. (2006) ugotavljajo učinke barvil in premazov, kot so TBT, na zaviranje rasti z rdečo morską makroalga *C. tenuicorne*.

Krantz-Frid M. (2009) ugotavlja učinke barvil in premazov, ki se uporabljajo na Švedskem za preprečevanje obraščanja plovil z zaviranjem rasti rdeče morske makroalge *C. tenuicorne*. Zaviranje rasti se razlikuje glede na vrsto premaza.

Ytreberg E. in sod. (2010) ugotavljajo toksičnost posameznih kovin v treh morskih vrstah. Preskusne vrste so bile bakterije *Vibrio fischeri*, rdeča makroalga *Ceramium tenuicorne* in kopepod *Nitocra spinipes*. Vse tri vrste živijo v morskem okolju, *C. tenuicorne* in *N. spinipes* sta avtohtona in prisotna v Baltskem morju. Preskusne metode, ki so bile uporabljene, so bile standardizirane, vsi organizmi so bili uporabljeni že večkrat v ekotoksikoloških raziskavah. Makroalga je najbolj občutljiva vrsta za Cu ($EC_{50} = 6.4\mu\text{gl}^{-1}$) in Zn ($EC_{50} = 25\mu\text{gl}^{-1}$) v primerjavi z raki (Cu, $LC_{50} = 2000\mu\text{gl}^{-1}$ Zn, $LC_{50} = 890\mu\text{gl}^{-1}$) in bakterijami (Cu, $EC_{50} = 800\mu\text{gl}^{-1}$ in Zn, $EC_{50} = 2000\mu\text{gl}^{-1}$). Rezultati kažejo, da se Zn in Cu spirata iz barv proti obraščanju in lahko dosežeta toksične koncentracije na območjih z visoko gostoto ladij.

3 MATERIAL IN METODE DE LA

3.1 Opis vzorčnega območja

Vzorčenje vod je potekalo na ustjih rek Dragonje, Drnice, Badaševica in Rižane (glej sliko 4), na izlivih v Jadransko morje. Vzorčenje Badaševica in Rižane je potekalo v Koprskem zalivu (Slika 6), vzorčenje Drnice in Dragonje je potekalo v Piranskem zalivu (Slika 7). Mesta vzorčenja so na sliki označena z rdečo puščico.

Stik med tremi ekosistemi (morski, sladkovodni in kopenski) na izlivih rek imenujemo estuarij. Prisoten je tam, kjer voda (reke in potoki) naplavlja. Vsebnost soli je odvisna od plimovanja in se zelo hitro spreminja. Odmiranje organizmov je zaradi nihanja slanosti veliko, kar prispeva k še večji vsebnosti hranil. Ta habitatni tip najdemo v Sloveniji mestoma na obali, kot npr. v Koprskem zalivu na plasteh sedimenta iz preperlega fliša (<http://www.naravovarstveni-atlas.si>).

Reke Drnica, Dragonja, Badaševica in Rižana sodijo k Jadranskemu povodju (Narava Slovenije, 2004). Imajo dežni režim, Plut (1980) ga poimenuje mediteranski pluvialni režim, za katerega je značilna visoka vodnatost rek od pozne jeseni do zgodnje pomladi in izrazito nizka vodnatost od pozne pomladi do konca poletja (Bat in sod., 2003).



Slika 5: Reke Drnica, Dragonja, Badaševica in Rižana (<http://gis.arso.gov.si>)

3.1.1 Reka Dragonja

Izvira v okolici Popeter, dolžina toka je 29 km, razprostira pa se na 95 km². Reka ima veliko večjih in manjših pritokov. Na Škrlinah je sotočje Dragonje in pritoka Rokave oz. Pinjevca. Njena zanimivost je ta, da je edina reka v Sloveniji, ki ne teče skozi naselja (Geister, 1987).

Reka Dragonja je edina slovenska reka, ki izvira in teče po flišu. Flišne kamnine so iz obdobja izpred 35 milijonov let, iz dobe eocena. Fliš je sedimentna kamnina, ki je nastala v morju zaradi podvodnih plazov, tako so se izmenjaje nalagali: lapor, apnenčasti peščenjak in breča. Z umikom morja, ki je pokrivalo ta del polotoka, se je pričelo erozijsko delovanje vodotokov (Grošelj in Benčič-Mohar, 2000). V zadnjem delu poti reke se že zazna vpliv morja. Morska voda ob plimi sega skoraj do mostu na cesti Sečovlje–R Hrvaška. Morska voda zaradi večje specifične teže potone na dno, sladka voda priteka po površju, vmes je sloj brakične vode (Geister, 1987).

Zaradi dežnega režima, sestave kamnin, ki ne prepuščajo padavin, in reliefa ima reka hudourniški značaj. Je zelo dinamična reka in edina presihajoča sredozemska reka v Sloveniji (Kaligarič in Otopal, 2008). Reka ima zelo malo stalnih virov, saj imajo ti zaradi flišne podlage hiter odtok. Obilnejši, stalni viri so pogostejši ob stiku fliša in kraškega sveta (dolina Poganje) in v akumulacijski ravnici (spodnji tok Dragonje) ob stiku apnenih skladov. Tok Dragonje ima nizek strmec (koeficient 1,31) (Križan, 2002).

Rušnjak L. Vpliv onesnažil v priobalnem pasu na zaviranje rasti morske in brakične makroalge *C. tenuicornis*
Zaključna naloga. Koper, Univ. na Primorskem, Farnit, Štud. program Biodiverziteti, 2012



Slika 6: Koprski zaliv, vzorčenje rek Badaševica in Rižane (Google earth)



Slika 7: Piranski zaliv, vzorčenje rek Drnice in Dragonje (Google earth)

3.1.2 Reka Drnica

Reka izvira med vasema Padna in Šmarje (Pucer, 2005). Njeno porečje meri 32,5 km². Drnica je bila nekoč desni pritok Dragonje. Pred regulacijami sta se reki združili in skupaj izlili v morje, danes se po tem kanalu izliva samo Drnica (Orožen Adamič, 1979). Teče po sotočju Baredinke in Piševca (Burger, 2006). Reka Drnica deli Sečoveljske soline na dva dela, delujoči del Lera in opuščeni del Fontanigge (<http://www.sigma2.upr.si>).

3.1.3 Reka Badaševica

Badaševica izvira pod naseljem Sveti Anton, teče do zaselkov Potok in Prek po ozki dolini, dolvodno pa se območje odpira proti Vanganelski dolini, mimo Šalare in Semele. Po umetno speljani strugi se izliva v Koprski zaliv (Slika 8). Stara struga Badaševice je imela izliv v Škocjanskem zatoku. Dolvodno od Vanganela struga zaradi protipoplavnih regulacijskih posegov ni ohranila naravnega stanja. Površina povodja Badaševice je 21,3 km² (MOK, 2008).



Slika 8: Vzorčenje na izlivu reke Badaševice v morje (L. Rušnjak)

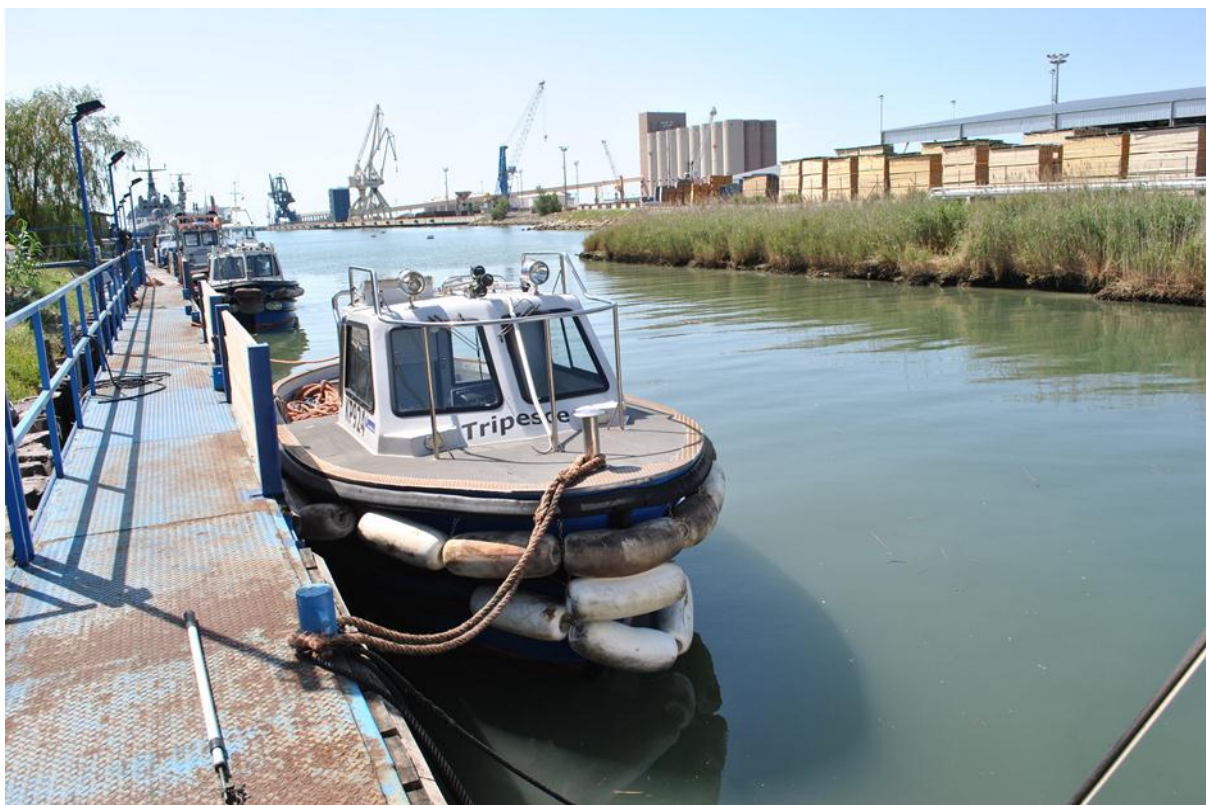
3.1.4 Reka Rižana

Reka Rižana sodi zaradi vodooskrbe med najpomembnejše reke v slovenski Istri. Izvir Zvroček se nahaja v Hrastoveljski dolini. Večji del reke se izliva v morje, na območju Luke – koprskega pristanišča (Slika 9), del vodotoka je speljan v Škocjanski zatok (Malečkar, 2010).

Porečje Rižane sestavljata dve reliefni enoti: kraško površje in neprepustni fliš. Enoti se razlikujeta po hidrografskih, reliefnih, geoloških in drugih dejavnikih (Krušnik in sod., 1994).

Kraški del zavzema okrog 75 % in se pojavlja na izviri, medtem ko se flišni del pojavlja na izlivu. K vodnatosti reke prispevajo tudi vode, ki poniknejo na kraških tleh v Matarskem podolju (Plut, 1980).

Vodovarstveno območje reke obsega 247 m², in ker se nahaja na kraških tleh, obstaja nevarnost, da površinsko onesnaženje zaide v podtalnico, reko Rižano. Promet (ceste in železnice), kmetijske površine, neurejeni iztoki odpadnih vod, neurejene deponije in drugo predstavljajo potencialne vire onesnaženja (Krbavčič, 2010).



Slika 9: Izliv reke Rižane v morje (L. Rušnjak)

3.2 MATERIAL

3.2.1 Vode

Vzorčenje sem opravljala v času oseke (Slika 10), tako da ni bilo vpliva morja, temveč onesnaženja, ki ga prinašajo reke v priobalni pas morja. V času vzorčenja ni bilo padavin,

kakor tudi ne pred vzorčenjem. Na terenu sem opravila meritve pH, temperaturo vode in zraka, slanost in vsebnost kisika.

3.2.1.1 Vzorec reke Rižane

V reki Rižani sem vzorčila na treh vzorčnih mestih. Vzorec sem zajela s pomočjo teleskopske palice v 1,5-l plastenko na globini 0–25 cm, na treh vzorčnih mestih.

- 1 Pred iztokom ČN Koper
- 2 Po iztoku ČN Koper
- 3 V Luki Koper d. d.

3.2.1.2 Vzorec reke Badaševice

V reki Badaševici sem vzorčila na enem vzorčnem mestu (Koprski mandrač), na dveh različnih globinah 0–25 cm in pod 40 cm, vzorca se razlikujeta v slanosti. Vzorca sem zajela s pomočjo teleskopske palice v 1,5-l plastenko.

- 1 Globina 0–25 cm
- 2 Globina pod 40 cm

3.2.1.3 Vzorec reke Drnice

V reki Drnici sem odvzela vzorec na enem vzorčnem mestu. Vzorec sem zajela s pomočjo teleskopske palice v 1,5-l plastenko na globini 0–25 cm.

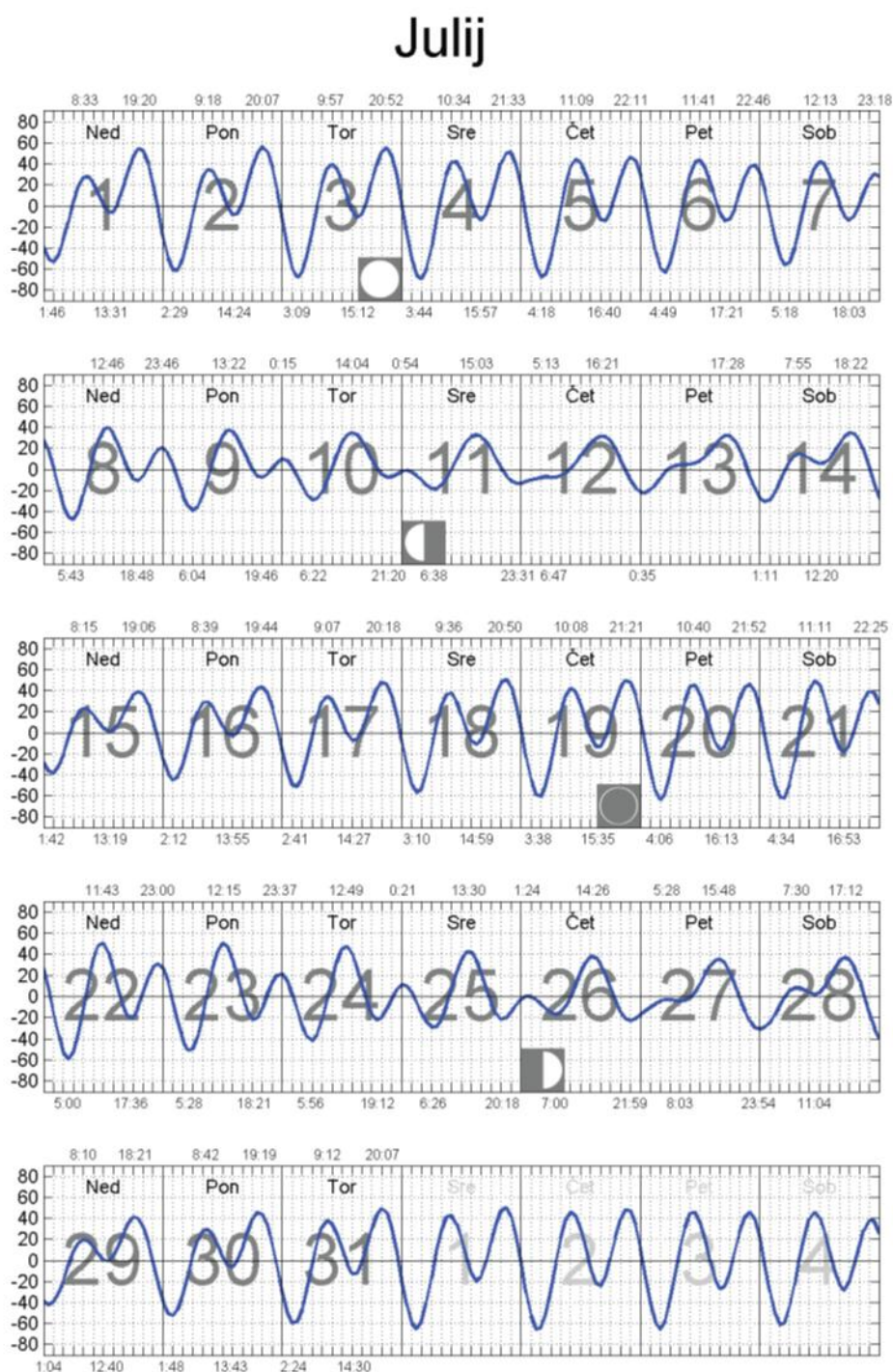
- 1 Na izlivu reke v morje

3.2.1.4 Vzorec reke Dragonje

V reki Dragoniji sem odvzela en vzorec na izlivu reke v morje, drugi vzorec na mestu, kjer vzorči ARSO. Vzorec sem zajela s pomočjo teleskopske palice v 1,5-l plastenko na globini 0–25 cm.

- 1 Izliv reke Dragonje
- 2 Vzorčno mesto ARSA

Rušnjak L. Vpliv onesnažil v priobalnem pasu na zaviranje rasti morske in brakične makroalge *C. tenuicornis*
 Zaključna naloga. Koper, Univ. na Primorskem, Famnit, Štud. program Biodiverziteti, 2012



 AGENCIJA REPUBLIKE SLOVENIJE ZA OKOLJE

Slika 10: Plimovanje v slovenskem morju (www.arso.gov.si)

3.2.1.5 Opis in pomen terenskih meritev

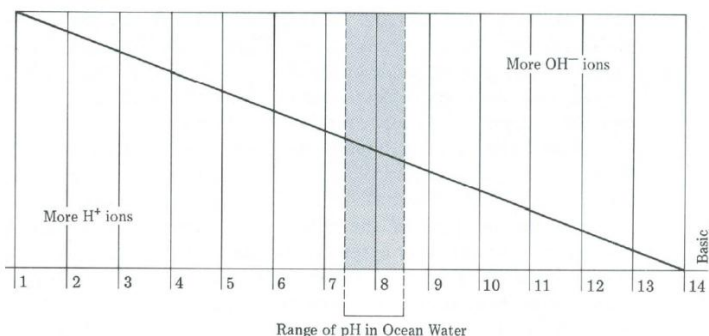
3.2.1.5.1 pH

Meritve pH sem opravljala s terenskim merilec Multi 3420 proizvajalca Wissenschaftlich-Technische-Werkstätten (WTW), na katerega sem priključila elektrodo za meritev pH (Slika 11). Predhodno sem pH meter kalibrirala s certificiranima pufroma pH 7 in pH 10. Vrednost pH nam na zelo hiter in enostaven način pokaže spremembe in odstopanja, ki nastajajo v vodi. Večja odstopanja so zlasti pomembna za vodne organizme. Naravna vrednost pH je v odvisnosti od koncentracije CO₂, trdote vode (hidrogenkarbonati) in temperature vode. Temperatura je obvezen parameter, ki ga podajmo pri meritvi pH.



Slika 11: Terenski merilec Multi 3420 z elektrodami za meritev pH, kisik in prevodnost (L. Rušnjak)

Morska voda ima običajno pH med 7.5 in 8.4 (Slika 12), je kot pufer (Nyabakken, 1997). Dobson in Frid (2009) pravita, da ima morska voda v nasprotju s celinskimi vodami stabilen pH, in sicer 8.0 ± 0.2 .



Slika 12: pH skala (Nyabakken, 1997)

3.2.1.5.2 Temperatura vode in zraka

Meritve temperature v vodi sem direktno odčitala z merilca pH, saj se temperatura izpiše na monitorju. Temperaturo zraka sem merila z alkoholnim termometrom (0–50 °C) na višini 1 m, v senci.

3.2.1.5.3 Slanost

Meritve slanosti sem opravljala s terenskim merilcem Multi 3420 proizvajalca Wissenschaftlich-Technische-Werkstätten (WTW), na katerega sem priključila elektrodo za meritve prevodnosti. Slanost se direktno izpiše na monitorju. Slanost na območju vzorčenja zelo niha zaradi pritokov sladke vode in je odvisna od plimovanja. Čeprav slanost niha, se razmerje soli ne spreminja, delež sestavin ostaja nespremenjen (Preglednica 5).

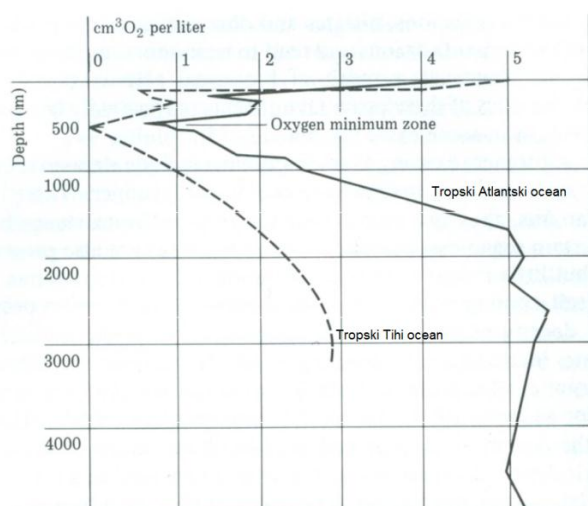
Preglednica 5: Sestava mikro im makro komponent (Nyabakken, 1997)

Ion	Percent by weight
A. Major	
Chloride (Cl ⁻)	55.04
Sodium (Na ⁺)	30.61
Sulfate (SO ₄ ²⁻)	7.68
Magnesium (Mg ²⁺)	3.69
Calcium (Ca ²⁺)	1.16
Potassium (K ⁺)	1.10
Subtotal	99.28
B. Minor	
Bicarbonate (HCO ₃ ⁻)	0.41
Bromide (Br ⁻)	0.19
Boric acid (H ₃ BO ₃)	0.07
Strontium (Sr ²⁺)	0.04
Subtotal	0.71
Total	99.99

3.2.1.5.4 Kisik

Meritve kisika sem opravila s terenskim merilcem Multi 3420 proizvajalca Wissenschaftlich-Technische-Werkstätten (WTW), na katerega sem priključila elektrodo za meritev kisika. Vrednost kisika je podana v mg O₂/l in se direktno izpiše na monitorju. Kisik je plin, ki ima poleg drugih v vodi raztopljenih plinov najpomembnejšo vlogo za življenje v vodi. Na topnost plinov v vodi vplivajo slanost, pritisk in temperatura. Fitoplankton je proizvajalec kisika, kjer poteka fotosinteza najintenzivnejše, je več kisika (Plut, 2000).

Večja je slanost, manjša je topnost kisika v vodi. Topnost je višja pri nižji temperaturi, višjem atmosferskem pritisku kakor tudi hidrostatičnem pritisku – to je tudi razlog, da v globinah ne prihaja do anoksije. Kisik ni porazdeljen enakomerno z globino. Vertikalni profil na sliki 12 nam kaže, da je največ kisika na globini 10–20 m, kjer je fotosinteza še aktivna (rastline in difuzija iz atmosfere) (Nyabakken, 1997).

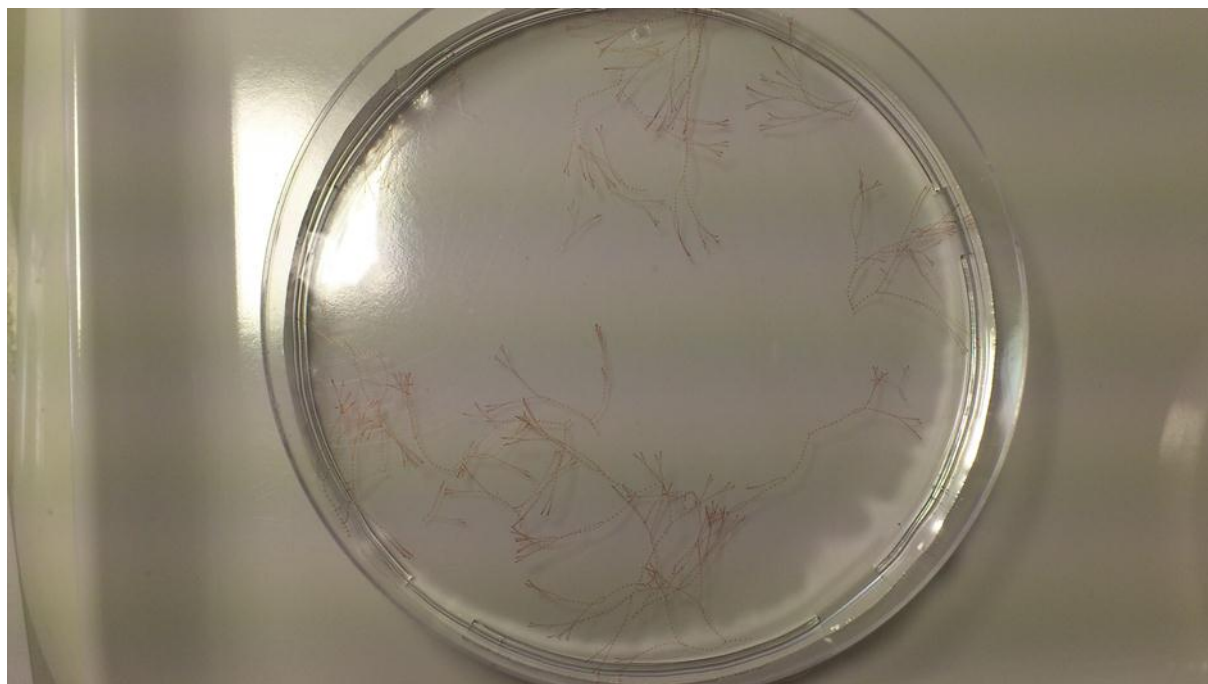


Slika 13: Spremembe kisika z globino (Nyabakken, 1997)

Vsi aerobni organizmi potrebujejo kisik za dihanje. Če je poraba kisika večja kot proizvodnja, pride do nastanka hipoksije (< 2 mg/lO₂) oz. anoksije (vsebnost kisika se približuje ničli) (MKO, 2012).

3.2.2 Testni organizmi

Za zaviranje rasti sem uporabila klon morske alge *Ceramium tenuicorne* Kützing Waern 20 S in 30 S iz fjorda v Oslu (Slika 13).



Slika 14: Kloni *Ceramium tenuicorne* (L. Rušnjak)

3.2.3 Naravna morska voda

Naravno morsko vodo sem odvzela na mestu, ki ni kontaminirano z organskimi in anorganskimi snovmi (Slika 22, točka F2). Mesto odvzema naravne morske vode z oznako F2 služi kot referenčno mesto za eutrofikacijski monitoring pri izvajanju analiz za nadzor morskih vod pri ARSU. Voda ni vsebovala vidnih delcev, zato je nisem filtrirala. Morsko vodo sem ustrezno redčila, da sem dobila slanosti 20 S in 30 S. Vrednost pH ni bila v območju 8.0 ± 0.2 , kot predpisuje standard, zato jo je bilo treba uravnati. Naravno morsko vodo sem sterilizirala v avtoklavu pri temperaturi $120\text{ }^{\circ}\text{C}$, 20 minut. Ponovno sem preverila pH. Sterilizirani naravni morski vodi sem dodala po 0,5 ml hranil: raztopine dušika (3.2.5.1), raztopine fosforja (3.2.5.2), raztopine železa (3.2.5.3), raztopine elementov v sledovih (3.2.5.4) in raztopino vitaminov (3.2.5.5). Tako pripravljeno raztopino sem uporabila za rast organizmov in testiranje. Raztopino sem hranila v hladilniku pri $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.2.4 Umetna morska voda

Umetno morsko vodo 100 S sem pripravila po navodilu standarda (glej preglednico 6). Kemikalije sem zatehtala na analitski tehtnici AT261 in jih kvantitativno prenesla v 1000-ml merilno bučko. Vrednost pH je bila v območju 8.0 ± 0.2 , kot predpisuje standard SIST ISO 10710:2011, zato uravnavanje ni bilo potrebno. Umetno morsko vodo sem sterilizirala v avtoklavu pri temperaturi $120\text{ }^{\circ}\text{C}$, 20 minut. Ponovno se preverila pH. Sterilizirani umetni

morski vodi sem dodala po 0,5 ml hranil: raztopine dušika (3.2.5.1), raztopine fosforja (3.2.5.2), raztopine železa (3.2.5.3), raztopine elementov v sledovih (3.2.5.4) in raztopino vitaminov (3.2.5.5). Tako pripravljeno raztopino sem uporabila za testiranje in adaptiranje organizmov z 20 S na 30 S. Raztopino sem hranila v hladilniku pri +4 °C.

Preglednica 6: Umetna morska voda 100 S

Snovi	Zatehta (g/l)
NaCl	70,1
Na₂SO₄	11,7
KCl	2,03
KBr	0,293
Na₂B₄O₇*10H₂O	0,113
MgCl₂*6H₂O	31,7
CaCl₂*6H₂O	6,6
SrCl₂*6H₂O	0,066

3.2.5 Hranila

Reagenti za hranila, tako kot vsi reagenti pri celotnem postopku, so znane analitske čistosti. Demineralizirana voda je stopnje 2, Milli Q. Vsa hranila sem sterilizirala v avtoklavu pod enakimi pogoji kot morsko vodo, le raztopino dušika sem zaradi previdnosti¹¹ sterilizirala tako, da sem jo segrevala na plošči 20 minut in jo prenesla v sterilizirano reagenčno steklenico.

3.2.5.1 Raztopina dušika

Zatehtala sem 5000 mg KNO₃ in ga prenesla v 100-ml merilno bučko. Koncentracija dušika v mediju (3.2.3) je bila 3462 µg/l N oz. 247 µmol/l N.

3.2.5.2 Raztopina fosforja

Zatehtala sem 680 mg KH₂PO₄ in ga prenesla v 100-ml merilno bučko. Koncentracija fosforja v mediju (3.2.3) je bila 775 µg/lP oz. 25 µmol/lP.

¹¹ H272 Lahko okrepi požar; oksidativna snov.

Previdnostni stavki:

P210 Hraniti ločeno od vročine/isker/odprtega ognja/vročih površin. – Kajenje prepovedano.

P220 Hraniti ločeno od oblačil /.../ vnetljivih materialov.

P280 Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz. (Vir: varnostni list)

Rušnjak L. Vpliv onesnažil v priobalnem pasu na zaviranje rasti morske in brakične makroalge *C. tenuicorne*
Zaključna naloga. Koper, Univ. na Primorskem, Farnit, Štud. program Biodiverzitet, 2012

3.2.5.3 Raztopina železa

Zatehtala sem 100 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in ga prenesla v 100-ml merilno bučko. Koncentracija železa v mediju (3.2.3) je bila 103 $\mu\text{g/lFe}$ oz. 1,9 $\mu\text{mol/lFe}$.

3.2.5.4 Raztopina elementov v sledovih

Pripravila sem raztopino, kot kaže preglednica 7. Raztopino sem pred dodajanjem 10-krat redčila.

Preglednica 7: Raztopina elementov v sledovih

Reagenti	Zatehta	Koncentracija v mediju (3.2.3)	Koncentracija v mediju (3.2.3)
Na_2EDTA	6000 mg/l	Ni element v sledovih	
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	620 mg/l	10 $\mu\text{g/l Mn}$	0,18 $\mu\text{mol/l Mn}$
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250 mg/l	2,84 $\mu\text{g/l Zn}$	0,043 $\mu\text{mol/l Zn}$
$\text{Na}_2\text{MoO}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	130 mg/l	2,58 $\mu\text{g/l Mo}$	0,027 $\mu\text{mol/l Mo}$
$\text{CoSO}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4 mg/l	0,042 $\mu\text{g/l Co}$	0,0007 $\mu\text{mol/l Co}$
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	4 mg/l	0,05 $\mu\text{g/l Cu}$	0,0008 $\mu\text{mol/l Cu}$

3.2.5.5 Raztopina vitaminov

Pripravila sem raztopino, kot kaže preglednica 8.

Preglednica 8: Raztopina vitaminov

Kemikalija	Zatehta	Koncentracija v mediju (3.2.3)
Tiamin (B_1)	10 mg/100 ml	50
Cianokobalamin (B_{12})	0,1 mg/100 ml	0,5
Biotin (H)	0,1 mg/100 ml	0,5

3.2.6 Standardna raztopina

Pripravila sem osnovno standardno raztopino $\text{ZnSO}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,1 g/l). Zatehtala sem 0,1g $\text{ZnSO}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ in ga kvantitativno prenesla v 1000-ml merilno bučko ter dopolnila s sterilizirano vodo Milli Q do oznake. Iz osnovne raztopine sem pripravila vmesno raztopino $\text{ZnSO}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (10 mg/l). S polnilno pipeto sem odmerila 10 ml osnovne raztopine v 100-ml merilno bučko in dopolnila s sterilizirano vodo Milli Q do oznake. Iz vmesne raztopine sem pripravila pet različnih koncentracij od 0,01 mg/l do 0,08 mg/l $\text{ZnSO}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Preglednica 7). Te raztopine sem uporabila za izpostavitve alg kot standard, zato sem jih pripravila z naravno morskovo vodo 20 S.

Preglednica 9: Raztopine za izpostavitve testnih organizmov

Koncentracija ZnSO ₇ *7H ₂ O (mg/l)	Volumen vmesne raztopine (μl) / 50ml 20S
0,01	50
0,03	150
0,04	200
0,06	300
0,08	400

3.2.7 Pripomočki

Vsa steklovina in pripomočki morajo biti sterilizirani. Pripomočki ne smejo vsebovati Cu.¹²

- i. Namizni svetilki z žarnico »daylight« in možnostjo nastavitve svetlobe od $(35 \pm 7) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ do $(70 \pm 7) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
- ii. Merilec svetlobe, Steps 32010 - Lux Meter
- iii. Timer, Elektromehanska preklopna ura z nastavitjo časa: 15 min–24 ur, za zagotovitev časovne periode 14 ur svetlobe, 10 ur teme
- iv. Terenski merilec s sondami za merjenje: Multi 3420 proizvajalca Wissenschaftlich-Technische-Werkstätten (WTW), na katerega se priključi elektrodo za meritev
 - pH (IDS SenTix 940-3)
 - kisika (FDO 925)
 - slanosti (TETRACON 925-3)
- v. Mikroskop (Famnit)
- vi. Avtoklav
- vii. Sušilnik (steklovino sem sterilizirala po suhem postopku v sterilizatorju pri 150 °C 3 ure).
- viii. Analitska tehnica AT261 DeltaRange, proizvajalca Mettler toledo
- ix. Mehansko nastavljeni pipeti Hirschmann 0-100 μl in 0-1000 μl
- x. Plinski gorilnik
- xi. Skalpel
- xii. Pincete
- xiii. Škarje
- xiv. Plastične sterilne petrijevke premera 50 mm in 90 mm
- xv. Steklovina razreda A
- xvi. Alkoholni termometer
- xvii. Hladilnik Kirsch
- xviii. Zamrzovalna skrinja Gorenje

¹² Makroalga je najbolj občutljiva vrsta za Cu (EC₅₀ = 6.4 μg/l-1) in Zn (EC₅₀ = 25 μg/l-1) v primerjavi z raki (Cu, LC₅₀ = 2000 μg/l-1 Zn, LC₅₀ = 890 μg/l-1) in bakterijami (Cu, EC₅₀ = 800 μg/l-1 in Zn, EC₅₀ = 2000 μg/l-1). Rezultati kažejo, da se Zn in Cu spirata iz barv proti obraščanju in lahko dosežeta toksične koncentracije na območjih z visoko gostoto ladij.

3.3 METODE

Analize in preskuse zaviranja rasti z morsko in brakično makroalgo *Ceramium tenuicorne* sem opravljala po standardizirani metodi SIST ISO 10710:2011.

3.3.1 Razvoj testnih organizmov

Testne organizme sem razvijala v plastični petrijevki, za medij sem uporabila naravno sterilno morsko vodo 20 S. Tri vrhove alg sem gojila v 25 ml vodnega medija. Alge so rasle pri temperaturi 24 °C v laboratoriju na mizi (temperaturo sem uravnavala s klimatsko napravo in preverjala z alkoholnim termometrom) pri intenziteti svetlobe $35 \pm 7 \mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$ (namizna svetilka) in svetlobnem režimu 14 ur svetlo (6:30–20:30), 10 ur teme (20:30–6:30). Svež medij sem zamenjala 2-krat tedensko. Iz tako gojenih alg sem opravila test zaviranja v standardni raztopini $\text{ZnSO}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Alge za določanje zaviranja rasti v vzorcih sem morala postopoma adaptirati na slanost 30 S. Vodi z vsebnostjo soli 20 S sem postopoma dodajala vodo 100 S (prvi dan sem dodala 82.5 μl 100 S v 25 ml 20 S, kar ustreza 3,3 S), čez tri dni sem zvišala vsebnost soli za 3,3 S (1650 μl 100 S v 25 ml 20 S, kar ustreza 6,6 S), čez naslednje tri dni sem alge prenesla v naravno morsko vodo s slanostjo 30 S. Algam sem dvakrat tedensko menjala vodo in jih adaptirala 2 tedna za uporabo v vzorcih, ki so imeli vsebnost klorida 30 S.

3.3.2 Test s standardno raztopino $\text{ZnSO}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

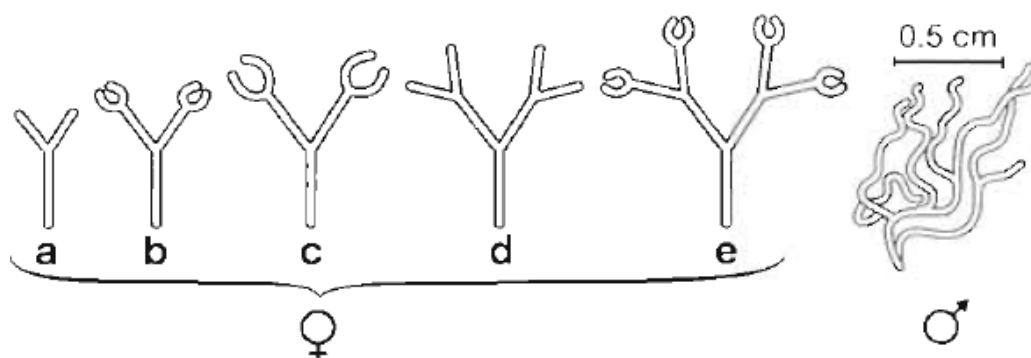
Test s standardno raztopino sem opravila zato, da sem ugotovila občutljivost organizmov in pravilnost postopka. Pravilnost testa sem ugotovila s primerjavo v standardu SIST ISO 10710:2011 .

Kontrola (včasih negativna kontrola) je ključni element pri določanju končne točke v vseh delih toksičnega testa. Kontrola tudi služi kot pokazatelj kakovosti testa. Na primer, nenadne spremembe temperature, razne izpostavitve in obremenitve med izvajanjem in neopazne bolezni lahko povzročijo smrt, čeprav ni prisotnih toksičnih snovi (Environment Kanada, 1999).

Test z znano, referenčno toksično snovjo (včasih pozitivna kontrola), pokaže drugo plat, in sicer spremembe in učinke na organizme, ter poda oceno toksičnosti testa. Referenčne, toksične snovi so običajno čiste snovi, kot npr. težke kovine (Zn) ali organske snovi (fenol), in imajo znano stopnjo toksičnosti na organizme (Environment Kanada, 1999).

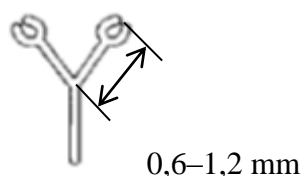
3.3.2.1 Postopek izpostavitve testnih organizmov s standardno raztopino

Odmerila sem 10 ml standardne raztopine s koncentracijami, kot so navedene v preglednici 7, v plastično petrijevko. Vzoredno sem opravila še kontrolno raztopino 20 S. Vsako koncentracijo in kontrolno raztopino sem opravila v štirih ponovitvah, v vsako petrijevko sem dala 2 vrhova alg. V testu sem uporabila samo ženske gametofite, ker le ti rastejo enakomerno (glej sliko 14).

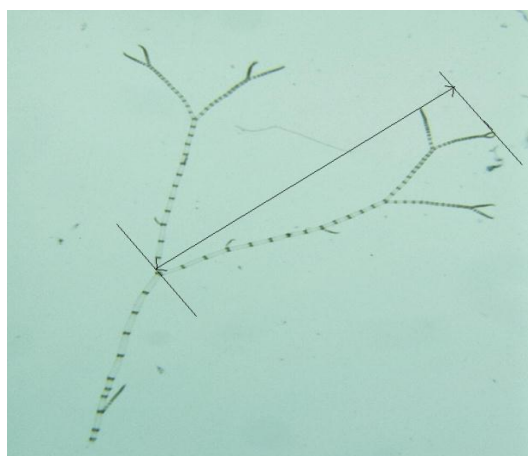


Slika 15: Rast ženskega gametofita in neenakomerna rast moškega gametofita (Eklund, 1998)

Vrhove alg sem odrezala na približno dolžino, kot je prikazano na sliki 15, in jih pod mikroskopom izmerila. Začetna alga je morala imeti dve začetni »vilici« in vsaka »vilica« je morala imeti začetni »šapici«. Dolžina od baze vilic do vrha šapic naj bi bila med 0,0 in 1,2 mm. Da sem zagotovila aseptičnost, sem vse prenose in meritve alg opravila ob plamenu. Po opravljenih meritvah sem petrijevke položila na pladenj in jih prekrila s prozorno plastično folijo, da sem preprečila izhlapevanje. Alge sem izpostavila temperaturi 24 °C na mizi v laboratoriju (temperaturo sem uravnavala s klimatsko napravo) pri intenziteti svetlobe $70 \pm 7 \mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$ in svetlobnem režimu 14 ur svetlo (6:30–20:30), 10 ur teme (20:30–6:30). Po sedmih dneh sem ponovno izmerila dolžino rasti alge (Slika 16) z mikroskopom pri povečavi 40X in izračunala zaviranje.



Slika 16: Začetna velikost alge (L. Rušnjak)



Slika 17: Dolžina rasti alge po sedmih dneh (Eklund, 1994)

3.3.3 Poskus zaviranja na vzorcu

Poskus zaviranja na vzorcu je potekal na enak način in pod istimi pogoji kot test s standardno raztopino. Test se je razlikoval le v organizmih – kjer je bila v vzorcih slanost 30 S, sem uporabila organizme, ki so bili adaptirani na to slanost. Poskuse zaviranja sem opravila na vzorcih štirih rek, na sedmih vzorčnih mestih in v enem primeru na dveh globinah.

4 REZULTATI Z DISKUSIJO

4.1 Meritve na terenu

Preglednica 10: Rezultati terenskih meritev

Reka	Slanost (S)	O ₂	pH	T vode (°C)	T zraka (°C)
Rižana ¹³	19,3	7,88	7,81	25,7	37,0
Rižana ¹⁴	18,8	7,96	7,51	25,7	37,0
Rižana ¹⁵	28,6	7,40	7,88	27,9	32,0
Badaševica ¹⁶	29,8	4,88	7,94	26,7	29,0
Badaševica ¹⁷	30,7	5,33	7,98	26,7	29,0
Drnica ¹⁸	37,0	6,13	8,35	23,5	20,9
Dragonja ¹⁹	36,5	6,11	8,27	23,5	20,9
Dragonja ²⁰	28,6	7,39	7,60	25,3	27,0

Iz preglednice 10 je razvidno, da slanost niha med 19,3 S in 37,0 S. Ker standard SIST ISO 10710:2011 predpisuje maksimalno slanost 32 S za določanje zaviranja rasti, sem morala vzorca Drnica¹⁹ in Dragonja²⁰ ustrezno redčiti. Vzorec Drnice je predstavljal 86,5-% delež reke, vzorec Dragonje pa 87,7-% delež reke, zato za vzorca ne morem z zagotovostjo trditi, ali bi bilo zaviranje v 100 % večje. Slanost je zelo nihala. Opažala sem, da je slanost na površinskem sloju ob izraziti oseki bistveno nižja v primerjavi z globino, medtem ko se globinski sloj bistveno ne razlikuje med oseko in plimo, ter da se slana voda globoko zajeda v notranjost rečnih kanalov.

¹³ Pred iztokom ČN Koper, vzorčeno 16. 7. 2012 ob 17:30.

¹⁴ Po iztoku ČN Koper, vzorčeno 16. 7. 2012 ob 17:30.

¹⁵ V Luki Koper d. d., vzorčeno 19. 7. 2012 ob 15:30.

¹⁶ Globina 0–25 cm, vzorčeno 11. 7. 2012 ob 06:30.

¹⁷ Globina pod 40 cm, vzorčeno 11. 7. 2012 ob 06:30.

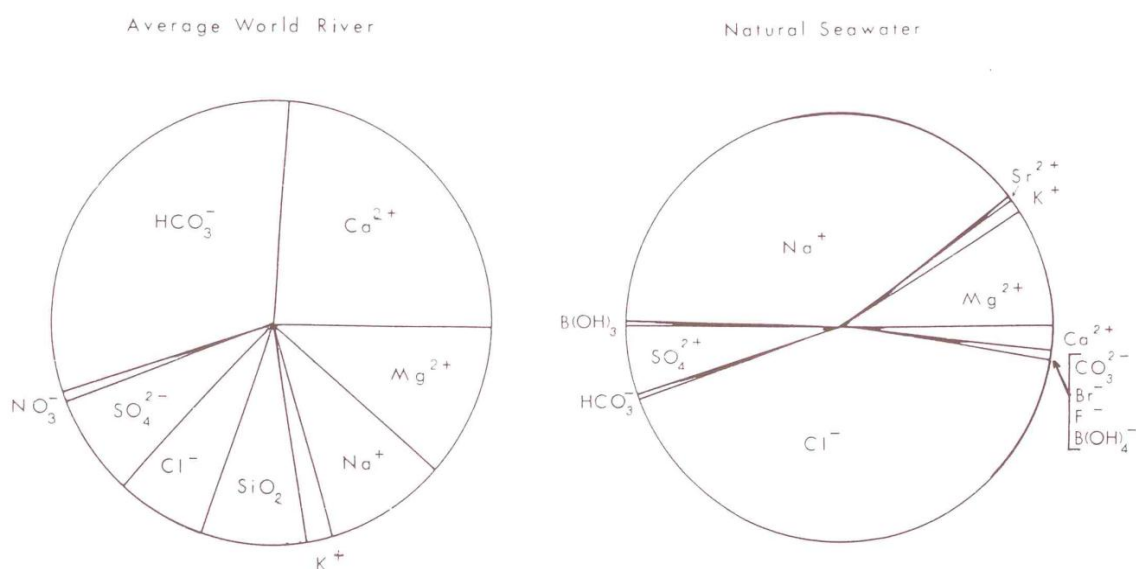
¹⁸ Na izlivu reke v morje, vzorčeno 19. 7. 2012 ob 05:30.

¹⁹ Izliv reke Dragonje, vzorčeno 19. 7. 2012 ob 05:30.

²⁰ Vzorčno mesto ARSO, vzorčeno 21. 8. 2012 ob 08:45

V Tržaškem zalivu se slanost morske vode giblje med 37 S in 38 S, kar je veliko več od povprečne slanosti oceanov. Slanost morja se lahko tudi zniža na 35 S oziroma ob povečanem prитоку rek (zlasti reke Pad) tudi na 30 S (Fridl in sod., 1998).

Koncentracija soli v rekah je odvisna od podlage tal in preperevanja kamnin, zato se podzemne vode razlikujejo po kemični sestavi. Skupna količina neraztopljenih snovi je v večini rek manjša kot 200 mg/kg, medtem ko je delež SO_4^{2-} , HCO_3^- , K^+ , Mg^{2+} in Ca^{2+} proti kloridu običajno večji kot v morju (glej sliko 18) (Millero in Sohn, 1991).



Slika 18: Razmerja glavnih sestavin v naravni morski vodi in rekah (Millero in Sohn, 1991)

Vsebnost kisika je v vseh vzorcih nad 2 mg/l, tako da ne predstavlja toksičnosti za vodne organizme. pH se giblje med 7,51 in 8,35, kar je značilno za morsko vodo (glej sliko 12).

4.2 Monitoring rek

Na podlagi Zakona o vodah, Zakona o varstvu okolja in vseh podzakonskih aktov, se zahteve evropskih direktiv s področja površinskih voda prenašajo v slovenski pravni red. ARSO na podlagi teh zakonov in direktiv izvaja imisijski monitoring kakovosti rek. Monitoring se izvaja od leta 2007, v nekaterih delih je potekal že prej. Z uvedbo nove direktive so se spremenili kriteriji in način ocenjevanja, zato podatkov izpred leta 2006 ne moremo primerjati med seboj.

Slovenija je članica programa Združenih narodov za okolje (UNEP) in podpisnica Barcelonske konvencije (Konvencije o varstvu Sredozemskega morja pred onesnaženjem), poleg tega sodeluje v programu MAP-Mediterranean Action Plan. V Sloveniji poteka projekt »Spremljanje kakovosti morja in vnosov s kopnega v skladu z Barcelonsko konvencijo«. Za izvajanje projekta skrbi ARSO, ki skupaj z ostalimi partnerji (izvajalci analiz, vzorčevalci ...) poskrbi za pravilno izvajane monitoringa. V preglednicah (11–14) sem zbrala podatke »obremenitve vnosa s kopnega« od leta 2003 do vključno leta 2011. V letu 2003 je bil odvzet samo en vzorec, zato verjetno rezultat ne predstavlja realne vrednosti. Poleg samo enega vzorčenja predstavlja možno napako pri oceni trenutnega zajem vzorca. Od leta 2004 so bili odvzeti trenutni vzorci štirikrat letno (kvartalno), enakomerno razporejeno čez leto.

Preglednica 11: Ocena vnosa v obalno morje R Slovenije z reko Rižano v letih od 2003 do 2011 (ARSO)

Leto	Merilno mesto	Pretok m ³ /leto	TSS t/leto	TN t/leto	TP t/leto
2003	RIŽANA	9,0*10 ⁷	1749	1595	110
2004	RIŽANA	1,12*10 ⁸	379,9	379	3,4
2005	RIŽANA	2,23*10 ⁶	215	23,2	0,4
2006	RIŽANA	1,4*10 ⁸	1276	515	5
2007	RIŽANA	1,34*10 ⁸	2324,4	443,4	10,3
2008	RIŽANA	4,13*10 ⁷	86,9	53,8	1,38
2009	RIŽANA	5,9*10 ⁷	1160,2	222,9	7
2010	RIŽANA	2,44*10 ⁸	1659	256	4,9
2011	RIŽANA	9,5*10 ⁶	44	10	0,2

Preglednica 12: Ocena vnosa v obalno morje R Slovenije z reko Badaševico v letih od 2003 do 2011 (ARSO)

Leto	Merilno mesto	Pretok m ³ /leto	TSS t/leto	TN t/leto	TP t/leto
2003	BADAŠEVICA	1,01*10 ⁷	134	33	2
2004	BADAŠEVICA	1,25*10 ⁷		122,2	0,6
2005	BADAŠEVICA	3,12*10 ⁶		13	0,6
2006	BADAŠEVICA	6,3*10 ⁶	39	46	0,4
2007	BADAŠEVICA	4,17*10 ⁶	54,6	10,7	0,2
2008	BADAŠEVICA	1,93*10 ⁶	9,8	4	0,08
2009	BADAŠEVICA	2,14*10 ⁶	180,1	21,6	0,3
2010	BADAŠEVICA	1,20*10 ⁷	100	30	0,4
2011	BADAŠEVICA	2,34*10 ⁶	6	4	0,1

Preglednica 13: Ocena vnosa v obalno morje R Slovenije z reko Drnico v letih od 2003 do 2011 (ARSO)

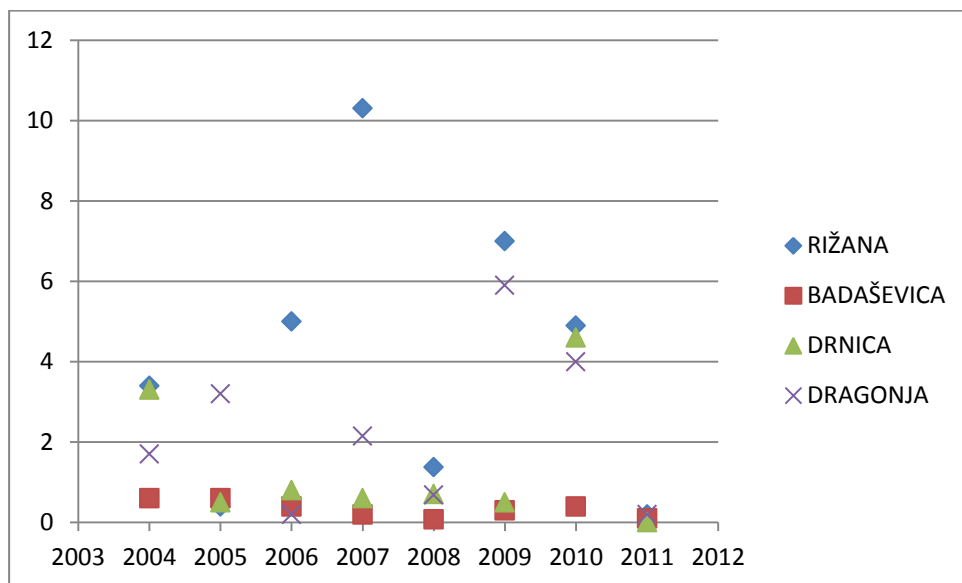
Leto	Merilno mesto	Pretok m ³ /leto	TSS t/leto	TN t/leto	TP t/leto
2003	DRNICA	7,2*10 ⁶	64	26	2
2004	DRNICA	1,69*10 ⁷		113,7	3,3
2005	DRNICA	1,22*10 ⁷		35,2	0,5
2006	DRNICA	3,5*10 ⁶	30	16	0,8
2007	DRNICA	9,37*10 ⁶	70,2	82,5	0,6
2008	DRNICA	2,82*10 ⁶	16	6,2	0,71
2009	DRNICA	2,69*10 ⁶	16,2	25,7	0,5
2010	DRNICA	4,22*10 ⁷	320	71	4,6
2011	DRNICA	1,29*10 ⁶	9	2	0,01

Preglednica 14: Ocena vnosa v obalno morje R Slovenije z reko Dragonjo v letih od 2003 do 2011 (ARSO)

Leto	Merilno mesto	Pretok m ³ /leto	TSS t/leto	TN t/leto	TP t/leto
2003	DRAGONJA	3,69*10 ⁷	58	246	7
2004	DRAGONJA	2,20*10 ⁷	74,3	101,4	1,7
2005	DRAGONJA	1,04*10 ⁸	65	288,8	3,2
2006	DRAGONJA	2,4*10 ⁶	20	9	0,2
2007	DRAGONJA	2,95*10 ⁷	150,9	181,1	2,15
2008	DRAGONJA	6,62*10 ⁶	11,4	16,8	0,68
2009	DRAGONJA	8,51*10 ⁶	250,4	68,7	5,9
2010	DRAGONJA	8,05*10 ⁷	646	110	4
2011	DRAGONJA	1,14*10 ⁶	5	2	0,2

Grafična predstavitev celotnega fosforja (Slika 19) nam pokaže, da ima reka Badaševica najnižjo vrednost, ki je bolj ali manj konstantna. Reka Drnica ima tudi nižje vsebnosti z izjemo let 2004 in 2010. Vsebnost celotnega fosforja niha v reki Dragonji in reki Rižani, vendar so vsebnosti v reki Rižani višje. Izredno nizke vrednosti se pojavljajo v vseh štirih rekah leta 2011. Zelo ugodno bi bilo, da bi se trend zniževanja vsebnosti nadaljeval.

Rušnjak L. Vpliv onesnažil v priobalnem pasu na zaviranje rasti morske in brakične makroalge *C. tenuicorne*
Zaključna naloga. Koper, Univ. na Primorskem, Farnit, Štud. program Biodiverziteti, 2012



Slika 19: Grafični prikaz TP (t/l)

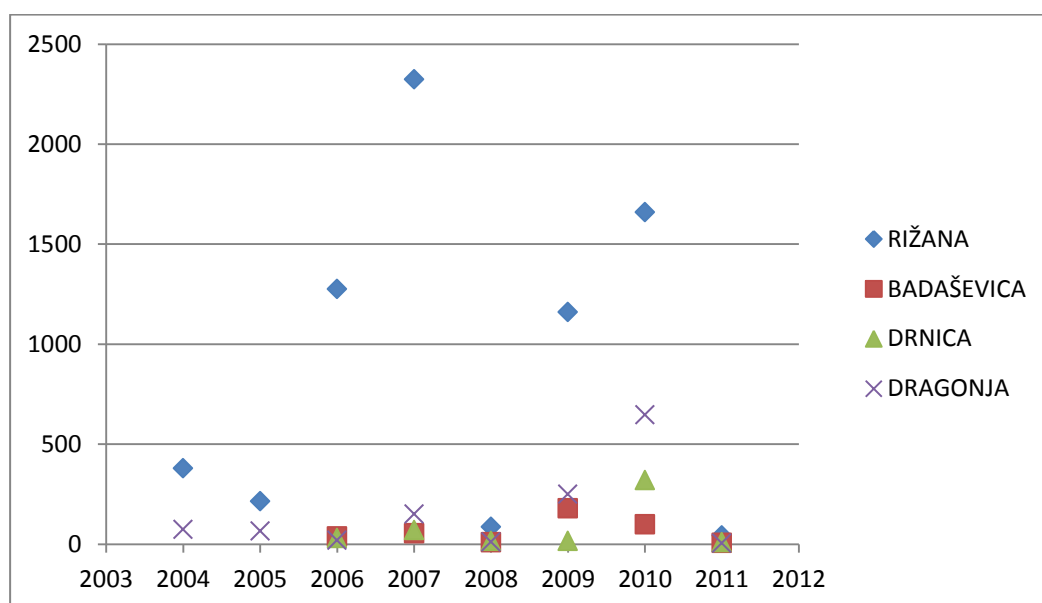
Grafični prikaz celotnega dušika (Slika 20) se bistveno ne razlikuje od celotnega fosforja, le da so tu vsebnosti višje (od 2 do 515 ton na leto), medtem ko se vsebnosti celotnega fosforja gibajo od 0,01 do 10,3 t/l.



Slika 20: Grafični prikaz TN (t/l)

Vsebnost suspendiranih delcev se giblje od 5 pa do 2324 ton/leto (Slika 21). Največ suspendiranih delcev je v reki Rižani. Največji razpon vrednosti je prisoten ravno pri suspendiranih delcih. Mislim, da največji prispevek k vrednosti rezultata prispeva čas

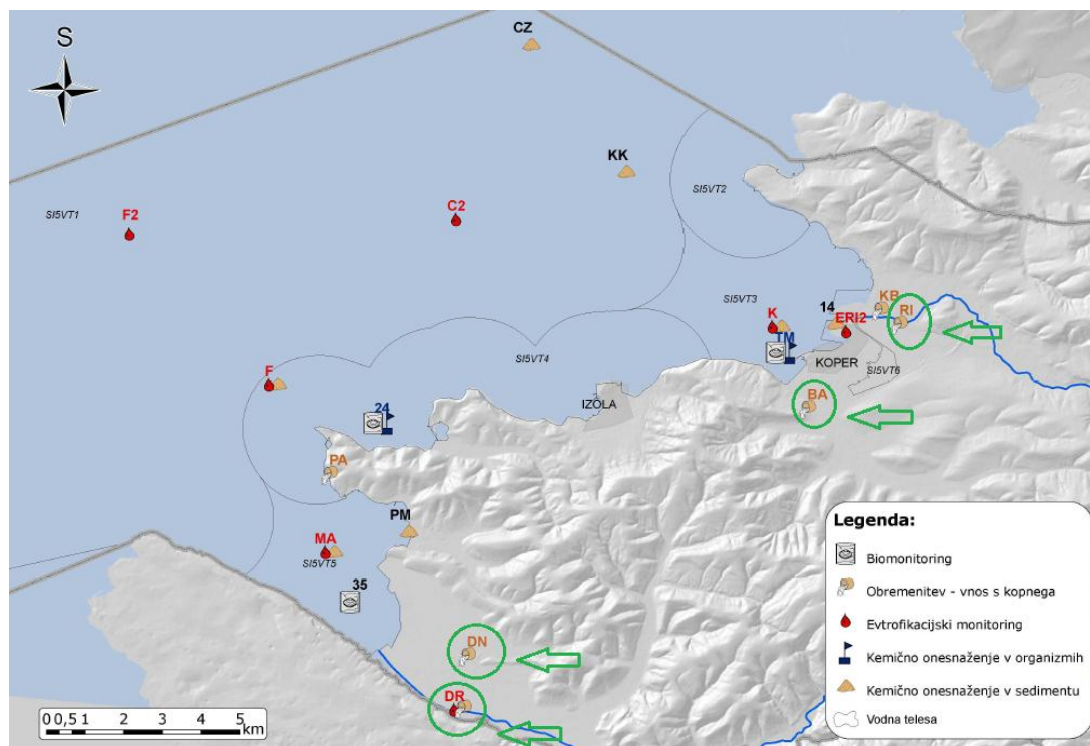
vzorčenja. Vsebnost suspendiranih snovi je zelo verjetno odvisna od tega, ali je bil vzorec odvzet v suhem vremenu, dežju, po nalivu, saj se ob povečanih padavinah poveča tudi pretok, ki pomeša delce z dna. Vsebnosti fosforja in dušika pa sta v sušnih obdobjih (nizek vodostaj) lahko višji, ker ne prihaja do redčenja vod oz. sta lahko nižji, ker ne prihaja do spiranja kmetijskih površin. Pomembno bi bilo ugotoviti, kdaj je vsebnost fosforja najvišja. Vzorčna mesta ARSA so na območjih, kjer ima morje ob plimi velik vpliv, zato bi bilo smiselno vzorčiti ob najnižji oseki, če želimo pokazati, kolikšen je vpliv vnosa rek v morje.



Slika 21: Grafični prikaz TSS (t/l)

Na spodnji sliki (Slika 22) so prikazana vzorčna mesta ARSA (zeleno obkrožena) za ugotavljanje vnosa s kopnega. Vzorčna mesta, kjer sem opravljala analize rasti zaviranja, se razlikujejo le v oddaljenosti in so pomaknjena bolj na izlive rek v morje z izjemo enega vzorčnega mesta na reki Dragonji.

Rezultatov ocene vnosa v obalno morje R Slovenije z rekami za leto 2012 še nimam, da bi lahko iz njih napovedala zaviranje, če je to povezano, vendar je v letu 2011 na vseh štirih rekah trend TSS, TN in TP v padanju. Iz preglednic 11–14 je celo opaziti, da so vrednosti v letu 2011 najnižje, zlasti je to opazno na Rižani in Dragonji.



Slika 22: Merilna mesta programa spremljanja kakovosti morja in vnosov onesnaženja s kopnega v skladu z Barcelonsko konvencijo (ARSO)

4.3 Laboratorijske analize

4.3.1 Test zaviranja s standardno raztopino $ZnSO_7 \cdot 7H_2O$

Poskus zaviranja sem opravila po postopku, navedenem v točki 3.3.2. V preglednici 15 so navedene povprečne stopnje rasti v standardu in kontroli ter odstotek zaviranja v posamezni koncentraciji standarda. Rezultata pri koncentraciji 0,08 mg/l $ZnSO_7 \cdot 7H_2O$ ne upoštevam, ker so bili prisotni osebki različnih velikosti in se je rast med pararelkami razlikovala. Povprečno stopnjo rasti v standardu in kontroli sem izračunala po sledeči formuli:

$$\mu = \frac{l7 - l0}{t7 - t0}$$

$l7$ dolžina v mm, končna meritev na 7. dan
 $l0$ dolžina v mm, začetna meritev na 0. dan
 $t7$ čas v dnevih, končna meritev na 7. dan
 $t0$ čas v dnevih, začetna meritev na 0. dan

Odstotek zaviranja stopnje rasti sem izračunala po formuli:

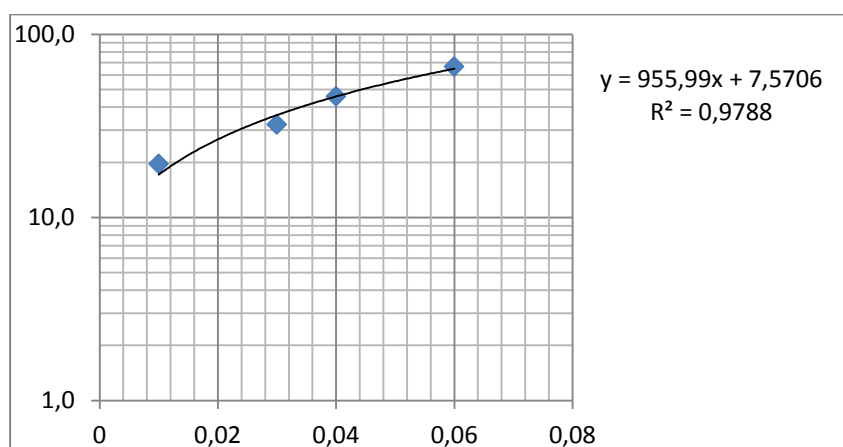
$$I_{\mu i} = \frac{\mu c - \mu i}{\mu c} \times 100$$

μc povprečna stopnja za kontrolo

μi povprečna stopnja za testno koncentracijo

Preglednica 15: Povprečna stopnja rasti *C. tenuicorne* v standardni raztopini in kontroli ter odstotek zaviranja

Standardna raztopina ZnSO ₇ *7H ₂ O (mg/l)	Povprečna stopnja rasti v standardu - μ (mm/dan)	Povprečna stopnja rasti v kontroli - μ (mm/dan)	Odstotek zaviranja (stopnje rasti) - $I_{\mu i}$
0,01	0,51814	0,64443	19,5967
0,03	0,43736	0,64443	32,1327
0,04	0,34914	0,64443	45,8214
0,06	0,21543	0,64443	66,5707



Slika 23: Odstotek zaviranja stopnje rasti

Rezultate stopnje rasti sem vnesla v graf z logaritemsko skalo (Slika 23). Iz enačbe regresijske premice sem izračunala EC₅₀ in EC₂₀. Rezultate sem primerjala z dobljenimi rezultati v standardu ISO 10710:2010. V standardu so objavljeni rezultati, ki so jih opravljali različni laboratoriji; v prvem primeru so opravljali primerjalni test, v drugem primeru pa so zbrali podatke iz standardov, ki jih uporabljajo laboratoriji (lastni materiali). Uporabljali so

standardno raztopino $ZnSO_7 \cdot 7H_2O$ in 3,5-diklorofenol. V preglednicah 16–18 so navedeni rezultati zaviranja rasti.

Iz enačbe regresijske premice za EC_{50} sem dobila rezultat 0,044 mg/l, kar ustreza rezultatom laboratorijev, dobljenih v primerjalnih testih z upoštevanjem standardne deviacije.

Iz enačbe regresijske premice za EC_{20} sem dobila rezultat 0,013 mg/l, kar ustreza rezultatom laboratorijev, dobljenih v primerjalnih testih z upoštevanjem standardne deviacije. Predvidevam, da je prišlo pri tisku v standardu do napak, ker standard navaja standardno deviacijo 0,081 pri srednji vrednosti 0,013 mg/l s koeficientom variacije 46 %.

Preglednica 16: Primerjalni test iz leta 2006, kjer je sodelovalo 6 laboratorijev

Snov	Število laboratorijev	Število veljavnih testov	Ubežniki	Povprečje EC_{50} (mg/l)	Standardna deviacija	Koeficient variacije %
$ZnSO_7 \cdot 7H_2O$	6	9	2	0,049	0,023	48

Preglednica 17: Zbrani podatki iz 6 laboratorijev, ki uporabljajo lastne standarde, izračun EC_{50}

Snov	Število laboratorijev	Število veljavnih testov	Ubežniki	Povprečje EC_{50} (mg/l)	Standardna deviacija	Koeficient variacije %
$ZnSO_7 \cdot 7H_2O$	6	11	2	0,047	0,021	46

Preglednica 18: Zbrani podatki iz 6 laboratorijev, ki uporabljajo lastne standarde, izračun EC_{20}

Snov	Število laboratorijev	Število veljavnih testov	Ubežniki	Povprečje EC_{20} (mg/l)	Standardna deviacija	Koeficient variacije %
$ZnSO_7 \cdot 7H_2O$	6	11	2	0,013	0,0081	62

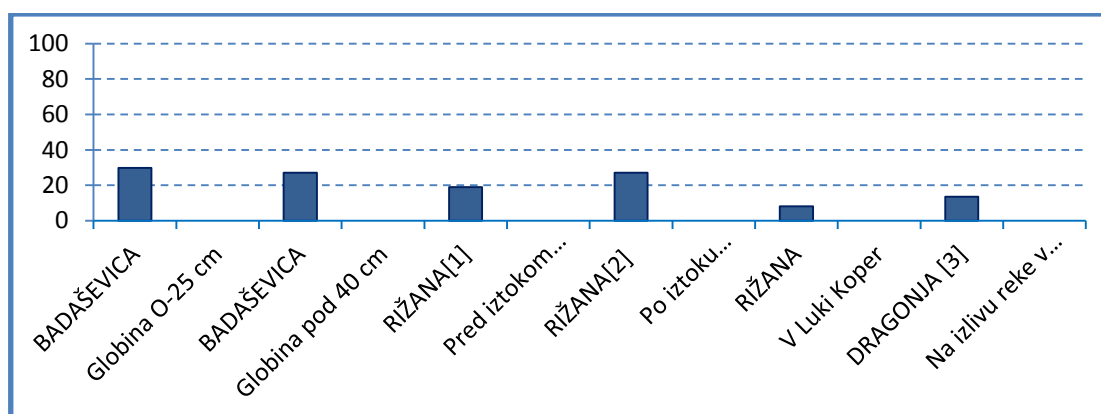
4.3.2 Test zaviranja v rekah

Meritve so potekale od 8. 8 do 15. 8. 2012 (Preglednica 19) v mediju s slanostjo 30 S, saj so tudi vzorci imeli slanost okrog 30 S, razen v reki Rižani (pred in po izpustu iz čistilne naprave Koper), kjer je bila slanost 20 S. Slanost sem zvišala z umetno pripravljeno raztopino 100 S na slanost 30 S, ker sem imela malo organizmov in sem le tako lahko uporabila isto kontrolo. Reka Dragonja je presegala slanost 32 S, zato sem jo morala redčiti, da sem dobila ustrezno slanost. Vzorec reke Dragonje je predstavljal 86,5-% delež reke. Poskuse zaviranja v Badaševici (obe globini) in Rižani (Luka Koper d. d.) sem opravila v nerazredčenemu vzorcu (100-% vzorec).

Preglednica 19: Zaviranje rasti

REKE	Povprečna stopnja rasti v REKI - μ (mm/dan)	Povprečna stopnja rasti v kontroli - μ (mm/dan)	Odstotek zaviranja (stopnje rasti) - μ i
BADAŠEVICA Globina 0–25 cm	0,26	0,37	29,7
BADAŠEVICA Globina pod 40 cm	0,27	0,37	27,0
RIŽANA ²¹ Pred iztokom iz ČN Koper	0,30	0,37	18,9
RIŽANA ²² Po iztoku iz ČN Koper	0,27	0,37	27,0
RIŽANA V Luki Koper d. d.	0,34	0,37	8,1
DRAGONJA ²³ Na izlivu reke v morje	0,32	0,37	13,5

Iz preglednice 19 in slike 24 je razvidno, da je pri vseh analiziranih vzorcih zaviranje rasti manjše od 50 %. Vzorcev ni bilo treba redčiti, zato zaviranja rasti ni mogoče izračunati iz linearne regresijske enačbe. Pri vseh vzorcih lahko trdim, da zaviranja ni, razen pri Dragonji, ker je bil vzorec redčen. Vzorec reke Dragonje je vseboval 12,3 % čiste vode in 87,3 % rečne vode. Zaviranje je bilo 13,5-%, klub temu ne morem z zagotovostjo trditi, da bi bilo zaviranje manjše kot 50 %.



Slika 24: Grafični prikaz zaviranja od 8. 8 do 15. 8. 2012

²¹ Vodi sem dodala klorid (100 S), da sem dobila slanost okrog 30 S.

²² Vodi sem dodala klorid (100 S), da sem dobila slanost okrog 30 S.

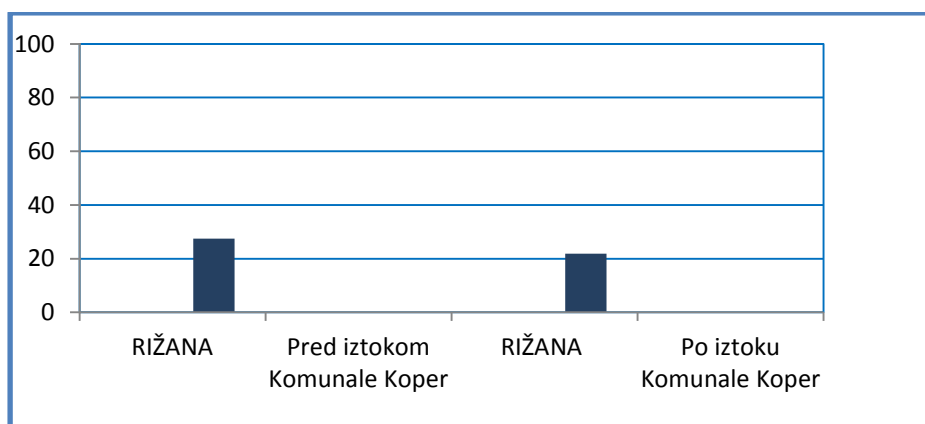
²³ Vodo sem redčila, da sem uravnala slanost okrog 30 S, vzorec je predstavljal 87,7 % deleža reke.

Meritve so potekale od 16. 8. do 23. 8. 2012 v mediju s slanostjo 20 S (Preglednica 20).
 Vzorca sta imela slanost 20 S. Alge so bile izpostavljene 100-% vzorcu.

Preglednica 20: Zaviranje rasti

REKE	Povprečna stopnja rasti v REKI - μ (mm/dan)	Povprečna stopnja rasti v kontroli- μ (mm/dan)	Odstotek zaviranja (stopnje rasti) - $I_{\mu i}$
RIŽANA Pred iztokom Komunale Koper	0,53	0,73	27,4
RIŽANA Po iztoku ČN Koper	0,57	0,73	21,9

Iz preglednice 20 in slike 25 je razvidno, da je pri obeh analiziranih vzorcih zaviranje rasti manjše od 50 %. Vzorcev ni bilo treba redčiti, zato zaviranja rasti ni mogoče izračunati iz linearne regresijske enačbe. Pri obeh vzorcih lahko trdim, da zaviranja ni.



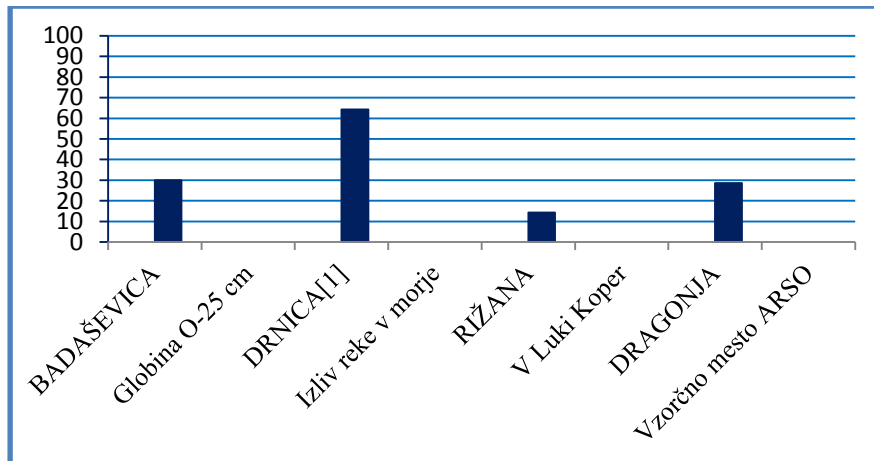
Slika 25: Grafični prikaz zaviranja od 16. 8 do 23. 8. 2012

Meritve so potekale od 30. 8. do 6. 9. 2012 v mediju s slanostjo 30 S (Preglednica 21). Poskuse zaviranja v Badaševici, Rižani in Dragonji sem opravila v nerazredčenem vzorcu (100-% vzorec). Vzorec reke Drnice sem ustrezno redčila, delež reke je predstavljal 86,5 %.

Preglednica 21: Zaviranje rasti

REKE	Povprečna stopnja rasti v REKI - μ (mm/dan)	Povprečna stopnja rasti v kontroli- μ (mm/dan)	Odstotek zaviranja (stopnje rasti) - I _{ui}
BADAŠEVICA Globina 0-25 cm	0,49	0,70	30,0
DRNICA ²⁴ Izliv reke v morje	0,25	0,70	64,3
RIŽANA V Luki Koper d.d.	0,60	0,70	14,3
DRAGONJA Vzorčno mesto ARSA	0,50	0,70	28,6

Iz preglednice 21 in slike 26 je razvidno, da je pri vseh analiziranih vzorcih razen pri Drnici zaviranje rasti manjše od 50 %. Vzorcev ni bilo treba redčiti, zato zaviranja rasti ni mogoče izračunati iz linearne regresijske enačbe. Pri teh vzorcih lahko trdim, da zaviranja ni, razen pri Drnici, kjer je bilo zaviranje rasti 60-%, vzorec je predstavljal 13,5 % čiste vode in 86,5 % deleža rečne vode.



Slika 26: Grafični prikaz zaviranja od 30. 8. do 6. 9. 2012

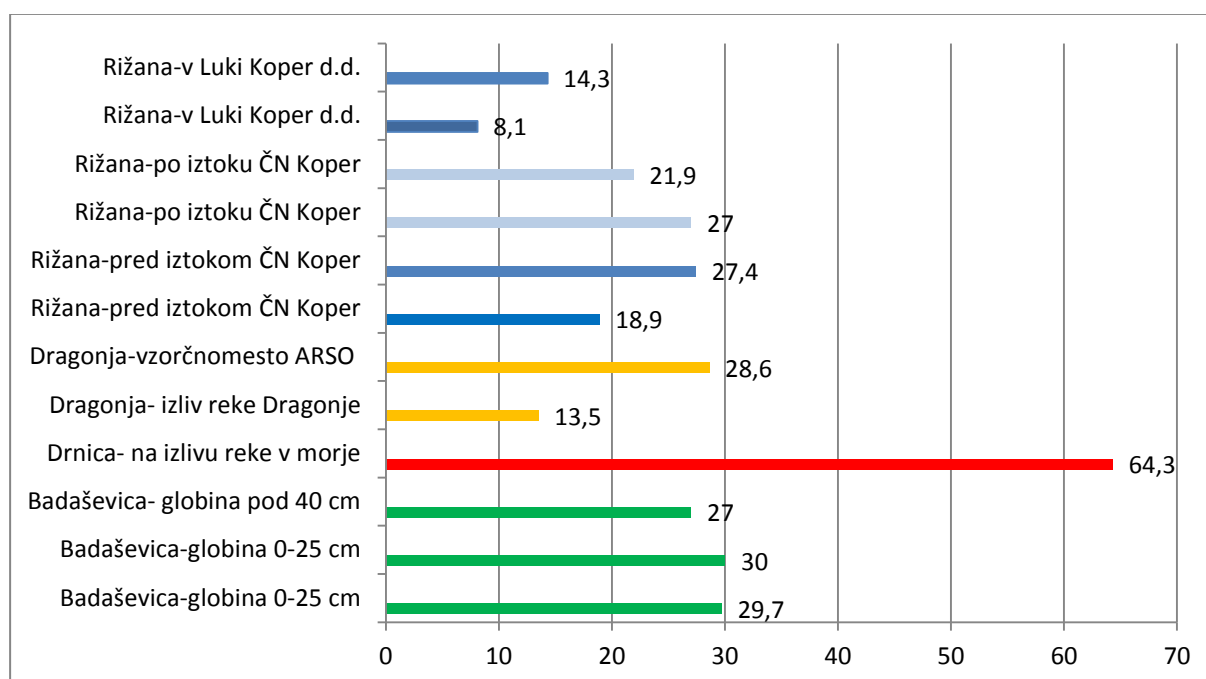
Na sliki 27 je grafično prikazano zaviranje rasti v vseh vzorcih. V reki Badaševici so tri meritve na dveh globinah pokazale zaviranje od 27 do 30 %. V reki Drnici zaviranje presega 50 %. Opravljena je bila samo ena meritev. Želela sem opraviti še eno meritev na drugem vzorčnem mestu, vendar nisem uspela pridobiti vzorca vode s slanostjo 30 S. Reka je imela še

²⁴ Vodo sem redčila, da sem uravnavala slanost okrog 30 S, vzorec je predstavljal 86,5 % deleža reke.

globoko v notranjost visoko slanost. Ker je bila opravljena samo ena meritev, tega rezultata nisem upoštevala. Predlagam spremljanje na tej lokaciji. Na reki Rižani je bilo opravljenih šest meritev na treh različnih lokacijah. Zaviranje rasti je bilo v Luki Koper d. d. od 8,1 do 14,3 %, v vzorcu pred iztokom iz čistilne naprave Koper od 18,9 do 27,4, po iztoku iz čistilne naprave Koper od 21,9 do 27,0 %.

Ker v času pred vzorčenjem in v času vzorčenja ni bilo obilnih padavin, ni prihajalo do spiranja površja, zato nisem pričakovala večjega zaviranja. Največje zaviranje sem pričakovala na reki Rižani, zato sem tam odvzela vzorce na treh lokacijah, v dveh časovnih razmikih. Iz dobljenih rezultatov lahko sklepam, da v rekah Badaševici, Dragonji in Rižani ni zaviranja rasti. Alge so bile v teh treh rekah izpostavljene 100 %, razen enega vzorca reke Dragonje na izlivu (87,7 %), in kljub temu zaviranje ni bilo višje od 30 %.

Slika 27: Grafični prikaz vseh meritev rasti zaviranja



5 ZAKLJUČEK

Metoda določanja zaviranja rasti morske in brakične makroalge *C. tenuicorne* se je v severnih državah pokazala kot zelo primerno. Znanstveniki teh držav so izvedli številne raziskave in testni organizmi *C. tenuicorne* so se izkazali kot zelo občutljivi. Razvili so metodo, ISO 10710:2011 je uporabila njihove ugotovitve in raziskave. Standardizirana metoda navaja maksimalno slanost 32 S. Severna morja in Jadransko morje se razlikujejo v vsebnosti soli. Jadransko morje vsebuje višje vsebnosti soli, tudi do 38 S. Tudi Di Toro (2001) s sodelavci ugotavlja, da pri višji slanosti več kationov lahko formira anorganske komplekse in tako niso na razpolago organizmom, zato je metoda lahko manj občutljiva. Metoda je zaradi tega neprimerna za določanje zaviranja rasti v slovenskem morju. Lahko jo uporabimo tam, kjer pride do mešanja morskih in celinskih voda, kjer slanost ne presega priporočene vrednosti. Morda bi bilo metodo dobro uporabiti za določanje zaviranja rasti pri odpadnih vodah z višjo vsebnostjo soli, vendar je dolgotrajna. Pri odpadnih vodah se za določanje strupenosti uporabljajo vodne bolhe *Daphnia magna*, vendar le do slanosti 1500mg/l Cl. Do sedaj ni nobenega priporočila ali predpisa, kako naj bi se opravljalo test strupenosti v vodah z vsebnostjo nad 1500mg/l Cl. Cilj zaključne naloge je bil ugotoviti primernost metode SIST ISO 10710:2011, Preskus zaviranja rasti z morsko in brakično makroalgo *Ceramium tenuicorne*, in raziskati vplive onesnažil v priobalnem pasu na izlivih rek v morje, ki jih prinašajo reke Dragonja, Drnica, Badaševica in Rižana z zaviranjem rasti *C.tenuicorne*. Metoda je primerna za ugotavljanje zaviranja rasti na izlivih rek v morje. Klon *C. tenuicorne* iz Baltiškega morja (7S) se lahko uporabi pri slanosti od 4 S do 12 S, morski klon (20 S, 30 S) pa kot testni organizem pri slanosti od 12 S do 32 S. Če potrebujemo slanost izven tega območja, je treba klone adaptirati na ustrezno slanost z dvigovanjem ali nižanjem slanosti vsak drugi dan za približno 3 S. Alge gojimo še dva tedna pri zeleni slanosti. Za rutinsko delo v laboratoriju se mi zdi metoda neprimerna, ker odpadne vode nimajo vedno slanosti 7 S, 20 S, 30 S in bi čas adaptacije alg podaljšal čas analize. Analiza bi trajala en mesec (en teden postopne rasti ali nižanja slanosti, dva tedna adaptacije in en teden izpostavitve organizmov testni vodi). Metodo bi bilo treba validirati in preveriti, ali je dovolj robustna za delo. Metoda je zato bolj primerna v raziskovalnih nalogah, kjer jo lahko primerjamo z ostalimi metodami za ugotavljanje toksičnosti. Z eno metodo ne moremo zanesljivo ugotavljati toksičnosti, saj so različni testni organizmi občutljivi na različne snovi in različne koncentracije. Predhodne raziskave navajajo *C. tenuicorne* kot občutljiv organizem za toksikološke raziskave, zlasti je občutljiv na cink in baker. Tudi sama sem s standardno raztopino $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ugotovila 50-% zaviranje pri 0,046 mg/l. Smiselno bi bilo opraviti dodatne raziskave toksičnosti še z drugimi metodami in primerjati metode med seboj. Izbrati bi morali metodo, kjer se pojavlja največja občutljivost. Pomembno je izbrati tudi ustrezne organizme za delo v laboratoriju. Testni organizmi bi morali prenesti višje vsebnosti soli, da bi bili primerni tudi za slovensko morje. Toksikološke teste bi bilo treba vključiti v zakonodajo in predpisati standard, s katerim

bi opravljali monitoring morja. Uporaba toksikoloških testov bi nudila večjo varnost za morje kot morski ekosistem in varno prehrano ljudi.

Delovni hipotezi, postavljeni na začetku naloge, sta ovrženi. Iz dobljenih rezultatov vidimo, da gre za manjše zaviranje rasti. Zaviranje je v treh rekah manjše od 50 %. Upoštevati pa je treba dejstvo, da v času pred in v času vzorčenja ni prišlo do večjih padavin in s tem tudi spiranja kmetijskih površin.

6 LITERATURA IN VIRI

- Bat M. in sod., 2004. Narava Slovenije, mladinska knjiga Ljubljana, str. 231.
- Bat M., Dobnikar Tehovnik M. Mihorko P., Grbović J., 2003. Tekoče vode. Vodno bogastvo Slovenije, Agencija Republike Slovenije za okolje, str. 133.
- Bergström L., Bruno E., Eklund B. in Kautsky L., 2003. Reproductive Strategies of *Ceramium tenuicorne* Near Its Inner Limit in the Brackish Baltic Sea, *Botanica Marina* Vol. 46, str.125–131.
- Bolčič J., 2000. Strategija pridelave vrtnin v Primorski regiji (podatki, posredovani meni osebno na e-mail 9. 8. 2012).
- Bricelj, M., 2004. Jadransko morje, evropsko morje pod pritiski. Geografski obzornik, leto 2004, letnik 51, številka 2, str. 18–21.
- Burger B., 2006. Hidrografske značilnosti porečja in rečne mreže reke Dragonje, <http://www.burger.si/Obala/Dragonja/Dragonja.pdf> (9. 8. 2012).
- Di Toro D. M., Allen H. E., Bergman H. L., Meyer J. S., Paquin P. R. in Santore R. C., 2001. Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 20, No. 10, str. 2383–2396.
- Dobson M., Frid C., 2009. Ecology of Aquatic Systems, 2nd Edition. Oxford, 321 strani.
- Eklund B., 1998. Reproductive performance and growth response of the red alga *Ceramium strictum* under the impact of phenol, *MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES*, Vol. 167, 119–126.
- Eklund B., 2005. Development of a growth inhibition test with the marine and brackish water red alga *Ceramium tenuicorne*, *Marine Pollution Bulletin* 50, 921–930.
- Environment Canada, 1999. Guidance document on application and interpretation of single-species tests in environmental toxicology. EPS 1/RM/34, str. 203.

Faganeli J., Fanuko N., Malej A., Planinc R., Turk V., 1988. Vpliv reke Rižane na morje v Koprskem zalivu, Naše okolje, letnik 12, št. 3-4, str. 52–55.

Fridl J., Kladnik D., Orožen Adamič M., Perko D., 1998. Geografski atlas Slovenije, Država v prostoru in času, DZS Ljubljana, 360 strani.

Geister I., 1987. Dragonja in njena poganstva. Proteus št. 6, letnik 49, str. 211–215.

Grošelj A., Benčič-Mohar E., 2000. Krajinski park Dragonja. Ministrstvo za okolje in prostor, str. 20.

<http://eionet-si.arso.gov.si/Dokumenti/GIS/voda/obremenitve/113.jpg>, (2. 8. 2012)

<http://eionet-si.arso.gov.si/Dokumenti/GIS/voda/obremenitve/130.jpg>, (2. 8. 2012)

http://gis.arso.gov.si/atlasokolja/profile.aspx?id=Atlas_Okolja_AXL@Arso (9. 8. 2012)

http://www.arhiv.mop.gov.si/si/delovna_podrocja/voda/ekolosko_stanje_povrsinskih_voda/, (2. 8. 2012)

<http://www.arso.gov.si/vode/morje/Barcelonska%202008.pdf>

<http://www.arso.gov.si/vode/morje/Barcelonska%202008.pdf>

http://www.arso.gov.si/vode/morje/Barcelonska_2007.pdf

http://www.arso.gov.si/vode/morje/Barcelonska_2010.pdf

http://www.arso.gov.si/vode/morje/Barcelonska_2011.pdf

http://www.arso.gov.si/vode/morje/Barcelonska_porocilo_2003.pdf

<http://www.arso.gov.si/vode/morje/barcelonska2004.pdf>

<http://www.arso.gov.si/vode/morje/barcelonska2005.pdf>

http://www.arso.gov.si/vode/morje/MBP_Barcelonska_2006.pdf

http://www.arso.gov.si/vode/morje/Plima2012_a5_final.pdf

<http://www.arso.gov.si/vode/reke/publikacije%20in%20poro%C4%8Dila/REKE%20porocilo%202009-2010.pdf> (15. 7. 2012)

<http://www.cas.org/cgi-bin/cas/regreport.pl>, (16. 7. 2012)

<http://www.hidrografija.si/p1/3-2.php>

<http://www.hidrografija.si/p1/3-4-1.php>

<http://www.naravovarstveni-atlas.si/ISN2KJ/profile.aspx?id=Epo@ZRSVN> (15. 7. 2012)

<http://www.naravovarstveni-atlas.si/ISN2KJ/profile.aspx?id=N2K@ZRSVN> (9. 8. 2012)

<http://www.sigma2.upr.si/it/component/fabrik/details/40/51.html> (9. 8. 2012)

Kaligarič M., Otopal J., 2008. Hudourniška in dinamična, Primorske novice, let. 62, št. 95 (24. apr. 2008), str. 18–19.

Karlsson J., Breitholtz M., Eklund B., 2006. A practical ranking system to compare toxicity of anti-fouling paints, *Marine Pollution Bulletin* 52, str. 1661–1667.

Krantz-Frid M., 2009. Ecotoxicological effects from three antifouling paints on the red macroalga *Ceramium tenuicorne*. Södertörn University, Department of Life Sciences, 23 strani.

Krbavčič S., 2010. Geografski oris reke Rižane. Projekt Reka Rižana – od izvira do izliva: Interdisciplinarne ideje mladih, *Ustvarjalnost mladih – morje interesov*, Letnik III, št. 1, str. 64.

Križan B., 2002. Naravna in kulturna dediščina doline Dragonje, *Zbornik Kultura na narodnostno mešanem ozemlju Slovenske Istre*, Znanstveni inštitut Filozofske fakultete, str. 19–49.

Krušnik C., Lipej L., Turk V., Turk R., Peroša B., Sotlar Z., Umek T., 1994. Izlivni odseki morske obale (Debeli rtič - izliv Dragonje): razvojno-raziskovalna naloga. Inštitut za biologijo, str. 140.

Malečkar F., 2010. Geografski oris reke Rižane. Projekt Reka Rižana – od izvira do izliva: Interdisciplinarne ideje mladih, *Ustvarjalnost mladih – morje interesov*, Letnik III, št. 1, str. 64.

Millero J. F. in Sohn L. M., 1991. *Chemical Oceanography*, CRC Press, 531 strani.

MOK, 2008. Poročilo o stanju okolja v mestni občini Koper, http://www.opvo.mop.gov.si/opvo_08/pso_koper.pdf, 126 strani.

Moriarty F., 2007. *Ecotoxicology, The study of pollutants in ecosystems*. Third edition. Academic press, 347 strani.

Nyabakken W. J., 1997. *Marine Biology*, 4th edition, Addison – Wesley Educational Publishers Inc. 481 strani.

Orožen Adamič M., 1979. Geografske značilnosti poplavnega sveta ob Dragonji in Drnici. *Geografski zbornik, letnik 19/2, 1979 (1980)*, str.155 - 212

Orožen Adamič M., 2002. Geomorphological features of the bay of Trieste and its shore , *Dela 18*, str. 143–155.

Perko D., Orožen Adamič M., 1998. *Slovenija pokrajine in ljudje*, Založba Mladinska knjiga, 735 strani.

Plut D., 1980. Geografske značilnosti poplavnega sveta ob Rižani in Badaševici. *Geografski zbornik, letnik 19/2, 1979 (1980)*, str. 101–153.

Plut D., 2000. *Geografija vodnih virov*, Ljubljana : Filozofska fakulteta, Oddelek za geografijo, 281 strani.

Pravilnik o prvih meritvah in obratovalnem monitoringu odpadnih vod ter o pogojih za njegovo izvajanje, 2007, Uradni list RS, št. 74/2007.

Pucer A., 2005. *Popotovanje po Slovenski Istri*, Libris Koper, str. 269.

Rejec Brancelj I, 2001. *KMETIJSKO OBREMENJEVANJE OKOLJA V SLOVENIJI*, Pokrajinski vidiki obremenjevanja iz razpršenih virov, Inštitut za geografijo Ljubljana, 102 strani.

Rejec Brancelj I., 2003. *Morje. Vodno bogastvo Slovenije*, Agencija Republike Slovenije za okolje, str. 133.

RS; Ministrstvo za kmetijstvo in okolje (MKO), 2012. *Načrt upravljanja z morskim okoljem, Prevladujoče obremenitve in vplivi*. 71 strani.

Smrekar A., 2007. *Divja odlagališča odpadkov*. Geografski obzornik.

Šajn Slak A., Griessler Bulc T., *Ekoremediacije kot zaščita voda pred onesnaževanjem zaradi kmetijstva*. Geografski obzornik, 2007. http://zgs.zrc-sazu.si/Portals/8/Geografski_obzornik/go_2007_3_4.pdf.

Tišler T., Bistan M., Jemec A., 2008. *Biološki preskusi za ugotavljanje prisotnosti nevarnih kemikalij v odpadnih vodah*. Vodni dnevi, Portorož, 15. in 16. oktobr 2008.

Turk, R., Odorico, R., 2009. Zaščitena morska območja v Severnem Jadranu. *Varstvo narave*, 22 (2009) 33-45, University Press, 321 strani.

Varnostni list, Kalijev nitrat,
http://lex.si/varnostni_listi/KALII%20NITRAS-r_0361%20GHS.pdf,
Datum izdaje (izdaja 11):19. 10. 2011 (11. 8. 2012).

Walker C.H., Hopkin S.P., Sibly R.M., Peakal D.B. 2006. *Principles of Exotoxicology*. Third Edition. Taylor & Francis Group, Chapter 2, str. 315.

Ytreberg E., Karlsson J., Eklund B., 2010. Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from anti-fouling paints leached in natural and artificial brackish seawater, *Science of the Total Environment* 408, str. 2459–2466.

Zupan M., Grčman H., Lobnik F., 2008. *Raziskave onesnaženosti tal Slovenije*, Ljubljana : Agencija RS za okolje, str. 68.

ZAHVALA

Mentorici doc. dr. Eleni Varljen Bužan za pomoč in razumevanje med študijem in pri pisanju diplome.

Zahvala tudi vsem zaposlenim na Famnitu za kolegialen odnos.

Asist. Alenki Koželj, ki je hkrati tudi vodja laboratorija na ZZV Koper, kjer sem zaposlena, bi se še posebej rada zahvalila, ker me je podprla pri študiju in mi je bila vsak trenutek pripravljena pomagati.

Mojemu direktorju dr. med Milanu Kreku, ker mi je omogočil študij in verjel, da bom zmogla.

Mag. Franki Cepak, dr. Andreju Sovincu in sodelavcu Marku za organizacijo pri vzorčenju.

Doc. dr. Britti Eklund s Stockholmske Univerze za izredno pripravljenost nudenja pomoči, od pošiljanja člankov, brezplačnih testnih organizmov do takojšnjih odgovorov po elektronski pošti.

Prof. Jožetu Štirnu za strokovne nasvete glede alg.

Sodelavcem ZZV Koper, Barbari in Katji za spodbudo, Benjaminu za prilagajanje in pomoč pri delu med študijem, zlasti hvala Petri, ki je ves čas skrbela za »moje algice«.

Mojemu dragemu možu Davorju za ves trud, razumevanje in potrpljenje ter skrb za družino v času mojega triletnega študija. Mojima otrokoma Timu in Taji za spodbudne besede in pomoč. Zelo sem ponosna nanju, znova sta dokazala, kako sta odgovorna. Hvala družini, kajti brez nje ne bi zmogla.