



**NACIONALNI LABORATORIJ ZA
ZDRAVJE, OKOLJE IN HRANO**

CENTER ZA OKOLJE IN ZDRAVJE

DANTE/NL/COZ/MB/211e/PR15ARSO_Pri5

STROKOVNE PODLAGE ZA MONITORING BIOTE ZAKLJUČNO POROČILO

Maribor, januar 2016

Oddelek za okolje in zdravje Maribor

Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor, T: (02) 45 00 260, F: (02) 45 00 148, E: mb.coz@ntzohsi

Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor

ID za DDV: SI19651295, TRR: SI5601100-6000043285, BIC: BSLJIS2X, Banka Slovenije



Naslov: Strokovne podlage za monitoring biote; zaključno poročilo

Izvajalec: NACIONALNI LABORATORIJ ZA
ZDRAVJE, OKOLJE IN HRANO
Center za okolje in zdravje
Oddelek za okolje in zdravje Maribor
Prvomajska 1, 2000 MARIBOR

Naročnik: Republika Slovenija
Ministrstvo za okolje in prostor
Agencija Republike Slovenije za okolje
Vojkova 1b
1000 LJUBLJANA

Evidenčna oznaka: 211e-14/9246-15 / 1
Delovni nalog: pogodba št. 2334-14-500002 z dne 24.01.2014
Šifra dejavnosti: 211e – Projekti, raziskave in ekotoksikološki laboratorij

Izvajalci naloge:
Vodja: doc. dr. Mojca Kos Durjava, univ. dipl. inž. kem. tehnol. 

Sodelavci NLZOH: Lovro Arnuš, prof. biol.
Mojca Baskar, univ. dipl. inž. kem. tehnol.
Barbara Hajnžič, prof. biol.

Sodelavci Zavoda za
ribištvo Slovenije: dr. Samo Podgornik, univ. dipl. biol.
dr. Kaja Pliberšek, univ. dipl. biol.
Bojan Marčeta, univ. dipl. biol.
Lucija Ramšak, univ. dipl. biol.
Tone Tavčar, Wild.FishTech.
Aljaž Jenič, univ. dipl. biol.

Maribor, 25.01.2016



ODDELEK ZA OKOLJE IN ZDRAVJE MARIBOR
Vodja:

Mag. Emil Žerjav, univ. dipl. inž. kem. tehnol. 



KAZALO

STRAN

RAZLAGA POJMOV IN OKRAJŠAV.....	5
1 IZHODIŠČA.....	6
2 CILJI IN NAMEN NALOGE.....	7
3 MONITORING ORGANIZMOV IN OKOLJSKI STANDARDI KAKOVOSTI ZA ORGANIZME V OKVIRU VODNE DIREKTIVE	8
3.1 NORMALIZACIJA PODATKOV MONITORINGA ORGANIZMOV NA VSEBNOST MAŠČOB IN SUHE SNOVI	11
3.2 METODA VZORČENJA S PASIVNIMI VZORČEVALNIKI KOT ALTERNATIVA MONITORINGU NEVARNIH SNOVI V NEVREtenČARJIH	12
3.3 PRERAČUN OSK _{ORGANIZMI} IZ NIŽJEGA NA VIŠJI TROFIČNI NIVO IN IZ VIŠJEGA NA NIŽJI TROFIČNI NIVO	14
4 IZBOR VRST RIB ZA DOLOČITEV NEVARNIH SNOVI V CELINSKIH VODAH.....	16
4.1 OGRoŽENOST IN VARSTVO RIB	19
4.2 EKOLOŠKI CEHI	21
4.3 RIBE ZA PREHRANO LJUDI.....	24
4.4 TROFIČNI NIVO RIB, PREDLAGANIH ZA MONITORING BIOTE	26
5 IZBOR VRST NEVREtenČARJEV ZA DOLOČITEV NEVARNIH SNOVI V CELINSKIH VODAH.....	27
5.1 OGRoŽENOST IN VARSTVO NEVREtenČARJEV	27
5.2 PREDLOG IZBORA PRIMERNIH VRST NEVREtenČARJEV ZA DOLOČITEV NEVARNIH SNOVI V CELINSKIH VODAH	28
6 IZBOR VRST RIB ZA DOLOČITEV NEVARNIH SNOVI V MORJU.....	33
6.1 TROFIČNI NIVO RIB, PREDLAGANIH ZA MONITORING BIOTE	35
7 IZBOR VRST NEVREtenČARJEV ZA DOLOČITEV NEVARNIH SNOVI V MORJU.....	36
7.1 GOJIŠČA ŠKOLJK IN PROGRAM MONITORINGA KAKOVOSTI VODE ZA ŽIVLJENJE IN RAST MORSKIH ŠKOLJK IN MORSKIH POLŽEV.....	36
7.2 PREDLOG IZBORA PRIMERNE VRSTE NEVREtenČARJEV ZA DOLOČITEV NEVARNIH SNOVI V MORJU	37
8 ZAKLJUČEK.....	38
9 VIRI.....	40
10 PRILOGE	42



Kazalo preglednic

<i>Preglednica 1: Okoljski standardi kakovosti za organizme v Direktivi 2013/39/ES</i>	<i>7</i>
<i>Preglednica 2: Snovi iz Direktive 2013/39/ES z OSK_{organizmi}, vrsto organizmov in ciljem zaščite</i>	<i>9</i>
<i>Preglednica 3: Predlagane vrste rib, zahtevana starost, priporočene dolžine osebkov in obdobje odvzema za namen določitve nevarnih snovi v celinskih vodah. Prioritete za odvzem se nižajo z mestom na seznamu</i>	<i>17</i>
<i>Preglednica 4: Vrste rib primerne za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah</i>	<i>20</i>
<i>Preglednica 5: Ekološki cehi vrst rib za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah</i>	<i>24</i>
<i>Preglednica 6: Številčni delež uplenjenih vrst rib v obdobju 15 let (od 2000 do 2015). Poudarjene vrste rib so vrste izbrane za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah</i>	<i>25</i>
<i>Preglednica 7: Trofični nivo rib primernih za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah</i>	<i>26</i>
<i>Preglednica 8: Razširjenost vrst rakov iz rodu Gammarus, polža rečnega prilepka (Ancylus fluviatilis) in školjke iz rodu Pisidium (vir ARSO).....</i>	<i>29</i>
<i>Preglednica 9: Vrste rib, zahtevana starost, priporočene dolžine osebkov in obdobje odvzema za namen določitve nevarnih snovi v morju. Prioritete za odvzem se nižajo z mestom na seznamu</i>	<i>34</i>
<i>Preglednica 10: Trofičnost in trofični nivo rib primernih za določitev nevarnih snovi v morju</i>	<i>35</i>



Razlaga pojmov in okrajšav

Aktivni monitoring organizmov	Vzorčenje organizmov gojenih na lokaciji.
Pasivni monitoring organizmov	Vzorčenje organizmov naravno prisotnih na lokaciji.
EFSA	Evropska agencija za varno hrano
OSK	Okoljski standard kakovosti
OSK _{organizmi}	Okoljski standard kakovosti za organizme
Metoda vzorčenja s pasivnimi vzorčevalniki	Vzorčenje s pasivnimi vzorčevalniki v vodi se lahko uporablja za oceno stanja vzorčevalnih mest, vzporedno z monitoringom nevarnih snovi v nevretenčarjih. Vzporedni monitoring s pasivnimi vzorčevalniki nam omogoči določiti kvantitativno povezavo med prosto koncentracijo nevarne snovi v vodi in med koncentracijo v nevretenčarjih. Po opravljeni validaciji povezav, lahko na vzorčevalnih mestih, kjer ni prisotnega tveganja, nadaljujemo le z vzorčenjem s pasivnimi vzorčevalniki. Na mestih, kjer je prisotno tveganje, pa je treba nadaljevati z monitoringom nevarnih snovi v nevretenčarjih.
Pasivni vzorčevalnik	Pasivni vzorčevalniki se uporabljajo za določitev proste koncentracije snovi v vodi. Poznamo dve vrsti pasivnih vzorčevalnikov, prvi temeljijo na principu porazdelitve in se uporabljajo za določitev proste koncentracije hidrofobnih snovi v vodi (n.pr. PAH) in adsorpcijske vzorčevalnike, ki se uporabljajo za določitev proste koncentracije polarnih snovi v vodi, tudi kovin. Za določitev proste koncentracije PAH v vodi se uporabljajo pasivni vzorčevalniki, ki temeljijo na principu porazdelitve. Vzorčenje poteka 2 do 8 tednov, nato iz dobljenih podatkov določimo prosto raztopljeno koncentracijo kemikalije v vodni fazi. Iz te koncentracije nato določimo koncentracijo v izbranem organizmu iz dna prehranjevalne verige, v nevretenčarjih.
PDMS	Polidimetilsiloksan
LPDE	Polietilen
SPMD	Semipermeabilna membrana
TMF	Trofični faktor povečanja
VD	Vodna direktiva, 2000/60/ES



1 Izhodišča

Izhodišče za pripravo strokovne podlage je 23. člen Zakona o varstvu okolja (Uradni list RS, št. 39/06 – uradno prečiščeno besedilo, 49/06 – ZMetD, 66/06 – Odl. US, 33/07-ZPNačrt, 57/08-ZFO-1A in 70/08), ki določa, da Vlada RS določi standarde kakovosti okolja in merila občutljivosti, ranljivosti ali obremenjenosti okolja, na podlagi katerih se deli okolja ali posamezna območja razvrščajo v razrede ali stopnje. Pri določanju standardov kakovosti okolja je treba upoštevati tudi določbe zakonodaje Evropske skupnosti, ki zlasti na področju vrednotenja kemijskega stanja površinskih voda določa skupna merila pri vrednotenju posameznih parametrov stanja površinskih voda.

Monitoring in ocenjevanje kemijskega stanja površinskih voda je treba nadgraditi z monitoringom dodatnih nevarnih snovi v organizmih, kot to zahteva Direktiva 2013/39/ES Evropskega parlamenta in Sveta o spremembi direktiv 2000/60/ES in 2008/105/ES v zvezi s prednostnimi snovmi na področju vodne politike.

2 Cilji in namen naloge

Cilj naloge je izdelati strokovne podlage za izvedbo monitoringa in ocenjevanje kemijskega stanja površinskih voda (rek, jezer in morja) na podlagi določitve nevarnih snovi v organizmih, ob upoštevanju zahtev Direktive 2013/39/ES: Direktiva 2008/105/ES o okoljskih standardih na področju vodne politike, ki je bila dopolnjena z Direktivo 2013/39/ES, predpisuje okoljske standarde kakovosti v organizmih za snovi, ki so navedene v preglednici 1.

Preglednica 1: Okoljski standardi kakovosti za organizme v Direktivi 2013/39/ES

Zap. št.	Ime snovi	CAS številka	OSK organizmi (µg/kg)
(5)	Bromirani difeniletri	32534-91-9	0,0085
(15)	Fluoranten	206-44-0	30
(16)	Heksaklorobenzen	118-74-1	10
(17)	Heksaklorobutadien	87-68-3	55
(21)	Živo srebro in njegove spojine	7439-97-6	20
(28)	Benzo(a)piren	50-32-8	5
(34)	Dikofol	115-32-3	33
(35)	Perfluorooktansulfonska kislina in njeni derivati (PFOS)	1763-23-1	9,1
(37)	Dioksini in dioksinom podobne spojine	n.p.	0,0065 (vsota TEQ)
(43)	Heksabromociklododekan (HBCDD)	25637-99-4/ 3194-55-6/ 134237-50-6/ 134237-51-7/ 134237-52-8	167
(44)	Heptaklor in heptaklorepoksid	76-44-8 / 1024-57-3	0,0067

Legenda:

n.p. = ni podatka

Navedeni okoljski standardi se nanašajo na ribe, razen za snovi pod zaporedno št. 15 in 28, kjer se standard za organizme nanaša na rake in mehkužce. Direktiva ne predpisuje, na kateri vrsti rib je treba izvajati monitoring in ali je treba navedene parametre meriti v celotni ribi ali v izbranih tkivih.

V nalogi smo pripravili strokovne podlage glede primerne izbire vrste organizmov za posamezne vodne kategorije, njihove starosti in velikosti, časa in načina vzorčenja, transporta, izbire ustreznega tkiva in priprave vzorca za posamezne parametre, načina izbire in potrebne mase organizmov za posamezno določitev ter shranjevanja izbrane vrste organizmov oziroma predpripravljenega vzorca.

3 Monitoring organizmov in okoljski standardi kakovosti za organizme v okviru Vodne direktive

Namen okoljskih standardov kakovosti (v nadaljevanju OSK) je zaščititi vodne ekosisteme pred škodljivimi učinki kemikalij in zaščititi zdravje človeka pred škodljivimi učinki v povezavi z uživanjem pitne vode ali hrane iz vodnega okolja (Evropska komisija, 2014a). OSK so tako določeni za več ciljev, ki jih želimo zaščititi. OSK za organizme (v nadaljevanju OSK_{organizmi}) imajo dva cilja zaščite:

- Zaščita pred akumulacijo kemikalij v prehranjevalni verigi, predvsem za ptice in sesalce, ki predstavlja tveganje za sekundarne zastrupitve preko uživanja onesnaženega plena. Standard označujemo z OSK_{organizmi,sek.zastr.} (Evropska komisija, 2014a).
- Zaščita zdravja človeka pred škodljivimi učinki uživanja hrane, n.pr. rib, školjk, rakov, različnih olj, onesnaženih s kemikalijami. Standard označujemo z OSK_{organizmi,čl.hrana} (Evropska komisija, 2014a).

OSK so vedno določeni tako, da ščitijo celoten ekosistem in ne le tistega, na katerega se OSK nanašajo. V navodilu za določanje OSK (Evropska komisija, 2011) je poudarjeno, da n.pr. OSK_{organizmi} za ptice in sesalce ščitijo tudi bentoške in pelagične plenilce. V preglednici 2 so predstavljene snovi iz Direktive 2013/39/ES z OSK_{organizmi} s ciljem zaščite in z vrsto organizmov, ki jih je treba preiskati v okviru monitoringa površinskih voda.

Preglednica 2: Snovi iz Direktive 2013/39/ES z OSK_{organizmi}, vrsto organizmov in ciljem zaščite

Zap. št.	Ime snovi	OSK _{organizmi} (µg/kg)	Vrsta organizma	Cilj zaščite	Uporabljeno tkivo
(5)	Bromirani difeniletri	0,0085	ribe	zdravje človeka	mišice rib
(15)	Fluoranten	30	raki ali školjke	zdravje človeka	mehko tkivo rakov ali školjk
(16)	Heksaklorobenzen	10	ribe	zdravje človeka	mišice rib
(17)	Heksaklorobutadien	55	ribe	sek. zastupitev	celotna riba
(21)	Živo srebro in njegove spojine	20	ribe	sek. zastupitev	celotna riba
(28)	Benzo(a)piren	5	raki ali školjke	zdravje človeka	mehko tkivo rakov ali školjk
(34)	Dikofol	33	ribe	sek. zastupitev	celotna riba
(35)	Perfluorooktansulfonska kislina in njeni derivati (PFOS)	9.1	ribe	zdravje človeka	mišice rib
(37)	Dioksini in dioksinom podobne spojine	0,0065 (vsota TEQ)	ribe, raki in školjke	zdravje človeka	mišice rib
(43)	Heksabromociklododekan (HBCDD)	167	ribe	sek. zastupitev	celotna riba
(44)	Heptaklor in heptaklorepoxid	0,0067	ribe	zdravje človeka	mišice rib

Legenda:

zdravje človeka =zdravje človeka preko uživanja ribjih proizvodov

sek. zastupitev =sekundarna zastupitev

Vrednosti OSK_{organizmi}, katerih cilj zaščite je zdravje človeka, so določeni na osnovi vrednosti, ki jih je določila Evropska agencija za varno hrano, EFSA. Določene so kot dopustni tedenski vnos v mikrogramih na kilogram teže telesa in maksimalnih vrednosti v hrani. Nevarne snovi, za katere so vrednosti OSK_{organizmi} določene na ta način, so predstavljene v preglednici 2 in mednje spadajo bromirani difeniletri, fluoranten, heksaklorobenzen, benzo(a)piren, perfluorooktansulfonska kislina in njeni derivati (PFOS), dioksini in dioksinom podobne spojine in heptaklor ter heptakloroepoxid. Ostale vrednosti za OSK_{organizmi}, katerih cilj je zaščita pred sekundarno zastrupitvijo, so določene na osnovi ekotoksikoloških podatkov v skladu z navodili Evropske komisije za določanje OSK (Evropska komisija, 2011). Mednje spadajo heksaklorobutadien, živo srebro in njegove spojine, dikofol in heksabromociklododekan (HBCDD).

Navodilo za monitoring organizmov (Evropska komisija, 2014a) ne določa, katero vrsto organizmov je treba vzorčiti, izbira rib oziroma nevretenčarjev (rakov in mehkužcev) je prepuščena državam članicam. Pri izbiri organizma je treba upoštevati, da je le ta odvisna od prisotnosti določene vrste na območju vzorčenja.

Odvzeti organizmi morajo biti reprezentativni za populacijo, ki mora biti dovolj številčna, da odvzeti organizmi ne vplivajo negativno na razvoj populacije na tem področju. Pri izbiri organizmov za monitoring sta možna dva pristopa (Evropska komisija, 2014a):

- pasivni monitoring, kjer se vzorčijo organizmi naravno prisotni na lokaciji;
- aktivni monitoring, kjer se vzorčijo organizmi gojeni na lokaciji.

Pri pasivnem monitoringu uporabljamo za monitoring naravno prisotne vrste, pri čemer je, kolikor je možno, treba pri ribah upoštevati trofični nivo. Izmerjene koncentracije snovi v ribah in nevretenčarjih se lahko tudi normalizirajo na vsebnost maščob ali na vsebnost suhe snovi (v primeru živega srebra in PFOS), vendar normalizacija koncentracij ni obvezna (Evropska komisija, 2014a).

Menimo, da je glede na tehnične zahteve v Sloveniji primernejši pristop pasivnega monitoringa, zato smo v nadaljevanju določili naravno prisotne vrste primerne za vzorčenje. Pri izbiri vrste rib smo, kjer je to bilo možno, upoštevali priporočilo, da je trofični nivo ribe med 3,5 do 4,5. Podatke o trofičnih nivojih rib smo iskali v bazi podatkov FishBase (Geomar, 2015).

Pri določitvi nevarnih snovi v rakih in mehkužcih se uporablja mehki del tkiva.

V ribah kemijske snovi niso enakomerno porazdeljene, zato je za ribe treba opredeliti, kateri del organizma se uporabi za določitev vsebnosti nevarnih snovi, celoten ali le mehki del, torej mišice. Države članice uporabljajo različne pristope, pri čemer je ne glede na pristop pomembno, da ne podcenimo tveganja, ki ga nevarne snovi predstavljajo za zdravje človeka ali za sekundarno zastrupitev.

V kolikor bi želeli za vsako vrsto rib določiti, v katerem delu določati posamezne nevarne snovi, da bi natančneje ocenili tveganje, bi bilo treba izvesti raziskavo na izbranih vrstah. S pomočjo statistične analize, predlagane v prilogi A.6 navodila (Evropska komisija, 2014a), bi lahko iz izmerjenih koncentracij v celotni ribi in mehkem tkivu rib določili, kateri del ribe uporabiti, da ne bi niti podcenili, niti precenili tveganja, temveč ga natančneje ocenili. Priporočamo, da se v prihodnje takšna raziskava izvede, še posebej če bi se izkazalo, da na določenih področjih monitoringa prihaja do neskladnosti z OSK_{organizmi}.

V kolikor se odločimo za določitev vseh nevarnih snovi v celotni ribi, bi za nekatere snovi precenili tveganje. To je konservativen pristop, ki zagotavlja zaščito zdravja človeka in hkrati ščiti pred sekundarno zastrupitvijo. V tem primeru za bromirane difeniletire, heksaklorbenzen, PFOS, dioksin in dioksinom podobne spojine ter heptaklor in heptaklorepoxid precenimo tveganje. Realno pa ocenimo tveganje za heksaklorbutadien, živo srebro, dikofol in HBCDD.

Vrsto tkiva, ki ga preiskujemo za ribe, je najbolje določiti v odvisnosti od cilja zaščite, na osnovi katerega je bil določen OSK_{organizmi}. V kolikor je cilj zaščite sekundarna zastrupitev, OSK_{organizmi} ščiti plenilce iz vrha prehranjevalne verige. V kolikor je cilj zaščite zdravje človeka, OSK_{organizmi} ščiti ljudi.

Na osnovi navodil (Evropska komisija, 2014a), literature (Jurgens in ostali, 2013) in premisleka o racionalnosti izvedbe monitoringa rib predlagamo, da za preiskave izberemo del ribe, ki zagotavlja zaščito za zdravje človeka ali za sekundarno zastrupitev (stolpec »Uporabljeno tkivo« v preglednici 2).

Predlagamo, da se tkivo mišic ribe uporabi za določitev bromiranih difeniletrov, heksaklorbenzena, PFOS, dioksina in dioksinom podobnih spojin ter heptaklora in heptaklorepoksida. Celotna riba pa se uporabi za določitev heksaklorbutadiena, živega srebra, dikofola in HBCDD. Celotna riba je riba z luskami, kožo, drobovjem, brez odstranjevanja delov ribe pri pripravi vzorca.

3.1 Normalizacija podatkov monitoringa organizmov na vsebnost maščob in suhe snovi

Za snovi, ki so hidrofobne in se kopičijo v maščobah organizmov, lahko izmerjene koncentracije v organizmih normaliziramo na vsebnost maščob (Evropska komisija, 2011). Privzeta vrednost maščob, uporabljena pri določitvi OSK organizmi znaša za ribe 5% in za školjke 1% (Evropska komisija, 2011) (Evropska komisija, 2014a).

Za snovi, ki se ne kopičijo v maščobah, kot so živo srebro in PFOS, lahko izmerjene koncentracije v organizmih normaliziramo na vsebnost suhe snovi (Evropska komisija, 2011). Privzeta vrednost suhe snovi, uporabljena pri določitvi OSK organizmi znaša 26% za ribe in 8,3% za školjke (Evropska komisija, 2011) (Evropska komisija, 2014a).

Normalizacija podatkov monitoringa organizmov na vsebnost maščob ali na vsebnost suhe snovi ni obvezna, lahko pa se izvede, če se država članica odloči za to. Prednost uporabe normaliziranih podatkov je boljša primerjava podatkov med državami članicami, za lokalno oceno stanja celinskih voda in morja pa se normalizacija koncentracij v organizmih ne priporoča (Evropska komisija, 2014a). Na osnovi navedenega priporočamo, da se za oceno stanja celinskih voda in morja uporabljajo izmerjene koncentracije snovi v organizmih, brez normalizacije.

V kolikor bi se ne glede na priporočilo odločili za normalizacijo izmerjenih podatkov monitoringa organizmov, potrebujemo, razen zgornjih privzetih vrednosti, tudi podatke o vsebnosti maščob in suhe snovi v odvzetih vzorcih organizmov. Splošne podatke o teh parametrih sicer lahko najdemo v literaturi, vendar zaradi večje zanesljivosti podatkov predlagamo, da se, v kolikor bi podatke monitoringa normalizirali

na vsebnost maščob in suhe snovi, te vrednosti določijo v laboratoriju, za vsak vzorec organizma posamezno.

Za normalizacijo koncentracij snovi v ribah lahko uporabimo naslednji izračun (Evropska komisija, 2014a):

$\text{konc}_{\text{norm, maščobe}} = \text{konc}_{\text{izmerj}} * 0,05 / \text{delež maščob}$	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]	snovi iz tabele 2, razen živo srebro in PFOS
$\text{konc}_{\text{norm, s.s.}} = \text{konc}_{\text{izmerj}} * 0,26 / \text{delež s.s.}$	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]	živo srebro in PFOS

Za normalizacijo koncentracij snovi v školjkah lahko uporabimo naslednji izračun (Evropska komisija, 2014a):

$\text{konc}_{\text{norm, maščobe}} = \text{konc}_{\text{izmerj}} * 0,01 / \text{delež maščob}$	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]	snovi iz tabele 2, razen živo srebro in PFOS
$\text{konc}_{\text{norm, s.s.}} = \text{konc}_{\text{izmerj}} * 0,083 / \text{delež s.s.}$	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]	živo srebro in PFOS

Legenda:

$\text{konc}_{\text{izmerj}}$ – izmerjena koncentracija snovi v ribi ali v školjki, [$\mu\text{g}/\text{kg}$]

$\text{konc}_{\text{norm, maščobe}}$ – izmerjena koncentracija snovi v ribi ali v školjki, normalizirana na vsebnost maščob, [$\mu\text{g}/\text{kg}$]

$\text{konc}_{\text{norm, s.s.}}$ – izmerjena koncentracija snovi v ribi ali v školjki, normalizirana na vsebnost suhe snovi, [$\mu\text{g}/\text{kg}$]

delež s.s. – delež suhe snovi v ribi ali v školjki, [-]

V kolikor bi izmerjene koncentracije normalizirali na vsebnost maščob in/ali suhe snovi, se pri ocenjevanju skladnosti primerja normalizirano izmerjeno koncentracijo v organizmu, t.j. $\text{konc}_{\text{norm, maščobe}}$ in/ali $\text{konc}_{\text{norm, s.s.}}$ z $\text{OSK}_{\text{organizmi}}$.

Privzeta vrednost maščob za rake postrance, ki so izbran nevretenčar, ni določena. Glede na strukturo organizma, kjer je vsebnost maščob in suhe snovi manj variabilna kakor pri ribah in v skladu z EU navodili menimo, da normalizacija koncentracij za nevretenčarje ni potrebna (Evropska komisija, 2014a).

3.2 Metoda vzorčenja s pasivnimi vzorčevalniki kot alternativa monitoringu nevarnih snovi v nevretenčarjih

Vzorčenje s pasivnimi vzorčevalniki v vodi se lahko uporablja za oceno stanja vzorčevalnih mest, vzporedno z monitoringom nevarnih snovi v nevretenčarjih (Evropska komisija, 2014a). Vzporedni monitoring s pasivnimi vzorčevalniki nam omogoči določiti kvantitativno povezavo med prosto koncentracijo nevarne snovi v vodi in med koncentracijo v nevretenčarjih. Po opravljeni validaciji povezav, lahko na

vzorčevalnih mestih, kjer ni prisotnega tveganja, nadaljujemo le z vzorčenjem s pasivnimi vzorčevalniki (Evropska komisija, 2014a). Na mestih, kjer je prisotno tveganje, pa je treba nadaljevati z monitoringom nevarnih snovi v nevretenčarjih.

Pasivni vzorčevalniki se uporabljajo za določitev proste koncentracije snovi v vodi. Poznamo dve vrsti pasivnih vzorčevalnikov, prvi temeljijo na principu porazdelitve in se uporabljajo za določitev proste koncentracije hidrofobnih snovi v vodi in adsorpcijske vzorčevalnike, ki se uporabljajo za določitev proste koncentracije polarnih snovi v vodi, tudi kovin.

Za določitev proste koncentracije PAH v vodi se uporabljajo pasivni vzorčevalniki, ki temeljijo na principu porazdelitve. Le ti vsebujejo hidrofobno polimerno snov, kot je polietilen (LPDE), napolnjen z lipidi (semipermeabilna membrana, SPMD) ali brez lipidov, lahko vsebujejo tudi silikonsko gumo (polidimetilsiloksan, PDMS) ali polioksimetilen. V hidrofobni polimerni snovi se raztapljajo hidrofobne snovi iz obdajajoče vode in se na ta način kopičijo v vzorčevalniku, saj je topnost hidrofobnih snovi precej večja v vzorčevalniku kakor v vodi. Vzorčenje poteka 2 do 8 tednov, nato iz dobljenih podatkov določimo prosto raztopljeno koncentracijo kemikalije v vodni fazi.

Postopek določitve prosto raztopljene koncentracije v vodi s pomočjo pasivnega vzorčenja je opisan v ISO standardu (ISO, 2011). Iz te koncentracije lahko po validaciji postopka določimo koncentracijo v izbranem organizmu iz dna prehranjevalne verige, v nevretenčarjih, n.pr. školjkah. Trenutno so na razpolago pasivni vzorčevalniki za monitoring nevarnih snovi iz preglednice 2, razen za živo srebro. Metoda se že več kot 10 let uspešno izvaja na Nizozemskem, več o sami metodi vključno z navedeno literaturo najdemo v navodilih (Evropska komisija, 2014a), dober pregled pasivnega vzorčenja v okviru Vodne direktive najdemo tudi v poročilu nizozemskega inštituta Deltares (Smedes, Bakker in de Weert, 2010).

V kolikor bi želeli preveriti metodo pasivnega vzorčenja za fluoranten in benzo(a)piren je treba izvesti preiskovalni monitoring z metodo pasivnega vzorčenja, vzporedno z monitoringom nevretenčarjev. PAH so hidrofobne snovi in uporabiti je treba pasivne vzorčevalnike, ki temeljijo na principu porazdelitve (Smedes, Bakker in de Weert, 2010). S pomočjo dobljenih rezultatov obeh monitoringov bi lahko validirali metodo s pasivnim vzorčenjem. V primeru, da bi bila validacija uspešno izvedena, predlagamo, da se metoda vzorčenja s pasivnimi vzorčevalniki uvede kot alternativa monitoringu nevarnih snovi v nevretenčarjih. Metoda se lahko izvaja na vzorčevalnih mestih, kjer ni prisotno tveganje. Skupni stroški investicije so odvisni od vzorčevalnih mest in od tega, kako robustna izvedba vzorčevalnikov je potrebna na konkretnem vzorčevalnem mestu. Cena enostavnejšega pasivnega vzorčevalnika se giblje med 2000 do 5000 evri, čemur je treba prišteti še stroške in čas montaže vzorčevalnika.

3.3 Preračun $OSK_{organizmi}$ iz nižjega na višji trofični nivo in iz višjega na nižji trofični nivo

Okoljski standardi kakovosti $OSK_{organizmi}$ so za bromirane difenil etre, heksaklorobenzen, heksaklorbutadien, živo srebro, dikofol, PFOS, dioksine, HBCDD in heptaklor z heptaklorepksidom določeni za ribe. Za fluoranten in benzo(a)piren so $OSK_{organizmi}$ določeni za nevretenčarje.

Preračun $OSK_{organizmi}$ iz nižjega na višji trofični nivo, na primer iz nevretenčarjev na ribe je nezanesljiv, zaradi biorazredčitve, ki je proces nasproten biomagnifikaciji. Biorazredčitve ni možno zanesljivo kvantificirati (Evropska komisija, 2014a). Standardov $OSK_{organizmi}$ za fluoranten in benzo(a)piren, ki so bili določeni za nevretenčarje, zato ni dovoljeno pretvarjati iz na višji trofični nivo (Evropska komisija, 2014a).

Preračun $OSK_{organizmi}$ iz višjega na nižji trofični nivo, na primer iz rib na nevretenčarje, je možen z spodnjim izračunom (Evropska komisija, 2014a):

$$OSK_{organizmi, x} = OSK_{organizmi} / TMF^{(4-TL(x))}$$

Legenda:

$OSK_{organizmi, x}$ – okoljski standard kakovosti za nevretenčarje, n.pr. školjke

$OSK_{organizmi}$ – okoljski standard kakovosti za ribe

TMF – trofični faktor povečanja (angl. »trophic magnification factor«)

TL (x) – trofični nivo nevretenčarja, n.pr. školjke

Za izračun potrebujemo zanesljive vrednosti trofičnega faktorja povečanja, TMF. Seznama snovi iz preglednice 1 z vrednostmi TMF v okviru Vodne direktive ni na razpolago, zato je vrednosti TMF treba poiskati v literaturi in nato oceniti zanesljivost dobljenih vrednosti. Ocenjujemo, da vrednosti TMF za vse snovi iz preglednice 1 (bromirani difenil etri, heksaklorobenzen, heksaklorbutadien, živo srebro, dikofol, PFOS, dioksini, HBCDD in heptaklor z heptaklorepksidom) niso na razpolago, vprašljiva pa je tudi njihova zanesljivost.

Kvaliteta izračunane vrednosti $OSK_{organizmi}$ je odvisna od zanesljivosti TMF vrednosti. Preračunana vrednost $OSK_{organizmi}$ za nevretenčarje je tudi običajno precej nižja kakor $OSK_{organizmi}$ za ribe (glej gornjo enačbo).

Predlagamo, da se $OSK_{organizmi}$ uporabljajo tako, kot so bili določeni na ravni EU in se jih ne preračunava. Preračun $OSK_{organizmi}$ iz nevretenčarjev na ribe namreč ni dovoljen, preračun $OSK_{organizmi}$ iz rib na nevretenčarje pa sicer je dovoljen, a je odvisen od TMF vrednosti, katere zanesljivost je lahko vprašljiva ali pa ni dostopna v literaturi. S takšnim pristopom bo ocena stanja celinskih vod in morja realna in zanesljiva.

V kolikor želimo uporabljati vrednosti $OSK_{\text{organizmi}}$ za trofični nivo, za katerega so bile določene, je v:

- celinskih vodah potrebno izvajati monitoring izbranih vrst rib in monitoring vrst družine sladkovodnih postranic in v
- morju potrebno izvajati monitoring izbranih vrst rib in monitoring izbrane vrste školjke.

4 Izbor vrst rib za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah

V celinskih vodah Slovenije živi 86 sladkovodnih rib, od tega 67 domorodnih, štiri vrste obloustk in pet vrst sladkovodnih rakov deseteronožcev (Bertok & Bravničar, 2014). Ribje združbe v donavskem porečju so različne od tistih v jadranskem povodju. V donavskem porečju živi 68 ribjih vrst, od tega 53 domorodnih. Endemnih, to je vrst, ki živijo le na omejenem območju, je deset, vendar nobena ne živi le v Sloveniji. V Jadranskem povodju živi 38 ribjih vrst, od tega je 26 domorodnih vrst. Endemnih vrst je 12, nobena pa ne živi samo v Sloveniji. Mnoge ribje vrste so, predvsem zaradi antropogenih vzrokov, ogrožene in zato zaščitene z evropskimi in slovenskimi predpisi.

Ribja združba se vzdolž vodotoka spreminja. V izvirnih delih vodotokov, kjer je tok hiter, prevladujejo reofilne vrste rib. Gre predvsem za vrste iz družine postrvi, kot sta potočna in soška postrv. Po toku navzdol reofilne vrste postopoma zamenjajo vrste počasnejših voda t.i. indiferentne in stagnofilne vrste rib. V spodnjih tokovih rek tako prevladujejo vrste iz družine krapovcev, kot sta klen in štrkavec. Tudi v počasi tekočih in stoječih vodah (akumulacije in jezera) najdemo predvsem indiferentne in stagnofilne vrste rib.

Sestava ribje združbe se prostorsko spreminja, kar je poglavitni razlog, da za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah ne moremo izbrati zgolj ene vrste rib. Zato smo za določitev nevarnih snovi izbrali več vrst rib, ki s svojo razširjenostjo pokrijejo celotno območje Slovenije (reprezentativne vrste rib). Pri izboru reprezentativnih vrst smo upoštevali tudi vrste, ki so že določene v veljavni Uredbi o stanju površinskih voda (Uradni list RS št.14/09 98/2010 in 96/2013, 2009) in so bile določene leta 2010 (Kos Durjava in Kolar, 2010).

Prioritetni vrsti za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah sta potočna in soška postrv. Osebk te vrst odvzamemo, kjer je le mogoče. V nasprotnem primeru izberemo vrsto iz priloženega seznama (Preglednica 3 in Priloga 1), ki se jim prioriteta za odvzem niža z mestom v seznamu.

Pri načrtovanju izbora reprezentativnih vrst smo upoštevali naslednje kriterije (Evropska komisija, 2014a)

- vrsta je splošno in množično razširjena po območju;
- vrsta je evritopna, sposobna prilagajanja in uspevanja v različnih okoljih;
- vrsta je pretežno sedentarna in zato odraža lokalne koncentracije onesnaževal;
- vrsta je dolgoživa in lahko v njej spremljamo bioakumulacijo snovi;
- vrsta je dovolj velika, da je na razpolago dovolj vzorca za določitev;
- vrsta ni posebej zaščitena in ne predstavlja posebnega socialno ekonomskega interesa;
- kjer je mogoče, sta velikost in trofični nivo vrste primerna cilju zaščite (zdravje človeka, sekundarna zastrupitev) – trofični nivo med 3,5 do 4,5.

Za zmanjšanje variabilnosti rezultatov je pri in po vzorčenju treba upoštevati še naslednja priporočila (Evropska komisija, 2014a):

- starost ribe mora biti med 3-5 let;
- treba je določiti priporočeno velikost osebka;
- pri izračunu izmerjene koncentracije je možno, vendar ni zahtevano upoštevati korekcijske faktorje za vsebnost maščob ali suhe snovi (normalizacija izmerjenih koncentracij);
- priporočljivo je določiti spol za primerjavo rezultatov po spolu;
- področjem, kjer se ribe vlagajo, se je pri vzorčenju treba izogniti;
- obdobje, primerno za odvzem rib.

Za predlagane vrste rib smo določili zahtevano starost, predlagano dolžino osebkov in obdobje, primerno za odvzem vzorca (preglednica 3). Določili smo tudi količino vzorca, potrebnega za določitev vsebnosti nevarnih snovi, način transporta v laboratorij in vrsto tkiva, v katerem se določajo posamezni parametri (priloga 1).

Preglednica 3: Predlagane vrste rib, zahtevana starost, priporočene dolžine osebkov in obdobje odvzema za namen določitve nevarnih snovi v celinskih vodah. Prioritete za odvzem se nižajo z mestom na seznamu

Vrsta	Starost [leta]	Dolžina osebkov (cm)	Obdobje odvzema
potočna postrv	3-5	15-30	01.07. – 30.09.
soška postrv	3-5	15-30	01.07. – 30.09.
lipan	3-5	20-30	01.07. – 30.09.
klen	3-5	15-25	01.07. – 30.09.
štrkavec	3-5	15-25	01.07. – 30.09.
beli klen	3-5	15-25	01.07. – 30.09.
pohra	3-5	15-25	01.07. – 30.09.
navadni ostriž	3-5	20-25	01.07. – 30.09.
ščuka	3-5	40-65	01.07. – 30.09.
smuč	3-5	25-60	01.07. – 30.09.
rdečeoka	3-5	10-15	01.07. – 30.09.
zelenika	3-5	5-10	01.07. – 30.09.
jezerska zlatovčica ¹	3-5	15-30	01.07. – 30.09.

¹ Primerna za Bohinjsko jezero

Za Bohinjsko jezero predlagamo, da za določitev nevarnih snovi prioritavno uporabi jezerska zlatovčica. Vrsta se namreč uporablja za prehrano ljudi in je v jezeru glavni uplen ribičev.

Ribolov predlaganih vrst rib izvajamo s tehniko elektroribolova, redko s trnkarjenjem. Ribolov se izvaja iz kopnega ali iz čolna. Možne izvedbe tehnike elektroribolova so opisane v:

- Metodologija vzorčenja in laboratorijske obdelave vzorcev za vrednotenje ekološkega stanja rek z ribami (Ministrstvo za okolje in prostor, 2009) in v
- Metodologija vzorčenja in laboratorijske obdelave rib za vrednotenje ekološkega stanja voda na podlagi rib v skladu z zahtevami Vodne direktive (Direktiva 2000/60/ES) (Zavod za ribištvo RS, Podgornik, 2006)

Starost in dolžina telesa sta eksponencialno soodvisni. Za posamezen vodotok velja, da imajo enako dolgi osebki isto starost. Glede na to, da je dolžina osebka močno odvisna od abiotских in biotских lastnosti vodotoka v katerem osebek živi, pa enako dolge ribe v različnih vodotokih niso nujno tudi enako stare. V toplejših vodah z obilico hrane osebki rastejo hitreje od tistih v bolj hladnih vodah s pomanjkanjem hrane. Zato je pri odvzemu vzorcev za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah za odvzete osebke nujno potrebna določitev starosti.

Zahtevano starost osebkov določimo vsakemu odvzetemu osebku posebej. Osebku se odvzame do 20 lusk in se jih shrani za analizo starosti. Ta bo opravljena pred predajo vzorcev za določitev nevarnih snovi v laboratoriju. V primeru, da zaradi lastnosti vrste starosti osebka preko lusk ni mogoče določiti, se na mestu odvzema ujame še en osebek iste vrste in enake dolžine, kot jo ima za določitev nevarnih snovi odvzet osebek. Osebku se določi starost na podlagi otolita ali operkuluma. Določena starost se privzame kot starost odvzetega osebka za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah.

Priporočene dolžine osebkov za odvzem so podane na podlagi v literaturi pridobljenih podatkov o soodvisnosti dolžine in starosti pri posameznih vrstah. Gre za okvirne dolžine, ki so vzorčevalcu zgolj v pomoč. Sčasoma se bodo dolžine osebkov za odvzem prilagodile za vsako vzorčno mesto posebej. Takrat določevanje starosti odvzetim osebkom ne bo več potrebno.

Pri določitvi primerne obdobja za vzorčenje smo se odločili za obdobje odvzema po varstvenih dobah (preglednica 4), obdobje odvzema je meseca julija, avgusta in septembra (preglednica 3).

V kolikor bi želeli podatke meritev monitoringa organizmov primerjati s podatki drugih držav članic, lahko izmerjene koncentracije v ribah normaliziramo na vsebnost maščob in/ali suhe snovi. Za oceno stanja celinskih voda in morja sicer normalizacija izmerjenih koncentracij v ribah ni zahtevana ali potrebna.

Pri izboru vrste rib za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah smo sodelovali s strokovnjaki Zavoda za ribištvo Slovenije. Postopek odvzema organizmov in njihova priprava za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah so opisane v prilogi 1.

4.1 Ogroženost in varstvo rib

Vrste rib, ki so primerne za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah, njihovo ogroženost in varstvo prikazujemo v preglednici 4. Ogroženost in varstvo ribjih vrst smo povzeli po obstoječi slovenski zakonodaji in predpisih evropske skupnosti. Pri tem smo upoštevali:

1. *Direktivo o habitatih* (Evropski Svet, 1992). Pri nas implementirana z *Uredbo o zavarovanih prosto živečih živalskih vrstah* (Uradni list RS št. 46/04 109/04 84/05 115/07 96/08 36/09 102/11, 2004).
2. *Pravilnik o uvrstitvi ogroženih rastlinskih in živalskih vrst v rdeči seznam (Rdeči seznam rib in obloustk)* (Uradni list RS št.82/02 42/10, 2002).
3. *Uredbo o ribjih vrstah, ki so predmet ribolova v celinskih vodah* (Uradni list RS št.46/07, 2007) in *Pravilniku o ribolovnem režimu v ribolovnih vodah* (Uradni list RS št.99/07, 2007).

Med predlaganimi vrstami so v *Direktivi o habitatih* omenjene 3 vrste: soška postrv, lipan in pohra. Soška postrv in pohra sta navedeni v prilogi II, lipan in pohra pa v prilogi V. V prilogi II so navedene živalske in rastlinske vrste v interesu skupnosti, za ohranjanje katerih je treba določiti posebna ohranitvena območja, v prilogi V pa živalske in rastlinske vrste v interesu skupnosti, pri katerih za odvzem iz narave in izkoriščanje lahko veljajo ukrepi upravljanja.

V *Uredbi o zavarovanih prostoživečih živalskih vrstah* so prav tako omenjene 3 vrste: soška postrv, pohra in ščuka. Vse tri so navedene v poglavju A priloge 2, kjer so živalske vrste, za katere so določeni ukrepi varstva habitatov in smernice za ohranitev ugodnega stanja njihovih habitatov.

Preglednica 4: Vrste rib primerne za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah

Vrsta	Znanstveno ime	Dir. hab.	Ur.	Rd. sez.	Najm. mera	Varst. doba
potočna postrv	<i>Salmo trutta</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	E	25	1.10.–28.2.(D) 1.10.–31.3.(J)
soška postrv	<i>Salmo marmoratus</i> (Cuvier, 1829)	2	H	E	40	01.10. - 31.03.
lipan	<i>Thymalus thymalus</i> (Linnaeus, 1758)	5	-	V	30	01.12. - 15.05.
len	<i>Squalius cephalus</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	30	01.05. - 30.06.
štrkavec	<i>Squalius squalus</i> (Bonaparte, 1837)	-	-	-	30	01.05. - 30.06.
pohra	<i>Barbus balcanicus</i> (Kotlík, Tsig., Ráb & Berr., 2002)	2,5	H	-	20	01.05. - 30.06.
navadni ostriž	<i>Perca fluviatilis</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	-	01.03. - 30.06.
ščuka	<i>Esox lucius</i> (Linnaeus, 1758)	-	H	V	50	01.02. - 30.04.
smuč	<i>Sander lucioperca</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	E	50	01.03. - 30.05.
rdečeoka	<i>Rutilus rutilus</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	-	01.04. - 30.06.
zelenika	<i>Alburnus alburnus</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	-	01.04. - 30.06.
jezerska zlatovčica	<i>Salvelinus alpinus</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	-	01.12. - 28.02.

Legenda:

Dir. hab (Direktiva o habitatih) = direktiva sveta Evrope 92/43/EGS o ohranjanju naravnih habitatov ter prosto živečih živalskih in rastlinskih vrst: 2 – priloga II, 4 – priloga IV 5 – priloga V.

Ur. (Uredba) = Uredba o zavarovanih prosto živečih živalskih vrstah (Uradni list RS, št. 46/2004): Ž – živali, H – habitat.

Rd. sez. (Rdeči seznam) = Pravilnik o uvrstitvi ogroženih rastlinskih in živalskih vrst v rdeči seznam (Uradni list RS, št. 82/2002):

E – ogrožena vrsta, V – ranljiva vrsta, O1 – vrsta zunaj nevarnosti, R – redka vrsta, Ex? – domnevno izumrla vrsta.

Najm. mera, varst. doba (najmanjša mera v cm in varstvena doba) = Pravilnik o ribolovnem režimu v ribolovnih vodah (Uradni list RS 99/2007).

(D) = donavsko porečje; (J) = jadransko povodje

Na rdeči seznam je uvrščenih 5 vrst: potočna postrv, soška postrv, lipan, ščuka in smuč. Potočna postrv, soška postrv in smuč so uvrščeni v kategorijo ogrožene (E), lipan in ščuka pa v kategorijo ranljive (V) vrste. Pravilnik o uvrstitvi ogroženih rastlinskih in živalskih vrst v rdeči seznam določa, da je prizadeta vrsta (E) kategorija ogroženosti, v katero se uvrstijo vrste, katerih obstanek na območju Republike Slovenije ni verjeten, če bodo dejavniki ogrožanja delovali še naprej. Številčnost teh vrst se je zmanjšala na kritično stopnjo oziroma njihova številčnost zelo hitro upada v večjem delu areala. Ranljiva vrsta (V) je kategorija ogroženosti, v katero se uvrstijo vrste, za katere je verjetno, da bodo v bližnji prihodnosti prešle v kategorijo prizadete vrste, če bodo dejavniki ogrožanja delovali še naprej. Številčnost vrste se je v velikem delu areala

zmanjšala oziroma se zmanjšuje. Vrste so zelo občutljive na kakršnekoli spremembe oziroma poseljujejo habitate, ki so na človekove vplive zelo občutljivi.

Vse v preglednici 3 navedene vrste rib imajo v *Pravilniku o ribolovnem režimu v ribolovnih vodah* predpisane najmanjše dolžine, pri katerih je dovoljen uplen (izjema so navadni ostrž, rdečeoka in zelenika) ter varstveno dobo (v času drsti), ko jih ni dovoljeno loviti.

Glede na zgoraj predstavljena dejstva, nobena od predlaganih vrst ni prekomerno ogrožena, zato menimo, da so s stališča ogroženosti in varstva rib, vse predlagane vrste primerne za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah.

4.2 Ekološki cehi

Koncept ekoloških cehov temelji na združevanju vrst s podobnimi ekološkimi zahtevami glede na izbran okoljski dejavnik (n.pr. razmnoževanje, habitat, itd.). Za vrste, ki spadajo v isti ekološki ceh se domneva, da se podobno odzivajo na spremembe v ekosistemu. Zato je pomembno, da so za odvzem vzorcev izbrane vrste rib, ki pripadajo istemu ali vsaj podobnemu ekološkemu cehu. V nadaljevanju predstavljeni cehi po ekoloških dejavnikih se običajno uporabljajo v ekoloških študijah in so povzeti po Dušling in sod., 2004.

a) Razmnoževanje

Osnovna uporabljena značilnost pri načinu razmnoževanja je vrsta substrata na/v katerega določena vrsta rib odlaga ikre in je nujen za uspešen razvoj larv (Balon 1975, Balon 1981). Razlikujemo:

- litofilne drstnice: vrste, ki odlagajo ikre na ali v prod ali kamenje;
- lito-pelagofilne drstnice: vrste, ki odlagajo ikre na prod ali kamenje, vendar se larve razvijejo med driftom v pelagiku; od avtohtonih vrst pri nas le menek (*Lota lota*);
- pelagofilne drstnice: vrste, ki ikre sprostijo v pelagik, kjer se (kot tudi larve) razvijajo med driftom vzdolž vodotoka; od avtohtonih vrst pri nas le sabljarka (*Pelecus cultratus*);
- psamofilne drstnice: vrste, ki odlagajo ikre na ali v peščene ali kake druge fine sedimente;
- fitofilne drstnice: vrste, ki oblikovno pritrjujejo svoje ikre na rastline (makrofite, korenine dreves, veje itd.);
- fito-litofilne drstnice: vrste, ki sicer preferenčno pritrjujejo ikre na rastline, vendar jih tudi na druge trdne podlage v primeru, da rastlin ni;
- speleofilne drstnice: vrste, ki ikre pritrjujejo na strop votlinic v sedimentu in jih varujejo; od avtohtonih vrst pri nas le kapelj (*Cottus gobio*) in barjanski kapelj (*Cottus metae*);

- ostrakofilne drstnice: vrste, ki ikre sprostijo v telesno votlino školjk iz družine Unionidae; od avtohtonih vrst pri nas le pezdirk (*Rhodeus amarus*).
- morske drstnice: razmnoževanje poteka v morju; katadromne vrste.

b) Habitat

Osnovna uporabljena značilnost pri tipu habitata je preferenca do pretočnih razmer (Schiemer in Weidbacher 1992, Schiemeretal. 1994). Razlikujemo:

- reofilne vrste rib: tj. vrste z visoko preferenco do tekoče vode, ki se le izjemoma pojavljajo tudi v mirnih vodah, kamor zaidejo ob npr. klatenju; kot reofilne vrste smatramo tudi vrste, ki žive sicer v habitatih s počasnim ali zelo počasnim vodnim tokom, kjer ni prisotnih tipičnih razmer stojećih voda;
- stagnofilne vrste rib: tj. vrste rib z visoko preferenco do stoječe vode, ki se le izjemoma pojavljajo tudi v tekočih vodah; v teh primerih je njihovo pojavljanje omejeno na habitate s stoječimi vodnimi razmerami;
- indiferentne vrste rib: tj. vrste s široko toleranco do pretočnih pogojev; vrste živijo tako v tekočih kot tudi v stojećih vodah.

c) Prehrana

Osnovna uporabljena značilnost pri načinu prehranjevanja je prevladujoča prehrana glede na celotno življenjsko obdobje od mladic do odraslih osebkov (Michel in Oberdorf 1995). Razlikujemo:

- invertivorne vrste rib: vrste, ki se hranijo pretežno z nevretenčarji;
- piscivorne vrste rib: vrste, ki se hranijo pretežno z ribami; plenilske vrste rib;
- inverti-piscivorne vrste rib: vrste s populacijami oziroma delom populacije, ki kažejo pretežno invertivoro kot tudi pretežno piscivoro prehranjevalno vedenje;
- herbivorne vrste rib: vrste, ki se hranijo pretežno z hrano rastlinskega izvora (alge, makrofiti);
- omnivorne vrste rib: vrste brez jasno določljivih preferenc prehranjevanja (oportunisti) in vrste, ki se jih ne da jasno uvrstiti le v enega od prehranjevalnih cehev;
- planktivorne vrste rib: vrste, ki se hranijo pretežno s planktonom;
- filtratorske vrste: le larve piškurjev (Petromyzontidae); hrano (organski detrit) filtrirajo iz finih sedimentov.

d) Tolerantnost

Osnovna uporabljena značilnost pri delitvi na posamezne cehe je prilagodljivost vrste na kakovost vode in habitata (Oberdorff in sod. 2002):

- tolerantne vrste rib: empirično določene kot široko prilagodljive vrste na kakovost vode in habitata;
- občutljive vrste rib: empirično določene kot ozko prilagodljive vrste na kakovost vode in habitata.

e) Migracija-dolžina

Osnovna uporabljena značilnost pri delitvi vrst glede na migracijo je prepotovana razdalja (Jungwirth 1998, Schmutz in sod. 2000). Razlikujemo:

- kratke razdalje: migracije so pretežno omejene na rečno območje, kjer vrsta biva;
- srednje razdalje: migracije redno segajo v sosednje rečno območje;
- dolge razdalje: migracije redno segajo preko dveh ali več rečnih območij.

V primeru, ko posameznih vrst ni mogoče jasno povezati z eno od treh zgoraj definiranih skupin jih uvrstimo v vmesni skupini poimenovani kratke do srednje in srednje do dolge razdalje.

f) Migracija-tip

Osnovna uporabljena značilnost pri delitvi vrst glede na tip migracije je migracija v času drsti (McDowall 1997, Northcote 1998). Razlikujemo:

- Anadromne selivke: vrste, ki se na drst selijo iz morja v reke; mladice se vrnejo v morje, kjer odrastejo in spolno dozoriyo;
- Katadromne selivke: vrste, ki se na drst iz njihovih rečnih habitatov selijo v morje; mladice se vrnejo v reke, kjer odrastejo in spolno dozoriyo;
- Potamodromne selivke: vrste, ki se na drst selijo iz jezer v reke ali se na drst selijo znotraj rečnega sistema v katerem živijo.

Glede na zgoraj predstavljena dejstva je velika večina naših sladkovodnih rib potamodromnih selivk, zato je razvrščanje v ceh potamodromnih rib selivk zelo restriktivno, da se poveča njegovo indikacijsko moč. Kot potamodromne vrste rib označujemo le tiste, katerih selitev v sosednja rečna območja je bistvenega pomena za drst.

Preglednica 5: Ekološki cehi vrst rib za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah

Vrsta	Habitat	Reprodukcija	Trofičnost	Migracija distanca	Migracija tip	Občutljivost
potočna postrv	reofilna	litofilna	inverti-piscivora	kratka	se ne seli	občutljiva
soška postrv	reofilna	litofilna	inverti-piscivora	kratka	se ne seli	-
lipan	reofilna	litofilna	invertivora	kratka	se ne seli	Občutljiva
klen	indiferentna	litofilna	omnivora	kratka	se ne seli	-
štrkavec	indiferentna	litofilna	omnivora	kratka	se ne seli	-
beli klen	indiferentna	litofilna	omnivora	kratka	se ne seli	-
pohra	reofilna	litofilna	invertivora	kratka	se ne seli	-
ščuka	indiferentna	fitofilna	piscivora	kratka	se ne seli	-
smuč	indiferentna	fito-litofilna	piscivora	kratka	se ne seli	-
navadni ostrž	indiferentna	fito-litofilna	inverti-piscivora	kratka	se ne seli	tolerantna
rdečeoka	indiferentna	fito-litofilna	omnivora	kratka	se ne seli	tolerantna
zelenika	indiferentna	fito-litofilna	omnivora	kratka	se ne seli	tolerantna
jezerska zlatovčica	stagnofilna	litofilna	inverti-piscivora	kratka	se ne seli	občutljiva

S stališča ekoloških cehev so za določitev nevarnih snovi celinskih vodah izbrane reofilne in indiferentne vrste rib, ki se ne selijo in se premikajo zgolj na kratke razdalje (izkazujejo stanje na lokalnem nivoju). Pri trofičnosti so izbrane vrste, ki so visoko v prehranjevalni verigi. Piscivori so na vrhu prehranjevalne verige, inverti-piscivori pa takoj pod njimi. Tudi vsi izbrani omnivori, razen rdečeoke in zelenike, se občasno hranijo z ribami, kar zagotavlja potencialno višje kopičenje nevarnih snovi, kot pri nižjih trofičnih nivojih.

4.3 Ríbe za prehrano ljudi

Večino uplenjenih rib v Sloveniji ribíči pojedó. Seznam uplenjenih rib za obdobje zadnjih 15-ih let je prikazan v preglednici 6. Izbrane vrste rib za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah so vse ribolovne in so del prehrane ljudi. Beli klen je voden pod vrsto štrkavec.

Preglednica 6: Številčni delež uplenjenih vrst rib v obdobju 15 let (od 2000 do 2015). Poudarjene vrste rib so vrste izbrane za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah

Vrsta	Številčni delež uplenjenih vrst rib (%)
zelenika	26,13
šarenka	12,44
rdečeoka	9,71
krap	9,35
podust	6,32
klen	3,55
potočna postrv	3,50
ploščič	3,32
platnica	3,13
srebrni koreselj	2,99
črni ameriški somič	2,73
mrena	2,72
jezerska zlatovčica	2,56
rjavi ameriški somič	2,50
navadni ostriž	1,76
rdečeperka	1,36
ščuka	0,96
lipan	0,74
ogrica	0,73
androga	0,59
smuč	0,50
pisanec	0,42
som	0,30
linj	0,24
koreselj	0,18
potočna zlatovčica	0,16
križanec-soška x potočna	0,15
soška postrv	0,13
beli amur	0,13
pisanka	0,13
štrkavec	0,10
ostalo	0,46

4.4 Trofični nivo rib, predlaganih za monitoring biote

V okviru monitoringa organizmov je za ribe celinskih vod zaželeno, da je trofični nivo vzorčenega osebka med 3,0 do 4,0 oziroma za ribe na splošno med 3,5 do 4,5 (Evropska komisija, 2014a). Podani območji sta indikativni, saj se lahko zgodi, da tega pogoja ni mogoče izpolniti (Evropska komisija, 2014a). V preglednici 7 je predstavljen trofični nivo rib, predlaganih za monitoring biote. Določen je na osnovi laboratorijskih oziroma teoretičnih raziskav, podatke smo iskali v bazi podatkov FishBase (Geomar, 2015). Natančna vrednost trofičnega nivoja ribe je odvisna od prehrane posameznega osebka. V kolikor bi jo želeli določiti, je treba uporabiti metodo izotopskega merjenja (Evropska komisija, 2014a) za vsak vzorčen osebek posebej.

Preglednica 7: Trofični nivo rib primernih za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah

Vrsta	Znanstveno ime	Trofični nivo
potočna postrv	<i>Salmo trutta</i>	3,4 ± 0,1
soška postrv	<i>Salmo marmoratus</i>	4,0 ± 0,63
lipan	<i>Thymallus thymallus</i>	3,1 ± 0,42
klen	<i>Squalius cephalus</i>	2,7 ± 0,1
štrkavec	<i>Squalius squalus</i>	3,5 ± 0,4
pohra	<i>Barbus balcanicus</i>	3,0 ± 0,3
navadni ostriž	<i>Perca fluviatilis</i>	4,4 ± 0,0
ščuka	<i>Esox lucius</i>	4,1 ± 0,4
smuč	<i>Sander lucioperca</i>	4,0 ± 0,78
rdečeoka	<i>Rutilus rutilus</i>	3,0 ± 0,0
zelenika	<i>Alburnus alburnus</i>	2,7 ± 0,29
jezerska zlatovčica	<i>Salvelinus alpinus</i>	4,4 ± 0,5

Legenda:

Trofični nivo – srednja vrednost trofičnega nivoja s podano standardno napako (vir www.fishbase.org).

Iz preglednice 7 je razvidno, da vse izbrane ribe, razen klena in zelenike, sodijo v območji trofičnih nivojev med 3,0 do 4,0 oziroma 3,5 do 4,5. Trofični nivo klena in zelenike znaša 2,7, kar je 10% manj od predlagane spodnje meje indikativnega območja za ribe celinskih vod. Zato menimo, da so glede na trofični nivo vse izbrane ribe ustrezne in dodatne raziskave na vzorčenih osebkih niso potrebne.

5 Izbor vrst nevretenčarjev za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah

Za oceno stanja celinskih voda je treba monitoring organizmov izvajati tudi z raki ali mehkužci, v katerih je treba določiti fluoranten in benzo(a)piren. V veljavni Uredbi o stanju površinskih voda (Uradni list RS št.14/09 98/2010 in 96/2013, 2009) za celinske vode ni določena vrsta nevretenčarjev za monitoring organizmov.

Pri izbiri vrste nevretenčarjev smo upoštevali njihovo splošno razširjenost v Sloveniji. Za predlagane vrste smo določili velikost osebkov, ki so primerni za vzorčenje, obdobje, primerno za vzorčenje ter količino vzorca, potrebnega za določitev.

Pri izboru vrste nevretenčarjev smo sodelovali s strokovnjaki ARSO, ki so nam posredovali podatke o razširjenosti vrst v Sloveniji, o statusu ogroženosti in primernosti za vzorčenje.

Za določitev fluorantena in benzo(a)pirena v nevretenčarjih celinskih voda potrebujemo okoli 5 gramov mokre teže vzorca.

Postopek vzorčenja nevretenčarjev za celinske vode, pripravo vzorca na terenu, hranjenje in transport vzorcev v laboratorij in pripravo vzorca za posamezen parameter (vrsta tkiva) smo opisali v Navodilu za vzorčenje organizmov v celinskih vodah (priloga 1).

5.1 Ogroženost in varstvo nevretenčarjev

Vrste mehkužcev in rakov primerne za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah smo izbrali na osnovi podatkov o razširjenosti (vir ARSO), statusu ogroženosti in primernosti za vzorčenje. Ogroženost in varstvo mehkužcev in rakov smo povzeli po slovenski zakonodaji in predpisih evropske skupnosti. Pri tem smo upoštevali:

1. *Direktiva o habitatih* (Evropski Svet, 1992). Pri nas implementirana z *Uredbo o zavarovanih prosto živečih živalskih vrstah* (Uradni list RS št. 46/04 109/04 84/05 115/07 96/08 36/09 102/11, 2004).
2. *Pravilnik o uvrstitvi ogroženih rastlinskih in živalskih vrst v rdeči seznam (Rdeči seznam rib in obloustk)* (Uradni list RS št.82/02 42/10, 2002).

5.2 Predlog izbora primernih vrst nevretenčarjev za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah

Vrste rakov in mehkužcev, ki smo jih po dogovoru z ARSO obravnavali kot potencialno primerne za monitoring organizmov v celinskih vodah, so raki iz rodu postranic (*Gammarus*), potočni raki, polž rečni prilepek (*Ancylus fluviatilis*) in školjka iz rodu *Pisidium*.

a) Vrste rakov iz rodu *Gammarus*

V vzorcih monitoringa ekološkega stanja površinskih voda se pojavljajo vrste *Gammarus fossarum* (najpogostejše), *G. roeselii*, redkeje *G. balcanicus* in *G. lacustris*. *G. fossarum* je glede na podatke omenjenega monitoringa razširjen v skoraj vseh vodotokih, vključenih v monitoring, v nekaterih vodotokih je tudi *G. roeselii*.

Vrsti *G. fossarum* in *G. roeselii* se glede na način prehranjevanja razlikujeta. *G. fossarum* je v večji meri drobilec (7/10), v manjši meri pa detritivor (2/10) in strgalec (1/10), medtem ko je *G. roeselii* delno drobilec (5/10), delno pa tudi detritivor (3/10), strgalec (1/10) in plenilec (1/10) (Moog, 2002). Vrsti imata različen videz, zato ju je pri nabiranju možno ločiti. Glede na literaturo imajo posamezni osebki cca 30 mg mokre teže oz. 5 mg suhe teže (Besse in ostali, 2013). To bi pomenilo izlov večjega števila osebkov, za 5 g mokre teže okoli 170 osebkov. Vzorčenje poteka z ročno mrežo z vzorčenjem po ciljnih habitatih in s prebiranjem postranic iz vzorca. Vrsto je možno na mestih, kjer ni prisotna, gojiti v kletki (Besse in ostali, 2013).

b) Vrste potočnih rakov

V okviru monitoringa ekološkega stanja površinskih voda pregleda o razširjenosti ni na razpolago, ker se ob izlovu vrst le občasno znajdejo posamični primerki potočnih rakov. Glede na vir (Govedič, 2006) so vrste rakov jelševca (*Astacus astacus*), koščak (*Austropotamobius torrentium*) in koščenic (*Austropotamobius pallipes*) razširjene po celotni Sloveniji (vse tri skupaj), po prehranjevalnih tipih so si enakovredne (Moog, 2002). Treba je opozoriti, da gre za vrste, ki so v *Pravilniku o uvrstitvi ogroženih rastlinskih in živalskih vrst v rdeči seznam* (Uradni list RS št.82/02 42/10, 2002) uvrščene na rdeči seznam in opredeljene kot ranljive vrste. Izlov poteka z vršami, kjer se v past ujame samo rak. Za vzorec zadostujeta dva osebka.

c) Polž rečni prilepek (*Ancylus fluviatilis*)

Gre za polžka, ki se pojavlja na večini vzorčnih mest vodotokov, vendar je na rdečem seznamu (Uradni list RS št.82/02 42/10, 2002) opredeljen kot ranljiva vrsta. Za monitoring bi bil neprimeren zaradi velikosti, velik je nekaj mm in bi ga težko nabrali v zadostnem številu.

d) Školjka iz rodu *Pisidium*

Prisotna je v približno 80 % vodotokov iz monitoringa, vendar so osebki veliki nekaj mm do 1 cm in zato neprimerni za nabiranje v večjem številu.

Razširjenost vseh obravnavanih vrst, razen potočnih rakov, je podrobneje predstavljena v preglednici 8.

Preglednica 8: Razširjenost vrst rakov iz rodu *Gammarus*, polža rečnega prilepka (*Ancylus fluviatilis*) in školjke iz rodu *Pisidium* (vir ARSO)

+ prisoten v vzorcih						
(+) prisoten v starejših zapisih						
- odsoten v vzorcih						
Vodotok	<i>Gammarus fossarum</i>	<i>Gammarus roeselii</i>	<i>Gammarus balcanicus</i>	<i>Gammarus lacustris</i>	<i>Ancylus fluviatilis</i>	<i>Pisidium</i> sp.
Bača	+	-	-	-	-	-
Bistrica	+	-	-	-	-	+
Bolska	+	-	-	-	+	+
Cerkniščica	(+)	-	-	-	-	+
Cerkniško jezero	(+)	-	-	-	-	+
Cerkniško jezero (Stržen)	(+)	-	-	-	-	+
Čabranka	+	-	-	-	+	+
Črmošnjičica	+	-	-	-	+	-
Dragonja	+	-	-	-	-	+
Drava	+	+	-	-	+	+
Dravinja	+	-	-	-	+	+
Dreta	+	-	-	-	+	-
Gračnica	+	-	-	-	+	-
Gradaščica	+	-	-	-	+	+
Gruberjev prekop	+	-	-	-	-	+
Hubelj	+	-	+	-	+	+
Hudinja	+	-	-	-	+	+
Idrija	+	-	-	-	+	-
Idrija	+	-	-	-	+	-
Iščica	+	-	-	-	-	+
Iška	+	-	-	-	+	-
Jezerski Obrh	+	-	-	-	-	+
Kamniška Bistrica	+	-	-	-	+	+
Klivnik	+	-	-	-	-	+
Kobiljanski potok	+	+	-	-	+	+
Kobiljski potok	+	+	-	-	+	+

+ prisoten v vzorcih						
(+) (+) prisoten v starejših zapisih						
- odsoten v vzorcih						
Vodotok	Gammarus fossarum	Gammarus roeselii	Gammarus balcanicus	Gammarus lacustris	Ancylus fluviatilis	Pisidium sp.
Kokra	+	-	-	-	+	+
Kolpa	+	-	-	-	+	+
Koren	-	-	-	-	-	+
Koritnica	+	-	-	-	-	-
Krka	+	+	-	-	+	+
Krupa	+	-	-	-	+	+
Kučnica	+	+	-	-	+	+
Lahinja	+	-	-	-	-	+
Ledava	+	+	-	-	+	+
Ljubljana	+	-	-	-	+	+
Logašnica	+	-	-	-	+	+
Ložnica	+	-	-	-	+	+
Mali Graben	+	-	-	-	+	+
Mestinščica	+	-	-	-	+	+
Meža	+	-	-	-	+	-
Mirna	+	-	-	-	+	+
Mislinja	+	-	-	-	+	+
Molja	+	-	-	-	+	+
Mura	+	+	-	-	+	+
Mutska Bistrica	+	-	-	-	+	+
Nadiža	-	-	-	-	-	-
Negot	+	-	-	-	-	-
Paka	+	-	-	-	+	+
Pesnica	+	+	-	-	+	+
Pivka	(+)	-	-	-	-	+
Poljanska Sora	+	-	-	-	+	+
Polskava	+	-	-	-	+	+
Prečna	+	+	-	-	+	+
Pšata	+	-	-	-	+	+
Rača	+	-	-	-	+	+
Radešnica	+	+	-	-	-	+

+ prisoten v vzorcih						
(+) prisoten v starejših zapisih						
- odsoten v vzorcih						
Vodotok	<i>Gammarus fossarum</i>	<i>Gammarus roeselii</i>	<i>Gammarus balcanicus</i>	<i>Gammarus lacustris</i>	<i>Ancylus fluviatilis</i>	<i>Pisidium</i> sp.
Radovna	+	-	-	-	+	+
Radulja	+	-	-	-	-	+
Rak	+	-	-	-	-	+
Reka	+	-	+	-	+	+
Rinža	(+)	-	-	-	+	+
Rižana	+	-	+	-	+	+
Sava	+	(+)	-	-	+	+
Sava Bohinjka	+	-	-	-	-	+
Sava Dolinka	+	-	-	-	-	+
Savinja	+	-	-	-	+	+
Selška Sora	+	-	-	-	-	-
Soča	+	-	-	-	+	+
Sora	+	-	-	-	-	+
Sotla	+	-	-	-	+	+
Ščavnica	+	+	-	-	-	+
Temenica	+	(+)	-	-	+	+
Trebušnica	-	-	-	-	-	-
Tržiška Bistrica	+	-	-	-	+	+
Unica	+	-	-	-	-	+
Velika Krka	+	-	-	-	+	+
Velka	+	-	-	-	+	+
Vipava	+	-	-	-	+	+
Voglajna	+	-	-	-	-	+

Iz preglednice 8 je razvidno, da je vrsta *Gammarus fossarum* prisotna v praktično vseh vodotokih, vključenih v monitoring. Ne najdemo je le v Korenu, Nadiži in Trebuščici, kjer ni prisotna tudi nobena izmed drugih obravnavanih vrst. Vrsta *G. fossarum* ni zaščitena in izlov okoli 5 g mokre teže vzorca, kolikor ga potrebujemo za določitev fluorantena in benzo(a)pirena je izvedljiv.

V družino sladkovodnih postranic (Gammaridae) spadajo vrste, ki živijo v celinskih površinskih vodah, družina spada v red postranic (Amphipoda). Amphipoda so red rakov, v katerega uvrščamo okrog 7.000 danes živečih opisanih vrst, ki živijo večinoma v morjih in jih prepoznamo po bočno sploščenem telesu.

Vrste rakov rodu *Gammarus* (*G. fossarum*, *G. roeselii*, *G. balcanicus* in *G. lacustris*) spadajo v družino postranic (Gammaridae), ki zajema 34 rodov, med drugimi *Gammarus*, *Synurella* in *Jugogammarus* (vir ITIS, <http://www.itis.gov/>). Vse vrste družine Gammaridae spadajo v enak trofični nivo kakor rod *Gammarus* in sicer v trofični nivo 3.

Na osnovi zgoraj predstavljenih podatkov o razširjenosti vrst rakov rodu *Gammarus*, statusu ogroženosti, primernosti za vzorčenje in glede na dejstvo, da vse vrste sladkovodnih postranic iz družine Gammaridae spadajo v trofični nivo 3, predlagamo kot primerne za monitoring nevarnih snovi v nevretenčarjih vrste raka iz družine postranic Gammaridae.

Vzorčenje lahko poteka kadarkoli med letom.

V Korenu, Nadiži in Trebuščici, kjer ni prisotna nobena izmed predlaganih vrst, predlagamo, da se:

- uvede aktivni monitoring vrste *Gammarus fossarum*, ki je po podatkih monitoringa ekološkega stanja celinskih voda najštevilčnejše prisotna vrsta v celinskih vodah. *G. fossarum* se za potrebe aktivnega monitoringa 7 dni goji v polipropilenskih cilindrih dolžine 10 cm in premera 5,5 cm, na obeh koncih pokritih z 1 mm mrežo, kar omogoča prost pretok vode. Za eno vzorčevalno mesto lahko uporabimo 8 cilindrov, pri čemer vsak vsebuje 25 osebkov vrste *Gammarus fossarum*. Razlog za izbor vrste je preprosta in učinkovita metoda, natančen opis najdemo v literaturi (Besse et al., 2013).

ali

- v kolikor gojenje vrste *Gammarus fossarum* zaradi utemeljenih razlogov ni izvedljivo, uvede monitoring potočnega raka koščenca (*Austropotamobius pallipes*). Vrsta je sicer uvrščena na rdeči seznam po *Pravilniku o uvrstitvi ogroženih rastlinskih in živalskih vrst v rdeči seznam* (Uradni list RS št.82/02 42/10, 2002) in opredeljena kot ranljiva vrsta, vendar bi za potrebe monitoringa na zgornjih 3 rekah bilo možno zaprositi za dovoljenje za izlov. Za vzorec zadostujeta dva osebka, izlov poteka z vršami.

6 Izbor vrst rib za določitev nevarnih snovi v morju

V obdobju od leta 2005 do 2014 so slovenski morski ribiči poročali o iztovu 86 vrst rib (vir MKGP). Vse vrste, ki jih ribiči lovijo v slovenskem morju so bolj ali manj izrazite selivke. Zaradi selitev se ribja združba tekom leta spreminja. Pozimi prevladujejo vrste, ki jim ustrezajo nižje temperature morja (npr. brancin, morski list, iverka, obe vrsti gavunov itd.). Takrat je število vrst manjše kot v toplem obdobju leta.

Zaradi majhnih deležev, ki jih večina vrst predstavlja v iztovu slovenskih ribičev, smo se za izbor vrst osredotočili na tiste, ki jih ribiči lovijo v večjih količinah. Poleg dostopnosti teh vrst za vzorčenje je pomembno tudi, da predstavljajo pomembne količine v prehrani ljudi.

Pri načrtovanju izbora reprezentativnih vrst smo upoštevali naslednje kriterije (Evropska komisija, 2014a):

- vrsta je splošno in množično razširjena po območju;
- vrsta je evritopna, sposobna prilagajanja in uspevanja v različnih okoljih;
- vrsta je pretežno sedentarna in zato odraža lokalne koncentracije onesnaževal;
- vrsta je dolgoživa in lahko v njej spremljamo bioakumulacijo snovi;
- vrsta je dovolj velika, da je na razpolago dovolj vzorca za določitev;
- vrsta ni posebej zaščitena in ne predstavlja posebnega socialno ekonomskega interesa;
- kjer je mogoče, sta velikost in trofični nivo vrste primerna cilju zaščite (zdravje človeka, sekundarna zastupitev) – trofični nivo med 3,5 do 4,5.

Za zmanjšanje variabilnosti rezultatov je pri in po vzorčenju treba upoštevati še naslednja priporočila (Evropska komisija, 2014a):

- starost ribe mora biti med 3-5 let;
- treba je določiti priporočeno velikost osebka;
- pri izračunu izmerjene koncentracije je možno, vendar ni zahtevano upoštevati korekcijske faktorje za vsebnost maščob ali suhe snovi (normalizacija izmerjenih koncentracij);
- priporočljivo je določiti spol za primerjavo rezultatov po spolu;
- področjem, kjer se ribe vlagajo, se je pri vzorčenju treba izogniti;
- obdobje, primerno za odvzem rib.

Med prioritete vrste rib za določitev nevarnih snovi v morju smo uvrstili dve vrsti, ki skupaj predstavljata 75% slovenskega morskega iztova: sardela (*Sardina pilchardus*) s 40% iztova in sardon (*Engraulis encrasicolus*) s 35% iztova (vir MKGP).

Za predlagani vrsti rib smo določili zahtevano starost, predlagano dolžino osebkov in obdobje, primerno za odvzem vzorca (preglednica 9): Določili smo tudi količino vzorca, potrebnega za določitev vsebnosti nevarnih snovi, način transporta v laboratorij in vrsto tkiva, v katerem se določajo posamezni parametri (priloga 2).

Preglednica 9: Vrste rib, zahtevana starost, priporočene dolžine osebkov in obdobje odvzema za namen določitve nevarnih snovi v morju. Prioritete za odvzem se nižajo z mestom na seznamu

Vrsta	Starost [leta]	Dolžina osebkov (cm)	Obdobje odvzema
sardela	3-5	15-30	01.05. – 30.09.
sardon	3-5	14-15	01.08. – 30.09.

Ribolov sardele in sardona poteka ponoči z zaporno plavarico. Zaporna plavarica je narejena iz velikega kosa mrežnega materiala, zgoraj opremljenega s plovci, spodaj pa z utežmi. Na spodnjem robu je mreža opremljena z zapornimi obroči, skozi katere je napeljana jeklena zaporna vrv, s katero se mrežo zapre (zadrigne se spodnji konec mreže). Ribolovno orodje je namenjeno lovu rib, ki se zadržujejo v jatah, pri nas predvsem malih pelagičnih vrst. Ribolov sestavljajo naslednje faze: (1) privabljanje jate rib s svetlobo, (2) polaganje mreže okrog jate, (3) zadriganje mreže in (4) zajemanje rib iz mreže. Vzorčenje sardel in sardonov poteka v četrti fazi ribolova. Takrat se z nekovinsko mrežo zajemalko zajame še žive ribe in se jih prestavi v nekovinsko posodo z ledeno vodo, kjer ribe poginejo. Mrtve ribe se prestavi na led ter se jih v najkrajšem možnem času zamrzne.

Zahtevano starost osebkov ocenimo za vsak odvzet osebek posebej. Ocenimo jo na osnovi dolžinske porazdelitve. Ocena starosti mora biti opravljena pred predajo vzorcev za določitev nevarnih snovi v laboratoriju. Priporočene dolžine osebkov so podane na podlagi podatkov ZZRS o soodvisnosti dolžine in starosti.

Pri določitvi primerne obdobja odvzema smo izbrali obdobje, v katerem sta obe predlagani vrsti enostavno dostopni v ribiških ulovih. Sardela je dostopna od maja do septembra, sardon pa zaradi drstenja, ki poteka v maju, juniju in juliju, od avgusta do septembra (vir MKGP).

V kolikor bi želeli podatke meritev monitoringa organizmov primerjati s podatki drugih držav članic, lahko izmerjene koncentracije v ribah normaliziramo na vsebnost maščob in/ali suhe snovi. Za oceno stanja površinskih voda sicer normalizacija izmerjenih koncentracij v ribah ni potrebna.

Pri izboru vrste rib za določitev nevarnih snovi v morju smo sodelovali s strokovnjaki Zavoda za ribištvo Slovenije. Postopek odvzema organizmov in njihova priprava za določitev nevarnih snovi v morju so opisane v prilogi 2.

Predlagamo, da se pri oceni stanja morja za ribe obravnava celoten teritorij morja kot eno vodno telo. Po pregledu dostopnih podatkov drugih držav članic o razdelitvi morja na vodna telesa namreč ugotavljamo, da ima n.pr. Škotska morje sicer razdeljeno na več vodnih teles (SEPA, 2015), vendar je vsako izmed teh vodnih teles precej večje, kot je celoten slovenski teritorij morja.

6.1 Trofični nivo rib, predlaganih za monitoring biote

V okviru monitoringa organizmov je za morske ribe zaželeno, da je trofični nivo vzorčenega osebkov med 3,5 do 4,5 (Evropska komisija, 2014a). Podano območje je indikativno, saj se lahko zgodi, da tega pogoja ni mogoče izpolniti (Evropska komisija, 2014a). V preglednici 10 je predstavljen trofični nivo rib, predlaganih za monitoring biote. Določen je na osnovi laboratorijskih oziroma teoretičnih raziskav, podatke smo iskali v bazi podatkov FishBase (Geomar, 2015). Natančna vrednost trofičnega nivoja ribe je odvisna od prehrane posameznega osebkov. V kolikor bi jo želeli določiti, je treba uporabiti metodo izotopskega merjenja (Evropska komisija, 2014a) za vsak vzorčen osebek posebej.

Preglednica 10: Trofičnost in trofični nivo rib primernih za določitev nevarnih snovi v morju

Vrsta	Znanstveno ime	Trofičnost	Trofični nivo
sardela	<i>Sardina pilchardus</i>	invertivora	3,1 ±0,1
sardon	<i>Engraulis encrasicolus</i>	invertivora	3,1 ±0,45

Legenda:

Trofični nivo – srednja vrednost trofičnega nivoja s podano standardno napako (vir www.fishbase.org).

Iz preglednice 10 je razvidno, da sardela in sardon ne sodita v območji trofičnih nivojev med 3,5 do 4,5. Trofični nivo sardele in sardona znaša 3,1, kar je 12% manj od predlagane spodnje meje indikativnega območja za ribe. Glede trofičnega nivoja je v navodilih (Evropska komisija, 2014a) izrecno napisano, da se trofični nivo upošteva, kjer je to mogoče. Ker je pri izboru primernih vrst rib potrebno upoštevati tudi veliko drugih kriterijev (glej poglavje 6) in je vsem hkrati težko zadostiti, ocenjujemo da so glede na trofični nivo vse izbrane ribe ustrezne in dodatne raziskave na vzorčenih osebkovih niso potrebne.

7 Izbor vrst nevretenčarjev za določitev nevarnih snovi v morju

Za oceno stanja morja je treba monitoring izvajati tudi v rakih ali mehkužcih, v katerih je treba določiti fluoranten in benzo(a)piren.

Pri izbiri vrste nevretenčarjev smo upoštevali njihovo razširjenost v slovenskem morju (vir ARSO) in dejstvo, da v Sloveniji že od leta 2004 izvajamo monitoring nevarnih snovi v nevretenčarjih v morju, kjer je kot reprezentativna vrsta izbrana mediteranska klapavica (monitoring kakovosti površinske vode za življenje in rast morskih školjk in morskih polžev). Tudi v veljavni Uredbi o stanju površinskih voda (Uradni list RS št.14/09 98/2010 in 96/2013, 2009) je mediteranska klapavica (*Mytilus galloprovincialis*) izbrana vrsta nevretenčarjev za monitoring kemijskega stanja površinskih vod za organizme za obalne vode VO Jadranskega morja.

Pri izboru vrste smo sodelovali s strokovnjaki ARSO, ki so nam posredovali podatke o primernosti vrste za vzorčenje.

Za določitev fluorantena in benzo(a)pirena v morskih nevretenčarjih potrebujemo okoli 20 gramov mokre teže vzorca.

Postopek vzorčenja nevretenčarjev za morje, pripravo vzorca na terenu, hranjenje in transport vzorcev v laboratorij in pripravo vzorca za posamezen parameter (vrsta tkiva) smo opisali v Navodilu za vzorčenju organizmov v morju (priloga 2).

7.1 Gojišča školjk in program monitoringa kakovosti vode za življenje in rast morskih školjk in morskih polžev

V Sloveniji se školjke gojijo od začetka 80. let in sicer izključno mediteranska klapavica (*Mytilus galloprovincialis*). V program monitoringa kakovosti vode za življenje in rast morskih školjk in morskih polžev in v program monitoringa kemijskega stanja morja so vključena tri gojišča školjk (Debeli rtič, Seča in Strunjan). Predlagamo, da se za monitoring kemijskega stanja morja za školjke uporabijo enaka merilna mesta, koordinate merilnih mest na teh gojiščih in globina morja na merilnem mestu so navedena v preglednici 11. Tekst in preglednica povzeta po viru ARSO (Agencija Republike Slovenije za okolje, 2011).

Preglednica 11: Predlagana merilna mesta monitoringa kemijskega stanja morja za školjke s koordinatami

Šifra VT	Ime vodnega telesa	Šifra MM	Merilno mesto	Gauss-Krügerjeva koordinata X	Gauss-Krügerjeva koordinata Y	Globina (m)
SI5VT5	VT Morje Piranski zaliv	35	Seča-Piranski zaliv	389234	39210	12
SI5VT4	VT Morje Žusterna-Piran	24	Strunjanski zaliv	390336	43716	14
SI5VT2	VT Morje Lazaret-Ankaran	DB2	Debeli rtič	399244	51167	17

7.2 Predlog izbora primerne vrste nevretenčarjev za določitev nevarnih snovi v morju

Na osnovi podatkov o razširjenosti mediteranske klapavice (*Mytilus galloprovincialis*) (vir ARSO) in dejstvu, da je bila izbrana kot reprezentativna vrsta tudi v preteklih monitoringih (monitoring kakovosti vode za življenje in rast morskih školjk in morskih polžev in monitoring kemijskega stanja morja za organizme – nevretenčarje), predlagamo kot primerno vrsto za monitoring nevarnih snovi v nevretenčarjih v morju mediteransko klapavico *Mytilus galloprovincialis*.

Izbrana školjka živi v priobalnem pasu, je pogosta in nezamenljiva z drugimi vrstami in se uporablja za prehrano ljudi. Razmnoževanje lahko poteka vse leto, najintenzivnejše je jeseni in je vezano na temperaturo okolice. Avtorji navajajo vrednosti (5-15 °C) kot najnižje, pri katerih se školjke še razmnožujejo. Primeren čas za odvzem osebkov je, ko je morje najhladnejše, v februarju (vir ARSO).

8 Zaključek

V nalogi »Strokovne podlage za monitoring biote« smo izdelali strokovne podlage za izvedbo monitoringa in ocenjevanje kemijskega stanja celinskih površinskih voda in morja, ob upoštevanju zahtev Direktive o okoljskih standardih kakovosti 2013/39/ES. Predstavili smo namen in cilj okoljskih standardov kakovosti za organizme in monitoring organizmov v okviru Vodne direktive. Za ribe smo opredelili, kateri del organizma se uporabi za določitev vsebnosti nevarnih snovi, saj v ribah kemijske snovi niso enakomerno porazdeljene. Vrsto tkiva, ki ga preiskujemo za ribe, smo določili v odvisnosti od cilja zaščite, na osnovi katerega je bil določen OSK_{organizmi}. Predlagali smo, da se tkivo mišic ribe uporabi za določitev bromiranih difeniletrov, heksaklorbenzena, PFOS, dioksina in dioksinom podobnih spojin ter heptaklora in heptaklorepoksida. Celotna riba pa se uporabi za določitev heksaklorbutadiena, živega srebra, dikofola in HBCDD. Predlagali smo tudi, da se OSK_{organizmi} uporabljajo tako, kot so bili določeni, brez preračunavanja na višji ali nižji trofični nivo. To pomeni, da se fluoranten in benzo(a)piren določata v nevretenčarjih, vse ostale nevarne snovi iz preglednice 1 pa se določajo v ribah, kakor že opisano zgoraj.

Predstavili smo metodo za normalizacijo podatkov monitoringa organizmov na vsebnost maščob in suhe snovi, za katero se država članica lahko odloči, da jo bo izvajala. Normalizacija podatkov monitoringa za potrebe ocenjevanja stanja celinskih vod in morja ni potrebna. Predstavili smo metodo pasivnega vzorčenja, ki se lahko uporablja kot alternativa monitoringu nevretenčarjev.

Nadalje smo v sodelovanju z Zavodom za ribištvo Slovenje izbrali vrste rib za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah. Pri tem smo upoštevali kriterije in priporočila Evropske komisije za načrtovanje izbora reprezentativnih vrst in za zmanjšanje variabilnosti rezultatov in izhajali iz podatkov o prisotnosti rib v celinskih vodah Slovenije, o ogroženosti in varstvu rib, o ekoloških cehih in o podatkih o ribah za prehrano ljudi. Izbrane vrste rib za namen določitve nevarnih snovi v celinskih vodah s podatki o starosti, dolžini osebkov in obdobju odvzema so predstavljene v preglednici 3. Postopek odvzema rib in njihova priprava za določitev nevarnih snovi so opisane v prilogi 1.

V celinskih vodah smo razen rib izbrali tudi reprezentativne nevretenčarje, pri čemer smo upoštevali njihovo splošno razširjenost, status ogroženosti in primernosti za vzorčenje. Kot primerne za monitoring nevarnih snovi v nevretenčarjih v celinskih vodah smo skupaj s strokovnjaki ARSO izbrali vrste raka iz družine sladkovodnih postranic Gammaridae. Postopek nabiranja rakov in njihova priprava za določitev nevarnih snovi so opisane v prilogi 1.

Nadalje smo izbrali vrsti rib za določitev nevarnih snovi v morju. Tudi tukaj smo upoštevali kriterije in priporočila Evropske komisije za načrtovanje izbora reprezentativnih vrst in za zmanjšanje variabilnosti

rezultatov, izhajali pa smo tudi iz podatkov o ulovu ribičev. Izbrani vrsti rib za namen določitve nevarnih snovi v morju s podatki o starosti, dolžini osebkov in obdobju odvzema so predstavljene v preglednici 9. Postopek odvzema rib in njihova priprava za določitev nevarnih snovi so opisane v prilogi 2. Predlagali smo tudi, da se pri oceni stanja morja v primeru rib obravnava celoten teritorij morja kot eno vodno telo.

V zaključku naloge smo predlagali mediteransko klapavico (*Mytilus galloprovincialis*) kot reprezentativno vrsto nevretenčarjev za monitoring nevarnih snovi v morju. Školjka je razširjena v slovenskem morju, kjer se goji že več kot 30 let. Od leta 2004 se tudi izvaja redno vzorčenje teh konzumnih školjk v okviru monitoringa kakovosti vode za življenje in rast morskih školjk in morskih polžev, izvaja pa se tudi redno vzorčenje v okviru monitoringa kemijskega stanja morja. Postopek nabiranja školjk in njihova priprava za določitev nevarnih snovi so opisane v prilogi 2.

Ob upoštevanju priporočil, ki smo jih nanizali v nalogi, bo v prihodnje potrebno uvesti monitoring nevretenčarjev (postranic) v celinskih vodah in monitoring rib v morju, medtem ko monitoring rib v celinskih vodah in monitoring školjk v morju že poteka.

Z izvedbo naloge »Strokovne podlage za monitoring biote« smo zagotovili nadgradnjo na področju monitoringa organizmov. Strokovne podlage bodo omogočile uvedbo zahtev Direktive 2013/39/EU, ki se nanašajo na izbiro organizmov za monitoring kemijskega stanja celinskih vod in morja.

9 Viri

- Agencija Republike Slovenije za okolje. (2011). *Ocena kemijskega in ekološkega stanja morja ter kakovosti vode v gojiščih školjk v letih 2007, 2008 in 2009*.
- Bertok, M., & Bravničar, D. (2014). *Program upravljanja rib v celinskih vodah Slovenije za obdobje 2010-2021*.
- Besse, J.-P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P., & Geffard, O. (2013). Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: towards the determination of threshold values. *Water Research, Elsevier*, 47(2), 650–60. doi:10.1016/j.watres.2012.10.024
- Evropska komisija. (2011). *CIS - Navodilo št. 27, Tehnično navodilo za določanje okoljskih standardov kakovosti*. Bruselj.
- Evropska komisija. (2014a). *CIS - Navodilo št. 32, Navodilo za monitoring organizmov v okviru Vodne direktive*.
- Evropska komisija. (2014b). *CIS - Navodilo št. 33, Navodilo za analitske metode za monitoring živih organizmov v okviru Vodne direktive*. doi:10.2779/707397
- Evropski Svet. Direktiva Sveta 92/43/EGS z dne 21. maja 1992 o ohranjanju naravnih habitatov ter prostoživečih živalskih in ratslinskih vrstah (1992). Uradni list Evropske unije L0043.
- Geomar. (2015). FishBase. Retrieved from <http://www.fishbase.org>
- Govedič, M. (2006). *Potočni raki Slovenije*. Kranj: Center za kartografijo favne in flore, Miklavž na Dravskem polju.
- ISO (International Organisation for Standardisation). ISO 5667-23:2011: Water quality - Sampling - Part 23: Guidance on passive sampling in surface waters (2011). Retrieved from http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=50679
- Jurgens, M. D., Johnson, A. C., Jones, K. C., Hughes, D., & Lawlor, A. J. (2013). The presence of EU priority substances mercury, hexachlorobenzene, hexachlorobutadiene and PBDEs in wild fish from four English rivers. *NERC Open Research Archive*, 461–462.
- Kos Durjava, M., & Kolar, B. (2010). *Strokovne podlage za vrednotenje parametrov kemijskega stanja površinskih voda ter posebnih onesnaževal*. Maribor, Slovenia. Retrieved from http://www.mko.gov.si/fileadmin/mko.gov.si/pageuploads/podrocja/voda/stanje_povrsinskih_voda_strokovne_podlage.pdf
- Ministrstvo za okolje in prostor. (2009). *Metodologija vzorčenja in laboratorijske obdelave vzorcev za vrednotenje ekološkega stanja rek z ribami*. Ljubljana.
- Moog, O. (2002). *Fauna Aquatica Austriaca: A Comprehensive Species Inventory of Austrian Aquatic Organisms with Ecological Notes* (2nd editio.). Vienna: Federal Ministry of Agriculture, Forestry, Environment and Water Management.
- SEPA. (2015). Scotland's WFD aquatic monitoring strategy, 1–14.
- Smedes, F., Bakker, D., & de Weert, J. (2010). *The use of passive sampling in WFD monitoring*.
- Uradni list RS št. 46/04 109/04 84/05 115/07 96/08 36/09 102/11. Uredbo o zavarovanih prosto živečih živalskih vrstah (2004). Uradni list RS št. 46/04.
- Uradni list RS št. 14/09 98/2010 in 96/2013. Uredba o stanju površinskih voda (2009). Uradni list RS št. 14/09.
- Uradni list RS št. 46/07. Uredba o ribjih vrstah, ki so predmet ribolova v celinskih vodah (2007). Uradni list RS št. 46/07.
- Uradni list RS št. 82/02 42/10. Pravilnik o uvrstitvi ogroženih rastlinskih in živalskih vrst v rdeči seznam (2002). Uradni list RS št. 82/02.
- Uradni list RS št. 99/07. Pravilniku o ribolovnem režimu v ribolovnih vodah (2007). Uradni list RS št. 99/07.
- Zavod za ribištvo RS, & Podgornik, S. (2006). *Metodologija vzorčenja in laboratorijske obdelave rib za vrednotenje ekološkega stanja voda na podlagi rib v skladu z zahtevami Vodne direktive (Direktiva 2000/60/ES)*. Ljubljana.

Pravne podlage

- Zakon o vodah RS (Uradni list RS, št. 67/02, 110/02-ZGO-1, 2/04-ZZdl-A, 41/04-ZVO-1 in 57/08, 57/2012),
- Zakon o varstvu okolja (Uradni list RS, št. 39/06 – uradno prečiščeno besedilo, 49/06 – ZMetD, 66/06 – Odl. US, 33/07-ZPNačrt, 57/08-ZFO-1A in 70/08, 108/09, 48/2012, 57/2012, 97/2012),
- Direktiva 2000/60/ES Evropskega Parlamenta in Sveta z dne 23. oktobra 2000, ki določa okvir za delovanje Skupnosti na področju vodne politike (UL L št. 327 z dne 22. 12. 2000, str. 1) (v nadaljnjem besedilu: vodna direktiva),
- Direktiva 2008/105/ES Evropskega parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o okoljskih standardih kakovosti na področju vodne politike, spremembi in poznejši razveljavitvi direktiv Sveta 82/176/EGS, 83/513/EGS, 84/156/EGS, 84/491/EGS, 86/280/EGS ter spremembi Direktive 2000/60/ES Evropskega parlamenta in Sveta,
- Direktiva 2013/39/ES o spremembi direktiv 2000/60/ES in 2008/105/ES v zvezi s prednostnimi snovmi na področju vodne politike
- Uredba o stanju površinskih voda (Uradni list RS, 14 /09, 98/10, 96/13),
- Pravilnik o monitoringu stanja površinskih voda (Uradni list RS, št. 10/09, 81/11).

Strokovne podlage

- Guidance Document No. 25 on Chemical Monitoring in Sediment and Biota under the Water Framework Directive,
- Guidance Document No. 32 on Biota Monitoring (the Implementation of EQS_{biota}) under the Water Framework Directive,
- Guidance Document No. 33 on Analytical Methods for Biota Monitoring under the Water Framework Directive,
- Technical Guidance for Environmental Quality Standards (Expert Group on Environmental Quality Standards),
- Metodologija AMPS (Analysis and Monitoring of Priority Substances).

10 Priloge

Priloga 1: Navodilo za vzorčenje organizmov v celinskih vodah

Priloga 2: Navodilo za vzorčenje organizmov v morju

PRILOGA 1

Navodilo za vzorčenje organizmov v celinskih vodah

(7 strani)

Navodilo za vzorčenje rib v celinskih vodah

1. Vrste rib, starost, priporočena dolžina in obdobje odlova

Zahtevane lastnosti odvzetega vzorca (vrsta ribe, starost, priporočena dolžina osebkov in obdobje odvzema) za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah so navedene v preglednici 1.

Vrsto ribe za odvzem na posameznem vzorčnem mestu se določi pri prvem odvzemu vzorca. Pri nadaljnjih odvzemih vzorcev se na istem vzorčnem mestu vedno odvzame ista vrsta ribe. V primeru, da odvzem že določene vrste rib ni mogoč se, po predhodnem dogovoru z vsemi vpletenimi partnerji, spremeni vrsto za odvzem.

Prioritetni vrsti za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah sta potočna in soška postrv. Osebkke teh vrst se odvzame, kjer je le mogoče. V nasprotnem primeru se izbere vrste iz priloženega seznama (preglednica 1), ki se jim prioriteta za odvzem niža z mestom v seznamu. Izjema je Bohinjsko jezero, kjer je prioriteta vrsta ribe za odvzem jezerska zlatovčica. Vrsta se uporablja za prehrano ljudi in je na jezeru glavni uplen ribičev.

Preglednica 1. Vrste rib, zahtevana starost, priporočene dolžine osebkov in obdobje odvzema za namen določitve nevarnih snovi v ribah celinskih voda. Prioritete za odvzem se nižajo z mestom na seznamu

Vrsta	Starost [leta]	Dolžina osebkov [cm]	Obdobje odvzema
potočna postrv	3-5	15-30	01.07. – 30.09.
soška postrv	3-5	15-30	01.07. – 30.09.
lipan	3-5	20-30	01.07. – 30.09.
klen	3-5	15-25	01.07. – 30.09.
štrkavec	3-5	15-25	01.07. – 30.09.
beli klen	3-5	15-25	01.07. – 30.09.
pohra	3-5	15-25	01.07. – 30.09.
navadni ostrž	3-5	20-25	01.07. – 30.09.
ščuka	3-5	40-65	01.07. – 30.09.
smuč	3-5	25-60	01.07. – 30.09.
rdečeoka	3-5	10-15	01.07. – 30.09.
zelenika	3-5	5-10	01.07. – 30.09.
jezerska zlatovčica ¹	3-5	15-30	01.07. – 30.09.

¹ Primerna za Bohinjsko jezero

Zahtevano starost osebkov se določi vsakemu odvzetemu osebku posebej. Osebku se odvzame do 20 lusk in se jih shrani za analizo starosti. Ta se opravi pred predajo vzorcev za določitev nevarnih snovi v laboratoriju. V primeru, da zaradi lastnosti vrste starosti osebka preko lusk ni mogoče določiti, se na mestu odvzema ujame še en osebek iste vrste in enake dolžine, kot jo ima za določitev nevarnih snovi odvzet osebek. Osebku se določi starost na podlagi otolita ali operkuluma. Določena starost se privzame kot starost odvzetega osebka za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah.

Priporočene dolžine osebkov za odvzem so podane na podlagi v literaturi pridobljenih podatkov o soodvisnosti dolžine in starosti pri posameznih vrstah. Gre za okvirne dolžine, ki so vzorčevalcu zgolj v pomoč. Sčasoma se bodo dolžine osebkov za odvzem prilagodile za vsako vzorčno mesto posebej. Takrat določevanje starosti ne bo več potrebno.

Pri določitvi primerne obdobja za vzorčenje je upoštevano obdobje odvzema po varstvenih dobah, obdobje odvzema je meseca julija, avgusta in septembra.

2. Protokol odvzema vzorca

Za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah je treba odvzeti 9 osebkov iste vrste oziroma skupna masa rib naj presega 900 g. Izjemoma, v kolikor toliko rib ni na razpolago, je najmanjše število odvzeto osebkov 5 oziroma skupna masa rib naj presega 500 g. Teža vsakega osebka mora presegati 100 gramov, dolžina osebka pa mora ustrezati dolžinam navedenim v preglednici 1.

Metodologija odvzema vzorcev mora biti neinvazivna. Z odvzetimi osebki je treba rokovati zelo pazljivo, tako da so poškodbe zmanjšane na najmanjšo možno mero. Osebkov se ne dotika z rokami, potrebna je uporaba zaščitnih rokavic. Zaradi možnosti kontaminacije s kovinami je treba preprečiti vsakršni stik osebkov s kovinskimi predmeti.

Ribolov predlaganih vrst rib izvajamo s tehniko elektroribolova, redko s trnkarjenjem. Ribolov se izvaja iz kopnega ali iz čolna. Možne izvedbe tehnike elektroribolova so opisane v:

- Metodologija vzorčenja in laboratorijske obdelave vzorcev za vrednotenje ekološkega stanja rek z ribami (Ministrstvo za okolje in prostor, 2009) in v
- Metodologija vzorčenja in laboratorijske obdelave rib za vrednotenje ekološkega stanja voda na podlagi rib v skladu z zahtevami Vodne direktive (Direktiva 2000/60/ES) (Zavod za ribištvo RS, Podgornik, 2006)

Vsakemu odvzetemu osebkku se zmeri skupna dolžina telesa na milimeter natančno in se ga stehta na gram natančno. Z nekovinskim priborom se osebkku odvzame do 20 lusk za določitev starosti.

Vsak odvzet osebek se ustrezno označi in s tem omogoči njegovo sledljivost.

Po potrebi se po vsakem odvzemu vzorca vso uporabljeno opremo razkuži oziroma zavrže, še posebno, če obstaja nevarnost prenosa parazitov, bolezní ali drugih nezaželenih tujih vrst ali patogenov v reko ali v jezero.

3. Priprava vzorca na terenu ter hranjenje in transport vzorca v laboratorij

Odvzete osebke se posamično shrani v PP, PE ali FEP vrečke. Vrečke morajo biti zaradi sledljivosti ustrezno označene.

V 24 urah od vzorčenja je vzorce treba globoko zamrzniti pri -20 °C. Vzorce se do nadaljnje obdelave hrani na ledu (zamrzovalna skrinja).

4. Priprava vzorca za določitev posameznih parametrov

Zmrznjene osebke se pred določanjem organskih kemikalij in živega srebra odmrzne in se ga razdeli na dva podvzorca. Za določitev bromiranih difeniletrov, heksaklorbenzena, PFOS, dioksina in dioksinom podobnih spojin ter heptaklora in heptaklorepoksida se za nadaljnjo analizo uporabi zgolj mišično tkivo odmrznjenih osebkov (preglednica 2). Za določitev heksaklorbutadiena, živega srebra, dikofola in HBCDD se za nadaljnjo analizo uporabi osebek v celoti (preglednica 2).

Preglednica 2: Priprava vzorca, število uporabljenih rib in količina tkiva za določitev nevarnih snovi

Podvzorec	Nevarne snovi	Priprava vzorca	Število uporabljenih rib	Količina uporabljenih rib	Količina tkiva za analizo
1.	bromirani difeniletri heksaklorbenzen PFOS dioksin in dioksinom podobne spojine heptaklor in heptaklorepoxid	Vsaki odmrznjeni ribi iz vzorca se najprej odstranijo kosti, glava, luske in drobovina. Za analizo se odvzame meso mišic, brez kože. Meso mišic se združi v en vzorec, ki se nato homogenizira.	6 (najmanj 3)	≥ 600 g ¹	≥ 300 g ²
2.	heksaklorbutadien živo srebro dikofol HBCDD	Odmrznjene osebkke se v celoti zmelje, homogenizira.	3	≥ 300 g ¹	≥ 300 g ¹

¹ Količina se nanaša na celotno ribo.

² Količina se nanaša na mišičnino.

Celotna riba je riba z luskami, kožo, drobovjem, brez odstranjevanja delov ribe pri pripravi vzorca.

Določitev organskih kemikalij v mesu mišic rib ali v celotni ribi vključuje homogenizacijo, liofilizacijo, ekstrakcijo z organskimi topili, čiščenje, frakcionacijo in GC ali LC ločitev ter detekcijo z masnim detektorjem. Več o postopkih v navodilih Evropske komisije št. 33 (Evropska komisija, 2014b).

Določitev živega srebra v mesu mišic rib ali v celotni ribi vključuje homogenizacijo, sušenje, razgradnjo pod pritiskom s kislinami, redčitev in določitev s HP-AAS. Več o postopku v navodilih Evropske komisije št. 33 (Evropska komisija, 2014b).

Vzorčenje in laboratorijska obdelava vzorcev morata biti v skladu s standardom SIST EN 14996:2006.

Viri

- Evropska komisija, 2011. CIS – Navodilo št. 27, Tehnično navodilo za določanje okoljskih standardov kakovosti. Bruselj,
- Evropska komisija, 2014a. CIS - Navodilo št. 32, Navodilo za monitoring organizmov v okviru Vodne direktive,
- Evropska komisija, 2014b. CIS - Navodilo št. 33, Navodilo za analitske metode za monitoring organizmov v okviru Vodne direktive,
- Jurgens, M.D. et al., 2013. The presence of EU priority substances mercury, hexachlorobenzene, hexachlorobutadiene and PBDEs in wild fish from four English rivers. NERC Open Research Archive, pp.461–462,
- Ministrstvo za okolje in prostor, 2009. Metodologija vzorčenja in laboratorijske obdelave vzorcev za vrednotenje ekološkega stanja rek z ribami, Ljubljana.

Navodilo za vzorčenje nevretenčarjev v celinskih vodah

1. Vrste nevretenčarjev, priporočena velikost in obdobje nabiranja

Izbrane vrste spadajo v družino sladkovodnih postranic Gammaridae, posamezni osebki imajo svežo težo cca 30 mg. Priporočena masa, število osebkov in obdobje odvzema je predstavljeno v preglednici 1.

Preglednica 1: Priporočeno število odraslih osebkov vrste družine Gammaridae in obdobje odvzema za namen določitve nevarnih snovi v nevretenčarjih celinskih voda

Vrsta	Priporočena masa [g]	Število osebkov	Obdobje odvzema
Vrste družine Gammaridae	>5	>170	ni opredeljeno

Obdobje vzorčenja ni opredeljeno, poteka lahko kadarkoli med letom.

2. Protokol odvzema vzorca

Za določitev nevarnih snovi je treba odvzeti okvirno najmanj 170 odraslih osebkov skupne teže več kot 5 g.

Metodologija odvzema vzorcev mora biti neinvazivna. Z odvzetimi osebki je treba rokovati zelo pazljivo, tako da so poškodbe zmanjšane na najmanjšo možno mero. Osebkov se ne dotika z rokami, potrebna je uporaba zaščitnih rokavic. Zaradi možnosti kontaminacije s kovinami je treba preprečiti vsakršni stik osebkov s kovinskimi predmeti.

Osebke vrste postranic družine Gammaridae se izloči, preostali organizmi se vrnejo v vodotok na mestu nabiranja.

Nabira se odrasle osebke, okvirne velikosti 9 mm ali več in okvirne teže 30 mg ali več. Nabira se lahko tudi manjše osebke, pri čemer mora skupna teža osebkov doseči najmanj 5 g.

Kompozitni vzorec se stehta na 0,1 gram natančno.

Po potrebi se po vsakem odvzemu vzorca vso uporabljeno opremo razkuži oziroma zavrže, še posebno, če obstaja nevarnost prenosa parazitov, boleznih ali drugih nezaželenih tujih vrst ali patogenov v reko ali v jezero.

3. Priprava vzorca na terenu ter hranjenje in transport vzorca v laboratorij

Odvzete osebke se skupno shrani v PP, PE ali FEP vrečke. Vrečke z vzorci se hranina hladnem (led). Vrečke morajo biti zaradi sledljivosti ustrezno označene.

V 24 urah od vzorčenja je vzorce treba globoko zamrzniti pri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vzorce se do nadaljnje obdelave hrani na ledu (zamrzovalna skrinja).

4. Priprava vzorca za določitev fluorantena in benzo(a)pirena

Kompozitni vzorec postranic pred določanjem organskih kemikalij odmrzemo. Odmrznjen kompozitni vzorec pred določanjem fluorantena in benzo(a)pirena zmeljemo, homogeniziramo in odvzamemo potrebno količino vzorca.

Določitev fluorantena in benzo(a)pirena v postranicah vključuje homogenizacijo, liofilizacijo, ekstrakcijo z organskimi topili, čiščenje, frakcionacijo in GC ali LC ločitev ter detekcijo z zajemov elektronov ali s fluorescenco. Več o postopkih v navodilih Evropske komisije št. 33 (Evropska komisija, 2014b).

Vzorčenje in laboratorijska obdelava vzorcev morata biti v skladu s standardom SIST EN 14996:2006.

Viri

- Evropska komisija, 2011. CIS – Navodilo št. 27, Tehnično navodilo za določanje okoljskih standardov kakovosti. Bruselj,
- Evropska komisija, 2014a. CIS - Navodilo št. 32, Navodilo za monitoring organizmov v okviru Vodne direktive,
- Evropska komisija, 2014b. CIS - Navodilo št. 33, Navodilo za analitske metode za monitoring organizmov v okviru Vodne direktive,
- Ministrstvo za okolje in prostor, 2009. Metodologija vzorčenja in laboratorijske obdelave vzorcev za vrednotenje ekološkega stanja rek z bentoškimi nevretenčarji, Ljubljana,
- Besse, J.-P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P., & Geffard, O. (2013). Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: towards the determination of threshold values. *Water Research*, Elsevier, 47(2), 650–60.

PRILOGA 2

Navodilo za vzorčenje organizmov v morju

(7 strani)

Navodilo za vzorčenje rib v morju

1. Vrste rib, starost, priporočena dolžina in obdobje odlova

Zahtevane lastnosti odvzetega vzorca (vrsta ribe, starost, priporočena dolžina osebkov in obdobje odvzema) za določitev nevarnih snovi v morju so navedene v preglednici 1.

Vrsto ribe za odvzem se določi pri prvem odvzemu vzorca. Pri nadaljnjih odvzemih vzorcev se vedno odvzame ista vrsta ribe. V primeru, da odvzem že določene vrste rib ni mogoč se, po predhodnem dogovoru z vsemi vpletenimi partnerji, spremeni vrsto za odvzem.

Prioritetna vrsta za določitev nevarnih snovi v morju je sardela. Če to ni mogoče, izberemo sardon.

Preglednica 1: Vrste rib, zahtevana starost, priporočene dolžine osebkov in obdobje odvzema za namen določitve nevarnih snovi v morskih ribah. Prioritete za odvzem se nižajo z mestom na seznamu

Vrsta	Starost [leta]	Dolžina osebkov [cm]	Obdobje odvzema
sardela	3-5	15-30	01.05. – 30.09.
sardon	3-5	14-15	01.08. – 30.09.

Zahtevano starost osebkov se oceni za vsak odvzet osebek posebej, na osnovi dolžinske porazdelitve. Oceno starosti je treba opraviti pred predajo vzorcev za določitev nevarnih snovi laboratoriju. Priporočene dolžine osebkov so podane na podlagi podatkov ZZRS o soodvisnosti dolžine in starosti.

Pri določitvi primerne obdobja je izbrano obdobje, v katerem sta obe vrsti enostavno dostopni v ribiških ulovih. Sardela je dostopna od maja do septembra, sardon pa zaradi drstenja, ki poteka v maju, juniju in juliju, od avgusta do septembra (vir MKGP).

2. Protokol odvzema vzorca

Za določitev nevarnih snovi v celinskih vodah je treba odvzeti 9 osebkov iste vrste oziroma skupna masa rib naj presega 900 g. Izjemoma, v kolikor toliko rib ni na razpolago, je najmanjše število odvzeto osebkov 5 oziroma skupna masa rib naj presega 500 g. Teža vsakega osebka mora presegati 100 gramov, dolžina osebka pa mora ustrezati dolžinam navedenim v preglednici 1.

Pri oceni stanja morja za ribe se obravnava celoten teritorij morja kot eno vodno telo, zato vzorčevalna mesta niso določena.

Metodologija odvzema vzorcev mora biti neinvazivna. Z odvzetimi osebki je treba rokovati zelo pazljivo, tako da so poškodbe zmanjšane na najmanjšo možno mero. Osebkov se ne dotika z rokami, potrebna je uporaba zaščitnih rokavic. Zaradi možnosti kontaminacije s kovinami je treba preprečiti vsakršni stik osebkov s kovinskimi predmeti.

Ribolov sardele in sardona poteka ponoči z zaporno plavarico. Zaporna plavarica je narejena iz velikega kosa mrežnega materiala, zgoraj opremljenega s plovci, spodaj pa z utežmi. Na spodnjem robu je mreža opremljena z zapornimi obroči, skozi katere je napeljana jeklena zaporna vrv, s katero se mrežo zapre (zadrigne se spodnji konec mreže). Ribolovno orodje je namenjeno lovu rib, ki se zadržujejo v jatah, pri nas predvsem malih pelagičnih vrst. Ribolov sestavljajo naslednje faze: (1) privabljanje jate rib s svetlobo, (2) polaganje mreže okrog jate, (3) zadriganje mreže in (4) zajemanje rib iz mreže. Vzorčenje sardel in sardonov poteka v četrti fazi ribolova. Takrat se z nekovinsko mrežo zajemalko zajame še žive ribe in se jih prestavi v nekovinsko posodo z ledeno vodo, kjer ribe poginejo. Mrtve ribe se prestavi na led ter se jih v najkrajšem možnem času zamrzne.

Vsakemu odvzetemu osebku se zmeri skupna dolžina telesa na milimeter natančno in se ga stehta na gram natančno.

Vsak odvzet osebek se ustrezno označi in s tem omogoči njegovo sledljivost.

Po potrebi se po vsakem odvzemu vzorca vso uporabljeno opremo razkuži oziroma zavrže, še posebno, če obstaja nevarnost prenosa parazitov, bolezni ali drugih nezaželenih tujih vrst ali patogenov v morje.

3. Priprava vzorca na terenu ter hranjenje in transport vzorca v laboratorij

Odvzete osebke se posamično shrani v PP, PE ali FEP vrečke. Vrečke morajo biti zaradi sledljivosti ustrezno označene.

V 24 urah od vzorčenja je vzorce treba globoko zamrzniti pri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vzorce se do nadaljnje obdelave hrani na ledu (zamrzovalna skrinja).

4. Priprava vzorca za določitev posameznih parametrov

Zmrznjene osebke se pred določanjem organskih kemikalij in živega srebra odmrzne in se ga razdeli na dva podvzorca. Za določitev bromiranih difeniletrov, heksaklorbenzena, PFOS, dioksina in dioksinom podobnih spojin ter heptaklor in heptaklorepoksida se za nadaljnjo analizo uporabi zgolj mišično tkivo odmrznjenih osebkov (preglednica 2). Za določitev heksaklorbutadiena, živega srebra, dikofola in HBCDD se za nadaljnjo analizo uporabi osebke v celoti (preglednica 2).

Preglednica 2: Priprava vzorca, število uporabljenih rib in količina tkiva za določitev nevarnih snovi

Podvzorec	Nevarne snovi	Priprava vzorca	Število uporabljenih rib	Količina uporabljenih rib	Količina tkiva za analizo
1.	bromirani difeniletri heksaklorbenzen PFOS dioksin in dioksinom podobne spojine heptaklor in heptaklorepoxid	Vsaki odmrznjeni ribi iz vzorca se najprej odstranijo kosti, glava, luske in drobovina. Za analizo se odvzame meso mišic, brez kože. Meso mišic se združi v en vzorec, ki se nato homogenizira.	6 (najmanj 3)	$\geq 600\text{ g}^1$	$\geq 300\text{ g}^2$
2.	heksaklorbutadien živo srebro dikofol HBCDD	Odmrznjene osebke se v celoti zmelje, homogenizira.	3	$\geq 300\text{ g}^1$	$\geq 300\text{ g}^1$

¹ Količina se nanaša na celotno ribo.

² Količina se nanaša na mišičnino.

Celotna riba je riba z luskami, kožo, drobovjem, brez odstranjevanja delov ribe pri pripravi vzorca.

Določitev organskih kemikalij v mesu mišic rib ali v celotni ribi vključuje homogenizacijo, liofilizacijo, ekstrakcijo z organskimi topili; čiščenje, frakcionacijo in GC ali LC ločitev ter detekcijo z masnim detektorjem. Več o postopkih v navodilih Evropske komisije št. 33 (Evropska komisija, 2014b).

Določitev živega srebra v mesu mišic rib ali v celotni ribi vključuje homogenizacijo, sušenje, razgradnjo pod pritiskom s kislinami, redčitev in določitev s HP-AAS. Več o postopku v navodilih Evropske komisije št. 33 (Evropska komisija, 2014b).

Vzorčenje in laboratorijska obdelava vzorcev morata biti v skladu s standardom SIST EN 14996:2006.

Viri

- Evropska komisija, 2011. CIS – Navodilo št. 27, Tehnično navodilo za določanje okoljskih standardov kakovosti. Bruselj,
- Evropska komisija, 2014a. CIS - Navodilo št. 32, Navodilo za monitoring organizmov v okviru Vodne direktive,
- Evropska komisija, 2014b. CIS - Navodilo št. 33, Navodilo za analitske metode za monitoring organizmov v okviru Vodne direktive,
- Jurgens, M.D. et al., 2013. The presence of EU priority substances mercury, hexachlorobenzene, hexachlorobutadiene and PBDEs in wild fish from four English rivers. NERC Open Research Archive, pp.461–462,
- Ministrstvo za okolje in prostor, 2009. Metodologija vzorčenja in laboratorijske obdelave vzorcev za vrednotenje ekološkega stanja rek z ribami, Ljubljana.

Navodilo za vzorčenje nevretenčarjev v morju

1. Vrste nevretenčarjev, priporočena velikost in obdobje nabiranja

Izbrana morska vrsta za monitoring nevarnih snovi v nevretenčarjih je mediteranska klapavica (*Mytilus galloprovincialis*).

Školjka živi v priobalnem pasu, je pogosta in nezamenljiva z drugimi vrstami. Razmnoževanje lahko poteka vse leto, najintenzivnejše pa je v jeseni in je vezano na temperaturo okolice. Primeren čas za odvzem osebkov je v februarju. Za preiskave namenimo mehke del organizma, z vzorčevalnega mesta odberemo organizme dolge med 3 do 6 cm.

Priporočena masa, število osebkov in obdobje odvzema je predstavljeno v preglednici 1.

Preglednica 1: Priporočeno število odraslih osebkov vrste *M. galloprovincialis* in obdobje odvzema za namen določitve nevarnih snovi v morju

Vrsta	Priporočena masa [g]	Število osebkov	Obdobje vzorčenja
Mediteranska klapavica	>20	≥15	01.02.-28.02.

Legenda

Priporočena masa – priporočena masa mehkega tkiva školjke

2. Protokol odvzema vzorca

Za določitev nevarnih snovi je treba odvzeti najmanj 15 osebkov velikosti med 3 do 6 cm in skupne teže več kot 20 g mehkega tkiva školjke.

Metodologija odvzema vzorcev mora biti neinvazivna. Z odvzetimi osebki je treba rokovati zelo pazljivo, tako da so poškodbe zmanjšane na najmanjšo možno mero. Osebkov se ne dotika z rokami, potrebna je uporaba zaščitnih rokavic. Zaradi možnosti kontaminacije s kovinami je treba preprečiti vsakršni stik osebkov s kovinskimi predmeti.

Nabira se odrasle osebke, velikosti med 3 do 6 cm in teže mehkega tkiva 20 g ali več. Kompozitni vzorec se stehta na 0,1 gram natančno.

Po potrebi se po vsakem odvzemu vzorca vso uporabljeno opremo razkuži oziroma zavrže, še posebno, če obstaja nevarnost prenosa parazitov, bolezni ali drugih neželenih tujih vrst ali patogenov v morje.

3. Priprava vzorca na terenu ter hranjenje in transport vzorca v laboratorij

Odvzete osebke se skupno shrani v PP, PE ali FEP vrečke. Vrečke z vzorci se hrani na hladnem (led). Vrečke morajo biti zaradi sledljivosti ustrezno označene.

V 24 urah od vzorčenja je vzorce treba globoko zamrzniti pri -20 °C. Vzorce se do nadaljnje obdelave hrani na ledu (zamrzovalna skrinja).

4. Priprava vzorca za določitev izbranih fluorantena in benzo(a)pirena

Kompozitni vzorec mediteranskih klapavic se pred določanjem organskih kemikalij odmrzne in izloči meso iz lupine školjke. Odmrznjen kompozitni vzorec se pred določanjem fluorantena in benzo(a)pirena zmelje, homogenizira in odvzame potrebno količino vzorca.

Določitev organskih kemikalij v mesu školjk vključuje homogenizacijo, liofilizacijo, ekstrakcijo z organskimi topili, čiščenje, frakcionacijo in GC ali LC ločitev ter detekcijo z zajemov elektronov ali s fluorescenco. Več o postopkih v navodilih Evropske komisije št. 33 (Evropska komisija, 2014b).

Vzorčenje in laboratorijska obdelava vzorcev morata biti v skladu s standardom SIST EN 14996:2006.

Viri

- Evropska komisija, 2011. CIS – Navodilo št. 27, Tehnično navodilo za določanje okoljskih standardov kakovosti. Bruselj,
- Evropska komisija, 2014a. CIS - Navodilo št. 32, Navodilo za monitoring organizmov v okviru Vodne direktive,
- Evropska komisija, 2014b. CIS - Navodilo št. 33, Navodilo za analitske metode za monitoring organizmov v okviru Vodne direktive,
- Ministrstvo za okolje in prostor, 2009. Metodologija vzorčenja in laboratorijske obdelave vzorcev za vrednotenje ekološkega stanja rek z bentoškimi nevretenčarji, Ljubljana,
- Besse, J.-P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P., & Geffard, O. (2013). Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: towards the determination of threshold values. *Water Research*, Elsevier, 47(2), 650–60.

