

PRILOGA F: METODOLOGIJA VREDNOTENJA EKOLOŠKEGA STANJA
JEZER NA PODLAGI FITOPLANKTONA

KAZALO VSEBINE

1	VZORČENJE FITOPLANKTONA.....	5
1.1	Obvezna oprema za vzorčenje	5
1.2	Frekvenca vzorčenja	5
1.3	Mesto vzorčenja in globina zajema	6
1.4	Kvantitativno vzorčenje fitoplanktona in vzorčenje klorofila-a.....	7
1.5	Kvalitativno vzorčenje fitoplanktona	8
2	LABORATORIJSKA ANALIZA FITOPLANKTONA.....	9
2.1	Oprema za analizo fitoplanktona	9
2.2	Kvalitativna analiza fitoplanktona	9
2.2.1	TAKSONOMSKI PREGLED DIATOMEJ IN DOLOČITEV BIOVOLUMNA POSAMEZNE VRSTE	10
2.3	Kvantitativna analiza fitoplanktona	11
2.3.1	DOLOČANJE VSEBNOSTI KLOROFILA- <i>a</i>	13
3	VREDNOTENJE EKOLOŠKEGA STANJA JEZER NA PODLAGI FITOPLANKTONA.....	14
3.1	Vrednotenje ekološkega stanja jezer na podlagi fitoplanktona - modul trofičnost.....	15
3.1.1	UVRSTITEV JEZER V USTREZNI EKOLOŠKI TIP IN REFERENČNE RAZMERE	15
3.1.2	DOLOČITEV KOLIČINE FITOPLANKTONA Z IZBRANIMI METRIKAMI	18
3.1.3	IZRAČUN INDEKSA BRETTUM	18
3.1.4	IZRAČUN RAZMERJA EKOLOŠKE KAKOVOSTI (REK) ZA POSAMEZNE METRIKE..	23
3.1.5	TRANSFORMACIJA NORMALIZIRANIH REK VREDNOSTI POSAMEZNIH METRIK.	24
3.1.6	IZRAČUN MULTIMETRIJSKEGA INDEKSA FITOPLANKTONA	25
3.1.7	IZRAČUN RAZMERJA EKOLOŠKE KAKOVOSTI PO MODULU TROFIČNOST NA PODLAGI FITOPLANKTONA ZA POSAMEZNO LETO	26
3.1.8	IZRAČUN RAZMERJA EKOLOŠKE KAKOVOSTI PO MODULU TROFIČNOST NA PODLAGI FITOPLANKTONA ZA IZBRANO OBDOBJE	27
3.1.9	RAZVRSTITEV VODNEGA TELESA V RAZRED EKOLOŠKEGA STANJA PO MODULU TROFIČNOST NA PODLAGI FITOPLANKTONA.....	27
3.2	Vrednotenje ekološkega stanja jezer in razvrščanje vodnih teles jezer v razrede ekološkega stanja na podlagi biološkega elementa fitoplankton.....	28
4	VIRI	29

SLOVAR UPORABLJENIH IZRAZOV

Fitoplankton	Združba v vodi prosto lebdečih, večinoma fotosintetskih organizmov, ki vključuje enocelične ali kolonijske alge in cianobakterije (Cyanophyta)
Eufotična cona	Območje pelagiala jezera kjer je še dovolj svetlobe, da poteka fotosinteza in je omogočena neto produkcija (bruto primarna produkcija > respiracija). Spodnja meja eufotične cone je globina do katere pride še 1% svetlobne radiacije. Približno globino eufotične cone določimo s pomnožitvijo Secchijeve globine s faktorjem 2,5.
Secchijska globina	Maksimalna globina do katere je še vidna bela plošča (po Secchi-ju). Merjenje Secchijske globine po EN ISO 7027 je način merjenja prosojnosti, oziroma motnosti vode.
Prosojnost	glej Secchijska globina
Termoklina	Globina temperaturnega in gostotnega preskoka med oblikovanimi plastmi vode v jezeru, v času poletne plastovitosti. Za oblikovanje termokline v globinski vertikalni jezera je potrebna temperaturna razlika 1 °C na 1 m globine
Epilimnij	Površinska, temperaturno homogena plast vode, ki se oblikuje v obdobju poletne plastovitosti površine do globine termokline.
Metalimnij	Plast med segretim epilimnijem in hladnim hipolimnijem z največjimi spremembami gostote in temperature. Po originalni definiciji Birge (1897) je metalimnij plast, kjer se na vsak m globine spremeni temperatura vode vsaj za 1 °C
Hipolimnij	Plast hladne, temperaturno homogene vode na dnu jezera v obdobju poletne plastovitosti.
Spomladanska, jesenska homotermija	Obdobje temperaturne homogenosti v jezerih zgodaj spomladi in v pozni jeseni, ki omogoča mešanje vode - cirkulacijo.
Poletna plastovitost	Obdobje razslojenosti vodnih mas po globinski vertikalni zaradi različne temperature vode v jezeru
Pelagial	Območje proste vode v jezerih; v nasprotju z bentosom, ki predstavlja območje jezerskega dna
Kvantitativna analiza fitoplanktona	Analiza skupne količine fitoplanktona, na podlagi ugotavljanja prisotnosti posameznih vrst fitoplanktona DIN EN 15204/2006 in določanja njihovega biovolumna, CEN TC 230/WG 2/TG 3/2007
Kvalitativna analiza fitoplanktona	Taksonomska analiza, vrstne sestave fitoplanktona

Celični volumen	Povprečni volumen celice posamezne vrste ločanje skupne količine fitoplanktona, na podlagi povprečnega celičnega volumna in številčne prisotnosti posamezne vrste
Indeks Brettum	Trofični indeks za vrednotenje fitoplanktonske združbe v skladu z EU-direktivo, na osnovi indeksa P.Brettum-a (Brettum 1989), ki sta ga dodatno dodelala in preoblikovala M.T. Dokulil in G. Wolfram (Dokulil in sod. 2005, Wolfram in sod. 2007, neobjavljeno)
Biomasa	Skupna živa organska masa v vodi
Metrika, oz. indeks	Merljiv ali drugače določljiv del procesa v biološkem sistemu, ki se spreminja z velikostjo obremenitve.
Modul	Označuje vrsto obremenitve, katere vpliv na združbe vodnih organizmov (biološke elemente kakovosti) se vrednoti z izbranim metrikami oziroma indeksi.
Referenčna vrednost	Vrednost biološke metrike oz. indeksa v referenčnih razmerah, ki predstavlja izhodišče za izračunavanje razmerja ekološke kakovosti
Referenčne razmere	Razmere, ki predstavljajo vrednosti metrik oz. indeksov pri zelo dobrem ekološkem stanju
Razmerje ekološke kakovosti REK	
	Razmerje med ugotovljeno vrednostjo metrike oz. indeksa na izbranem mestu vzorčenja in referenčno vrednostjo metrike oz. indeksa ob upoštevanju spodnje meje
Spodnja meja	Vrednost biološke metrike oz. indeksa v zelo spremenjenih razmerah
Normalizacija metrik	Izračun razmerja ekološke kakovosti za posamezno metriko oz. indeks
Transformacija metrik	transformacija vrednosti razmerja ekološke kakovosti (REK) metrike oz. indeksa; izbor transformacijske enačbe je odvisen od vrednosti REK

1 VZORČENJE FITOPLANKTONA

Poglavje vključuje vse podrobnosti v zvezi z vzorčenjem kvantitativnih in kvalitativnih vzorcev fitoplanktona in klorofila-a ter postopke kvalitativne in kvantitativne analize fitoplanktona, za vse parametre in metrike, ki jih zahteva izbrana metodologija vrednotenja ekološkega stanja jezer s fitoplanktonom.

Za pravilno vrednotenje ekološkega stanja je pravilno vzorčenje s pravilnim izborom frekvence in globin vzorčenja odločujočega pomena. Poleg kvantitativnih in kvalitativnih vzorcev fitoplanktona se sočasno, na istih globinah zajame tudi vzorce za analizo koncentracije klorofila a v vodi. Vzorčenje fitoplanktona poteka v skladu s postopki opisanimi v dokumentu TC 230 WI 00230272, ki je osnutek za pripravo standardiziranega postopka vzorčenja.

1.1 Obvezna oprema za vzorčenje

1. Osebna zaščitna oprema, rešilni jopič itd...
2. Ustrezno registrirano plovilo, v skladu z lokalnim uredbami.
3. Vzorčevalnik za integrirano vzorčenje za integriran vzorec, ali ustrezen globinski vzorčevalnik za točkovno vzorčenje na posameznih globinah za sestavljen vzorec.
4. Kvalitativna planktonska mreža s porami od 20 - 40 μm .
5. Secchijeva plošča.
6. Potopna sonda za merjenje temperature vode po globinski vertikali.
7. Hladilna torba z elementi za hlajenje za shranjevanje vzorcev.
8. Embalaža za shranjevanje vzorcev (200 - 500 ml steklenica za kvantitativne vzorce iz temnega stekla, 250 - 500 ml steklenica za kvalitativni vzorec, vse s širokim vratom in 1000 - 2000 ml PE posoda za klorofil-a).
9. Pribor za konzervacijo vzorcev (kapalke, formaldehid 37% ali lugol DIN EN 15204/2006, Naphrax za trajni preparat diatomej).
10. Pribor za označevanje vzorcev.
11. Terenski list.

1.2 Frekvenca vzorčenja

Minimalna letna frekvenca vzorčenja fitoplanktona in klorofila a za potrebe določanja ekološkega stanja jezer je minimalno 4-krat letno v enakomernih presledkih, 1-krat v vsakem od limnoloških obdobj. Večja frekvenca vzorčenja pripomore k večji zanesljivosti končnega izračuna ekološkega stanja.

Za izračun ekološkega stanja vodnega telesa pa se uporabi zaporedni triletni niz podatkov.

V obdobju enega leta se vzorčenje fitoplanktona obvezno opravi:

- 1-krat v obdobju spomladanske cirkulacije – homotermije
- 1-krat na začetku poletne plastovitosti
- 1-krat na višku poletne plastovitosti
- 1-krat med jesensko homotermijo

Ob vsakem vzorčenju se zajame kvalitativne in kvantitativne vzorce fitoplanktona ter vzorce za analizo klorofila-a.

1.3 Mesto vzorčenja in globina zajema

Vzorci za kvalitativno in kvantitativno analizo fitoplanktona in klorofil-a se zajamejo iz čolna na **osnovnem vzorčnem mestu** vodnega telesa. **Osnovno vzorčno mesto** je določeno na osnovi hidromorfoloških značilnosti jezera in v večini jezer določeno kot točka na površini jezera, kjer je jezero najgloblje.

Pred vzorčenjem fitoplanktona se za pravilno določitev globin vzorčenja obvezno opravi meritve prosojnosti in meritve temperature vode po globinski vertikali. Vzorce se večinoma zajame v območju eufotične cone, oziroma po shemi v preglednici 1.

Preglednica 1: Izbor globin za vzorčenje fitoplanktona v plitvih in globokih jezerih

Globoka jezera ($Z_{\max} \leq 15$ m)	
Homotermija	Plastovitost
$Z_{\text{euf}} > 20 \text{ m} \rightarrow Z_{\text{vz}} = 20 \text{ m}$ $Z_{\text{euf}} < 20 \text{ m} \rightarrow Z_{\text{vz}} = 20 \text{ m}$	$Z_{\text{euf}} > 20 \text{ m} \rightarrow Z_{\text{vz}} = 20 \text{ m}$ $Z_{\text{euf}} < Z_{\text{epi}} \rightarrow Z_{\text{vz}} = Z_{\text{epi}}$ $Z_{\text{euf}} > Z_{\text{epi}} \rightarrow Z_{\text{vz}} = Z_{\text{euf}}$
Plitva jezera ($Z_{\max} \leq 10$ m)	
Homotermija	Plastovitost
$Z_{\text{vz}} = Z_{\max} - 0,5 \text{ m}$	$Z_{\text{euf}} < Z_{\text{epi}} \rightarrow Z_{\text{vz}} = Z_{\text{epi}}$ $Z_{\text{euf}} < 6 \text{ m} \rightarrow Z_{\text{vz}} = 6 \text{ m}$ $Z_{\text{euf}} > 6 \text{ m} \rightarrow Z_{\text{vz}} = Z_{\text{euf}}$
Zelo plitva jezera ($Z_{\max} \leq 5$ m)	
Homotermija	Plastovitost
$Z_{\text{vz}} = Z_{\max} - 0,5 \text{ m}$	$Z_{\text{vz}} = Z_{\max} - 0,5 \text{ m}$

Eufotična ali produktivna cona je plast vodne mase, kjer je dovolj svetlobe za potek fotosinteze in je bruto primarna produkcija večja od respiracije. Njen obseg, oziroma globina je določen z 2,5-kratno globino prosojnosti, ki se meri s Secchijevo ploščo (EN ISO 7027 Water quality – Determination of turbidity).

V globokih jezerih, kjer območje eufotične cone presega globino 20 m ($Z_{eu} > 20\text{m}$) se vzorčenje opravi v plasti od 0-20 m. Če je globina eufotične cone manjša od globine epilimnija ($Z_{eu} < Z_{epi}$), se vzorčenje opravi v območju epilimnija. **Epilimnij** obsega plast vode od površine do globine termokline. Termoklina je globina temperaturnega preskoka, kjer se na globini enega metra temperatura vode spremeni za 1 °C, Birge (1897), (Hutchinson 1957).

V globokih jezerih se ne glede na globino eufotične cone vzorči do globine 20 m tudi v obdobju homotermije. Izjema je Velenjsko jezero, kjer se vzorčenje fitoplanktona opravi le v prezračeni plasti jezera, ki obsega plast od površine do globine 15 m.

V polimiktičnih plitvih zadrževalnikih ($Z_{max} \leq 10\text{ m}$) se v obdobju homotermije opravi vzorčenje celega vodnega stolpca. V obdobju plastovitosti se vzorči v območju eufotične cone če je globina le te $\geq 6\text{ m}$, sicer pa se vzorčenje opravi do globine 6 m ali v območju epilimnija. V zelo plitvih zadrževalnikih, kjer je ($Z_{max} \leq 6\text{ m}$) se ne glede na obdobje vzorce zajame v celotnem vodnem stolpcu. Končna globina vzorčenja je 0,5 m nad dnom, da se ne zajame mulja ($Z_{vz} = Z_{max-0,5m}$).

1.4 Kvantitativno vzorčenje fitoplanktona in vzorčenje klorofila-a

Vzorce za kvantitativno analizo fitoplanktona in analizo klorofila-a se vedno zajame skupaj, na osnovnem vzorčnem mestu, v območju eufotične cone ali drugače, kot je opredeljeno v poglavju 1.3. Vzorce se lahko zajame integrirano ali točkovno, v skladu s standardom SIST ISO 5667-4:1996. Primernejše je integrirano vzorčenje, ki je ekonomsko in časovno učinkovitejše. Integriran vzorec se zajame z ustreznim vzorčevalnikom za integrirano vzorčenje v celotni plasti eufotične cone. Pri točkovnem načinu vzorčenja se zajame posamezne vzorce na različnih globinah eufotične cone. V plitvih jezerih se točkovne vzorce zajame na vsak meter, v globljih pa najmanj na vsak drugi meter globine. Iz enakih volumskih deležev točkovnih vzorcev se sestavi vzorec za analizo fitoplanktona in klorofila-a.

Vzorce za kvantitativno analizo fitoplanktona se shrani v ustrezno 200 – 500 ml temno stekleno embalažo in takoj doda sredstvo za konzervacijo, 36% formaldehid (1ml formaldehida /100 ml vzorca) ali raztopino lugola (DIN EN 15204/2006). Do analiznega laboratorija se jih hrani v temi v hladilni torbi in nato, največ 6 mesecev v hladilniku pri temperaturi 4 - 10°C.

Vzorce za analizo klorofila-a se zajame v ustrezno 1000 – 2000 ml PE embalažo. Analizo se opravi v roku 24, do največ 36 ur po zajemu. Do analize se vzorce hrani v temi pri temperaturi 4 -10°C.

Vsi vzorci morajo biti označeni z etiketo, ki vsebuje naslednje podatke:

- ime vodnega telesa
- merilno mesto
- datum vzorčenja
- globino zajema

Iz zajetih kvantitativnih vzorcev fitoplanktona se določa število in biovolumen prisotnih fitoplanktonskih vrst v vzorcu, na osnovi česar se izračuna skupni biovolumen fitoplanktona in relativni biovolumen posamezne vrste.

1.5 Kvalitativno vzorčenje fitoplanktona

Vzorci fitoplanktona za kvalitativno analizo in analizo diatomej se zajame na osnovnem vzorčnem mestu, z ustrezno planktonsko mrežo s porami 20 - 40 µm v celotnem vodnem stolpcu, od površine do dna, oziroma v globokih jezerih najmanj do globine 20 m. Namenjeni so taksonomski analizi, meritvam in določanju relativne pogostosti prisotnih vrst fitoplanktona.

Vzorci se shrani v ustrezno 250 – 500 ml plastično ali temno stekleno embalažo.

Za kvalitativno analizo se zajame 2, ali 3 vzorce fitoplanktona.

En vzorec se takoj po zajemu konzervira s 37% formaldehidom (1ml formaldehida / 100 ml vzorca) ali lugolom. Vzorec shranimo v hladilniku pri temperaturi 4 - 10°C. Analize opravimo najkasneje 6 mesecev po zajemu.

Drugi vzorec se ne konzervira. Pregleda se ga v najkrajšem možnem času po zajemu, največ 36 ur po zajemu in je namenjen predvsem natančnejši taksonomski determinaciji.

Tretji vzorec, se uporabi za podrobno analizo diatomej. Vzorec se v roku 36 ur od zajema prefiltrira preko celulozno acetatnega filtra, ki se ga do nadaljnje analize hrani v pokriti petrijevki na sobni temperaturi. Podroben postopek nadaljnje preparacije vzorca je opisan v poglavju 2.3.

Vsi vzorci morajo biti označeni z etiketo, ki vsebuje podatke o vodnem telesu, merilnem mestu, datumu vzorčenja in globini zajema.

2 LABORATORIJSKA ANALIZA FITOPLANKTONA

Analiza fitoplanktona za potrebe določanja ekološkega stanja jezer vključuje kvantitativno in kvalitativno analizo. Postopki ustrezajo predlogu za standardizacijo postopkov (TC 230 WI 00230271).

2.1 Oprema za analizo fitoplanktona

Za kvantitativno in kvalitativno analizo fitoplanktona je potrebna oprema iz spodnjega seznama:

1. Svetlobni mikroskop z oljno-imerzijskimi objektivi z visoko optično ločljivostjo pri visokih povečavah 1000 x in več za kvalitativno analizo
2. Pripomočki za merjenje (PC software)
3. Invertni mikroskop s faznim kontrastom z veliko delovno razdaljo in numerično aperturo (NA) >0,5 za analizo kvantitativnega vzorca z objektivi 10x in 12,5x in okularji 10x in 20x
4. Standardna oprema za mikroskopiranje (objektna, krovna stekelca, čistilni pribor, pipete)
5. Standardizirane štelne komore, z dločenim volumom
6. Sedimentacijski stekleni valji (5 -50 ml) za koncentriranje zelo redkih vzorcev
7. Filtrirana, ultra čista voda za redčenje zelo gostih vzorcev
8. Pripomočki za beleženje
9. Ustrezna literatura za taksonomsko determinacijo fitoplanktona

2.2 Kvalitativna analiza fitoplanktona

S kvalitativno analizo fitoplanktona se določi vrstna sestava fitoplanktona in oceni relativna pogostost posameznih vrst. Taksonomsko določanje poteka do nivoja vrste, pod svetlobnim mikroskopom s pomočjo ustreznih taksonomskih ključev. Na osnovi pregleda kvalitativnega vzorca se oblikuje seznam vrst, ki ga uporabimo tudi pri pregledu kvantitativnega vzorca. Vsaki najdeni vrsti se dodeli šifra iz šifrant, ki je del podatkovne baze EKO-VODE na ARSO.

Relativna pogostost posamezne vrste se določi s 5 - stopenjsko lestvico v preglednici 2. Podatki relativne pogostosti niso direktno vključeni v izračun ekološkega stanja, so pa osnova za načrtovanje strategije štetja, oziroma pripravo podvzorcev fitoplanktona pri kvantitativni analizi. Na materialu iz kvalitativnega vzorca se opravi tudi potrebne meritve za določanje povprečnega celičnega volumna posamezne vrste.

Pregled svežega kvalitativnega vzorca se opravi najkasneje v roku 36 ur po zajemu, fiksirane vzorce pa je potrebno analizirati najkasneje 6 mesecev po vzorčenju.

Preglednica 2: Lestvica za oceno pogostosti fitoplanktona v kvalitativnem vzorcu

Ocena pogostosti vrste	Opis pogostosti
5	masovno prisotna vrsta
4	pogosta vrsta
3	zmerno prisotna vrsta
2	redka vrsta
1	posamezna vrsta

2.2.1 TAKSONOMSKI PREGLED DIATOMEJ IN DOLOČITEV BIOVOLUMNA POSAMEZNE VRSTE

Če diatomeje, zlasti iz skupine Centrales presegajo 10 % skupne biomase fitoplanktona, je potrebna posebna obdelava vzorca po standardnem postopku EN 14407:2004, za odstranjevanje organske snovi iz fristul, ki omogoči taksonomsko določanje do nivoja vrste.

Vzorec planktona (250 – 500 ml) za taksonomsko analizo diatomej filtriramo preko celulozno – acetatnega filtra (>4µm) že na terenu, ali pa uporabimo nefiksiran kvalitativni vzorec, ki ga filtriramo v najkrajšem možnem roku po zajemu, oziroma največ 36 ur po zajemu, sicer moramo uporabiti konzerviran vzorec. Diatomeje iz filtra v laboratoriju speremo z destilirano vodo in usedlino naneseemo na večje krovno stekelce, ki ga na vroči plošči ali v sežigalni peči segrevamo na 500°C. Ohlajeno krovno stekelce položimo skupaj s fiksirnim sredstvom (npr. Naphrax) na objektno stekelce in ponovno razžarimo. Priprava vzorca za taksonomsko analizo diatomej se lahko izvede tudi s kemijsko oksidacijo ali preparacijo s kislino (Nausch 1988, EN 13946 or Krammer in Lange-Bertalot 1986). V prepariranem vzorcu se določi delež (%) posamezne vrste na najmanj 300 prešteti fristul in določi velikost posamezne vrste po shemi v preglednici 3. Te podatke se nato uporabi pri določitvi biovolumna posamezne vrste (primer 1). Pod invertnim mikroskopom se ciklične diatomeje vedno šteje in določa njihov biovolumen v okviru velikostnega razreda.

Preglednica 3: Analiza diatomej z velikostnimi razredi

Velikostni razred	Vrsta	Število	Delež vrste v velikostnem razredu (%)
Centrales 4-6 µm	<i>Cyclotella pseudostelligera</i>	50	100
Centrales 8-10 µm	<i>Cyclotella ocellata</i>	30	75
	<i>Cyclotella pseudostelligera</i>	10	25
Centrales 20-35 µm	<i>Cyclotella ocellata</i>	80	38,1
	<i>Cyclotella radiosa</i>	130	61,9

Primer 1: Določitev biovolumna posamezne vrste

Določen je bil skupni biovolumen velikostnega razreda Centrales 20-35 μm : $0,2288 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$; glede na deleže posamezne vrste v preglednici 3 $\rightarrow$ *Cyclotella occlata* $0,0872 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ in *Cyclotella radiosa* $0,1416 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$

2.3 Kvantitativna analiza fitoplanktona

Analiza vključuje:

- **ugotavljanje številčne prisotnosti posameznih vrst** (abundanca) v vzorcu po postopku UTERMÖHL 1958, oziroma standardu EN 15204/2006 in EN 14996:2006,
- **določitev skupnega biovolumna fitoplanktona** na osnovi številčnosti in povprečnih celičnih volumnov prisotnih vrst po postopkih CEN TC 230/WG 2/TG 3/2007.

Kvantitativna analiza fitoplanktona zahteva specifično pripravo in obdelavo vzorcev :

- prilagoditev – akomodacija vzorca na sobno temperaturo
- homogenizacijo vzorca za enakomerno porazdelitev celic
- pripravo podvzorca v sedimentacijski številni komori
- štetje
- merjenje posameznih celic alg in določanje celičnega volumna
- izračun skupnega biovolumna fitoplanktona

Številčnost posameznih vrst fitoplanktona, oziroma **štetje** se izvede po predlogu TC 230 WI 00230271:2013 (E) s pregledom treh podvzorcev s točno določenim volumnom pod invertnim mikroskopom. Izbor volumna podvzorca, oziroma tip števne komore je odvisen od količine prisotnega fitoplanktona v vzorcu. V primeru redkih vzorcev se vzorce koncentrira s pomočjo sedimentacijskih valjev z različnimi volumni, v primeru zelo gostih vzorcev iz evtrofnih jezer pa je potrebno redčenje vzorca. Štetje je optimalno, pri gostoti števnih enot od 4 – 20 na vidno polje pri povečavi 400 x do 800x.

Oseba, ki je odgovorna za kvantitativno analizo fitoplanktona se mora, zaradi potreb zagotavljanja kakovosti meritev, vsake 3 do 4 leta udeležiti testov za preverjanje strokovnosti (External Proficiency tests), pri čemer se poleg strokovnosti kadra preveri tudi kalibracija opreme, od volumna sedimentacijskih števnih komor, do površine vidnih polj pri različnih povečavah.

Strategija oziroma način štetja se prav tako prilagodi velikosti in številčni prisotnosti posameznih vrst v vzorcu. Pred štetjem se določi tudi strategija štetja praznih celic, npr. praznih valv diatomej ali lorik pri rodu *Dynobryon*. Slednje se šteje le, če so prazne lorike posledica fiksacije. Šteje se tudi mixotrofne vrste, striktnih heterotrofov kot je vrsta *Gymnodinium helveticum* pa ne. V zelo plitvih jezerih oziroma zadrževalnikih se šteje tudi litoralne in bentoške vrste kot sta *Surirella* in *Nostoc*, ki lahko predstavljajo znatni delež

skupne biomase fitoplanktona. Picoplankton, ki tvori kolonije npr. *Aphanothece* in *Cyanodictyon* se šteje, enocelični picoplankton ($<2\ \mu\text{m}$) pa ne. Šteje se tudi heterociste in akinete cianobakterij (Cyanophyta) če so pogoste. Šteje se jih ločeno od vegetativnih celic in se pri določanju biovolumna upošteva tudi drugačne dimenzije teh celic. Vrste, za katere smo v dvomih glede taksonomske razvrstitve, lahko vključimo v seznam samo z rodovnim imenom.

Skupni biovolumen fitoplanktona je vsota biovolumnov posameznih vrst, ki so zastopane v vzorcu fitoplanktona. Biovolumen posamezne vrste se izračuna iz pogostosti posamezne vrste in povprečnega celičnega biovolumna vrste po postopkih v CEN TC 230/WG 2/TG 3/2007. Določanje povprečnega volumna celice temelji na meritvah različnih dimenzij celice, in določitvi **povprečnega biovolumna celice** s predpisanimi formulami. Za izračun povprečnega biovolumna celice se uporabi mediano vrednost posameznih dimenzij najmanj 10-tih meritev. Meritve se opravi pri pregledu kvalitativnega vzorca. **Merjenje** oziroma določanje celičnega biovolumna je bistveni del izračuna skupnega biovolumna fitoplanktona, saj nepravilne meritve, oziroma napačni celični biovolumni lahko povzročajo tudi več kot 100% napako pri določitvi povprečnega skupnega biovolumna fitoplanktona, ki je izbran parameter za določanje ekološkega stanja. Za vrste, katerih dimenzija se le malo spreminja, ponuja CEN TC 230/WG 2/TG 3/2007 tudi uporabo preproste regresijske enčbe dolžina-volumen za korekcijo že določenih celičnih volumnov. Vrste, ki se jim dimenzije zelo spreminjajo (Centrales, Dynophyta) pa je potrebno vsakokrat izmeriti in določiti njihov celični biovolumen. Pri celicah z zelo velikim zunanjim skeletom npr. *Rhizosolenia* se za določitev celičnega volumna uporabi dimenzije notranje organske plazme in ne zunanjega skeleta.

Pojmi za boljše razumevanje

- **Skupni biovolumen fitoplanktona** je vsota biovolumnov vseh prisotnih vrst v vzorcu.
- **Povprečni letni biovolumen fitoplanktona**, je povprečni biovolumen vseh izvedenih vzorčenj v posameznem letu. Za vrednotenje ekološkega - trofičnega stanja jezer se uporablja povprečni letni biovolumen fitoplanktona treh zaporednih let. Za povprečenje se uporablja aritmetična sredina posameznih vrednosti. Povprečni biovolumen fitoplanktona se podaja v $\text{mm}^3\ \text{L}^{-1}$ ali kot povprečna skupna biomasa fitoplanktona v $\text{mg}\ \text{L}^{-1}$.

Pretvorba enot:

$$10^9\ \mu\text{m}^3\ \text{L}^{-1} = 1\ \text{mm}^3\ \text{L}^{-1}$$

$$1\ \text{mm}^3\ \text{L}^{-1} = 1\ \text{mg}\ \text{L}^{-1}$$

- **Relativni biovolumen posamezne vrste** je delež (%) biovolumna ki ga vrsta dosega v skupnem biovolumnu fitoplanktona.

2.3.1 DOLOČANJE VSEBNOSTI KLOROFILA-*a*

Vsebnost klorofila se določa po standardnih postopkih SIST ISO 10260 spektrometrično ali z uporabo HPLC.

3 VREDNOTENJE EKOLOŠKEGA STANJA JEZER NA PODLAGI FITOPLANKTONA

Vodna direktiva (Direktiva 2000/60/EC), ki je zavezujoč dokument za države članice EU pri opredelitvi stanja površinskih voda zahteva poleg kemijskega tudi določanje ekološkega stanja. Vrednotenje ekološkega stanja mora biti izvedeno na podlagi odziva bioloških elementov-bioindikatorjev na razmere v vodah in predstavlja ugotavljanje spremenjenosti strukture in funkcije ekosistema v primerjavi z naravnimi – referenčnimi razmerami. Glede na stopnjo spremenjenosti se oceni stanje vodnega telesa v enega od pet razredov kakovosti ekološkega stanja (preglednica 4).

Preglednica 4: Razredi kakovosti ekološkega stanja

Razred kakovosti – ekološko stanje
Zelo dobro
Dobro
Zmerno
Slabo
Zelo slabo

Fitoplankton je v skladu z Vodno direktivo (Direktiva 2000/60/ES) eden izmed obveznih bioloških elementov za vrednotenje ekološkega stanja jezer. Nova, dopolnjena **Metodologija vrednotenja ekološkega stanja jezer na podlagi fitoplanktona v Sloveniji**, je povzeta je po avstrijski nacionalni metodi (Wolfram in Dokulil 2007) in je prilagojena na razmere v Sloveniji. Temelji na odzivu fitoplanktona na spremenjeno koncentracijo celotnega fosforja, oziroma spremenjene trofične razmere v vodnem telesu in omogoča razlikovanje petih razredov kakovosti. Uporablja se za vrednotenje produktivnosti jezer, oziroma ekološkega stanja jezer po **modulu trofičnosti**. Stanje po modulu trofičnost se ovrednoti na podlagi **Multimetrijskega indeksa fitoplanktona**, ki ga sestavljajo naslednje metrike:

- povprečni letni skupni biovolumen fitoplanktona,
- povprečna letna koncentracija klorofila *a* in
- indeks Brettum.

Povprečni letni skupni biovolumen fitoplanktona in povprečna letna koncentracija klorofila-*a* sta metriki za določanje količine fitoplanktona, indeks Brettum pa je metrika, ki opredeljuje spremembo vrstne sestave fitoplanktona.

3.1 Vrednotenje ekološkega stanja jezer na podlagi fitoplanktona - modul trofičnost

Koraki za pravilno vrednotenje ekološkega stanja po modulu trofičnost z uporabo Multimetrijskega indeksa fitoplanktona (MMI_FPL) so naslednji:

- a) uvrstitev jezera v ekološki tip jezera,
- b) določitev skupne količine fitoplanktona z izbranimi metrikami,
- c) izračun indeksa Brettum,
- d) normalizacija metrik oz. izračun razmerja ekološke kakovosti (REK),
- e) transformacija normaliziranih REK vrednosti posameznih metrik,
- f) izračun multimetrijskega indeksa fitoplanktona za posamezno leto,
- g) izračun vrednosti razmerja ekološke kakovosti po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona za posamezno leto,
- h) razvrstitev vodnega telesa v razred ekološkega stanja po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona,
- i) razvrstitev vzorčnega mesta na podlagi enega biološkega vzorca fitobentosa in makrofitor v razred ekološkega stanja po modulu trofičnost,
- j) izračun razmerja ekološke kakovosti po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona in razvrstitev vodnega telesa jezer v razred ekološkega stanja po modulu trofičnost za izbrano obdobje.

Koraki so podrobneje opisani v nadaljevanju.

3.1.1 UVRSTITEV JEZER V USTREZNI EKOLOŠKI TIP IN REFERENČNE RAZMERE

Izhodišče za vrednotenja ekološkega stanja, je referenčno stanje vodnega okolja, oziroma vrednosti, ki jih dosegajo izbrani parametri, oziroma metrike v okolju, kjer ni vplivov človeka, oz. je vpliv človeka zelo majhen (Wallin in sod. 2003). Referenčna stanja, oziroma izhodišča za vrednotenje ekološkega stanja so odvisna od ekološkega tipa vodnih teles, zato je nujna predhodna razvrstitev vseh vodnih teles površinskih voda v ustrezne ekološke tipe ter določitev referenčnih vrednosti in mej med kakovostnimi razredi za vsak posamezen ekološki tip vodnega telesa.

Evropska tipologija alpskih jezer je močno poenostavljena in vključuje samo dva osnovna interkalibracijska tipa alpskih jezer s površino >50 ha. To sta tipa L-AL3 in L-AL4 (Poikane et al. 2009, Wolfram et al. 2009).

L-AL3: Globoka (povp. globina >15 m) alpska in predalpska nižinska in srednjegorska jezera (50 – 800 m n.v.), s srednjo do visoko alkaliniteto (>1 mmol L⁻¹) in površino >50 ha

L-AL4: Plitva do zmerno globoka (povp. globina 3–15 m) predalpska jezera in jezera v alpskih kotlinah s srednjo nadmorsko višino (200 – 800 m), visoko alkaliniteto (>1 mmol L⁻¹) in površino >50 ha

Edini naravni alpski jezera s površino >50 ha v Sloveniji sta Blejsko in Bohinjsko jezero. Obe jezera pripadata istemu interkalibracijskemu tipu L-AL3, po nacionalni tipologiji pa različnima ekološkima tipoma (preglednica 5).

Preglednica 5: Ekološka tipa naravnih jezer v Sloveniji (Urbanič in sod. 2007)

Ekološki tip	Tip-koda	Hidroekoregija (Urbanič 2005)	Bioregija (Urbanič 2006)	Povprečna globina	Velikost površine
Globoka alpska jezera	J_SI_4_KB-D_>15_1-10	Alpe	Karbonatne Alpe donavskega porečja	> 15 m	1-10 km ²
Globoka predalpska jezera	J_SI_4_PA-D_>15_1-10	Alpe	Predalpska hribovja donavskega porečja	> 15 m	1-10 km ²

Referenčne vrednosti in meje med razredi ekološkega stanja za vse tri parametre, biovolumen fitoplanktona, koncentracijo klorofila-a in indeks Brettum, ki se uporabljajo za določanje ekološkega stanja s fitoplanktonom so se oblikovale med procesom interkalibracije za oba interkalibracijska tipa alpskih jezer L-AL3 in L-AL4. V preglednici 6 so podane intervalne referenčne in mejne vrednosti ekoloških razredov z REK in nREK vrednostmi za biovolumen fitoplanktona, klorofil-a in indeks Brettum v interkalibracijskem tipu alpskih jezerih L-AL3 z določenimi stopnjami (1 = minimalna vrednost, 2 = srednja vrednost, 3 = maksimalna vrednost) za različne ekološke podtipke globokih alpskih jezer.

Preglednica 6: Referenčne vrednosti in meje ekoloških razredov za globoka alpska jezera (L-AL3)

L-AL3	Biovolumen fitoplanktona					
	Interval vrednosti	Izhodiščne stopnje			REK	
	mm ³ L ⁻¹	1	2	3	REK	nREK
Ref.	0,2-0,3	0,20	0,25	0,30	1,00	1,00
ZD/D	0,3-0,5	0,33	0,42	0,50	0,60	0,80
D/Z	0,8-1,2	0,80	1,00	1,20	0,25	0,60
Z/S	2,1-3,1	2,00	2,50	3,10	0,10	0,40
S/ZS	5,3-7,5	5,00	6,25	7,50	0,04	0,20
L-AL3	Klorofil-a					
	Interval vrednosti	Stopnje			REK	
	µg L ⁻¹	1	2	3	REK	nREK
Ref.	1,5-1,9	1,50	1,70	1,90	1,00	1,00
ZD/D	2,1-2,7	2,14	2,43	2,71	0,70	0,80
D/Z	3,8-4,8	3,75	4,25	4,75	0,40	0,60
Z/S	6,8-8,6	6,82	7,73	8,64	0,22	0,40
S/ZS	12,5-15,8	12,50	14,17	15,83	0,12	0,20
L-AL3	Indeks Brettum L-AL3					
	Interval vrednosti	Stopnje			REK	
	µg L ⁻¹	1	2	3	REK	nREK
Ref.	5,09–5,29	5,29	5,19	5,09	1,000	1,0
ZD/D	4,21–4,37	4,37	4,29	4,21	0,827	0,8
D/Z	3,33–3,46	3,46	3,39	3,33	0,654	0,6
Z/S	2,45–2,54	2,54	2,50	2,45	0,481	0,4
S/ZS	1,57–1,63	1,63	1,60	1,57	0,308	0,2

Ref. Referenčne vrednosti

ZD/D meja med zelo dobrim in dobrim stanjem

D/Z meja med dobrim in zmernim stanjem

Z/S meja med zmernim in slabim stanjem

S/ZS meja med slabim in zelo slabim stanjem

Blejsko in Bohinjsko jezero se poleg lege v različni bioregiji razlikujeta tudi po nadmorski višini, velikosti, tipu mešanja vodnih mas, in predvsem po hidroloških značilnostih, kar vse vpliva na različno trofično osnovo obeh jezer, ki pogojuje številčnost in vrstno sestavo fitoplanktona v referenčnih razmerah. Izhodišča za oceno ekološkega stanja obeh jezer so zato kljub istemu interkalibracijskemu tipu različna. Za Blejsko jezero se za izhodišče ocene ekološkega stanja uporablja maksimalne (stopnja 3), za Bohinjsko jezero pa minimalne

(stopnja 1) referenčne vrednosti v okviru intervala referenčnih razmer za globoka alpska jezera L-AL3 (preglednica 6).

3.1.2 DOLOČITEV KOLIČINE FITOPLANKTONA Z IZBRANIMI METRIKAMI

Osnovni metriki - parametra za oceno količine fitoplanktona sta **povprečni letni skupni biovolumen fitoplanktona** in **povprečna vsebnost klorofila a**. Postopki določanja biovolumna fitoplanktona in klorofila *a* so opisani v poglavju 2.3.

Povprečni biovolumen fitoplanktona in klorofila *a* predstavlja povprečje (aritmetična sredina) najmanj štirih vzorčenj fitoplanktona, oziroma klorofila *a* v posameznem letu.

3.1.3 IZRAČUN INDEKSA BRETTUM

Osnova za izračun indeksa Brettum, ki je metrika za vrednotenja odziva vrst na spremembo trofičnosti vodnega telesa je seznam indikatorskih vrst fitoplanktona z določenimi trofičnimi vrednostmi v šestih trofičnih razredih (preglednica 7). Gre za vrstno specifične trofične vrednosti v trofičnih razredih od 1 do 6 z določenim območjem koncentracije celotnega fosforja (TP $\mu\text{g L}^{-1}$) in pogostosti pojavljanja posamezne vrste (specifični biovolumen vrste) v teh trofičnih razredih.

Zadnja dopolnitev in razširitev seznama indikatorskih vrst za alpska jezera (preglednica 7) je potekala v okviru drugega kroga procesa interkalibracije v alpskem GIG-u za jezera (2008 - 2012). Zaradi spremenjenih izhodišč, oziroma referenčnih razmer in mej med razredi ekološkega stanja, ki so bile v tem procesu določene, so se spremenile tudi indikatorske vrednosti za vrste, ki so že bile v seznamu pred temi spremembami.

Preglednica 7: Vrstno specifične indikatorske vrednosti (xij) fitoplanktonskih vrst in rodov v določenih trofičnih razredih za vse ekološke tipe jezer z alpskim vplivom

Koda	Vrsta	Trofični razredi z različno koncentracijo celotnega fosforja (TP µg L ⁻¹)					
A. Razvrstitev vrst po naraščajoči trofičnosti		<=5	5-8	8-15	15-30	30-60	>60
R0040	<i>Cyclotella bodanica</i>	7	3				
R2195	<i>Cyclotella cyclopuncta</i>	7	3				
R2196	<i>Cyclotella distinguenda</i>	8	1	1			
R0733	<i>Pseudoquadrigula</i> sp.	8	1	1			
R0042	<i>Cyclotella comensis</i>	7	2	1			
R1070	<i>Dinobryon cylindricum</i>	7	2	1			
R2058	<i>Discostella glomerata</i>	6	3	1			
R1903	<i>Peridinium umbonatum</i> - complex	7	2		1		
R1166	<i>Chrysolykos planctonicus</i>	5	4	1			
R1446	<i>Chroococcus turgidus</i>	5	3	2			
R1167	<i>Chrysolykos skujae</i>	2	8				
R1155	<i>Bitrichia chodatii</i>	4	4	2			
R0493	<i>Botryococcus braunii</i>	5	2	2	1		
R1037	<i>Kephyrion</i> sp.	6	1	1	1	1	
R0191	<i>Diatoma vulgaris</i>	5	2	1	1	1	
R1697	<i>Peridinium pusillum</i>		9	1			
R1066	<i>Dinobryon bavaricum</i>	3	3	2	2		
R1438	<i>Chroococcus limneticus</i>	4	2	2	1	1	
R1660	<i>Gymnodinium uberrimum</i>	1	6	2	1		
R0442	<i>Tabellaria flocculosa</i>	1	4	5			
R2174	<i>Ulnaria delicatissima</i> var. <i>angustissima</i>	2	3	3	2		
R1654	<i>Gymnodinium</i> sp.	1	5	2	1	1	
R1691	<i>Peridinium inconspicuum</i>	1	4	3	2		
R1069	<i>Dinobryon crenulatum</i>	2	2	3	2	1	
R1443	<i>Chroococcus minutus</i>	1	3	4	1	1	
R0033	<i>Aulacoseira subarctica</i>		1	8	1		
R1209	<i>Cosmarium depressum</i>	2	2	3	1	1	1
R1704	<i>Peridinium willei</i>	1	4	2	1	1	1
R0440	<i>Tabellaria fenestrata</i>	1	1	4	4		
R1642	<i>Glenodinium</i> sp.		2	5	3		
R1151	<i>Uroglena</i> sp.		3	3	3	1	
R0606	<i>Coenococcus planctonicus</i>		1	5	4		
R1413	<i>Aphanocapsa delicatissima</i>		3	3	2	2	
R1617	<i>Planktothrix rubescens</i>	1	1	3	4	1	
R0582	<i>Didymocystis</i> sp.		1	4	4	1	
R1510	<i>Snowella lacustris</i>		1	4	4	1	
R1549	<i>Anabaena spiroides</i>		1	6	1	1	1
R1282	<i>Staurastrum chaetoceras</i>			3	7		
R2549	<i>Urosolenia longiseta</i>		1	3	3	3	
R2556	<i>Crucigeniella irregularis</i>			4	4	2	
R0025	<i>Aulacoseira islandica</i>		1	3	3	2	1
R0083	<i>Stephanodiscus neoastraea</i>		1	2	4	3	
R0533	<i>Coenochloris fottii</i>		1	3	3	2	1
R1074	<i>Dinobryon divergens varschauinslandii</i>			1	9		
R2503	<i>Achnanthyidium catenatum</i>			1	8	1	
R1081	<i>Dinobryon sertularia</i>		1	1	5	3	
R1096	<i>Mallomonas acaroides</i>		1	2	4	2	1
R1342	<i>Sphaeroszma</i> sp.			1	8	1	
R1687	<i>Peridinium cinctum</i>		1	2	4	2	1
R0649	<i>Lagerheimia genevensis</i>			3	3	4	
R1303	<i>Staurastrum pingue</i>			2	5	3	
R1375	<i>Chroomonas</i> sp.		1	2	2	5	
R0048	<i>Cyclotella ocellata</i>		1	1	4	3	1

Koda	Vrsta	Trofični razredi z različno koncentracijo celotnega fosforja (TP µg L ⁻¹)					
A. Razvrstitev vrst po naraščajoči trofičnosti		<=5	5-8	8-15	15-30	30-60	>60
R0848	<i>Tetradron minimum</i>		1	1	4	3	1
R0736	<i>Pseudosphaerocystis lacustris</i>			2	5	2	1
R1414	<i>Aphanocapsa elachista</i>		1	2	2	4	1
R0571	<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>			1	5	4	
R1097	<i>Mallomonas akrokomos</i>			2	4	3	1
R2169	<i>Staurosira construens</i>			2	2	6	
R1100	<i>Mallomonas caudata</i>			1	4	5	
R1427	<i>Aphanothece clathrata</i>			1	4	5	
R1776	<i>Trachelomonas volvocina</i>			1	4	5	
R2520	<i>Fragilaria capucina</i> ssp. <i>rumpens</i>			2	3	3	2
R0555	<i>Crucigeniella rectangularis</i>			1	5	2	2
R0690	<i>Nephrocytium agardhianum</i>				5	5	
R0782	<i>Scenedesmus ellipticus</i>			1	5	2	2
R0935	<i>Chlamydomonas globosa</i>			1	3	6	
R0051	<i>Cyclotella radiosa</i>			1	3	5	1
R0682	<i>Monoraphidium</i> sp.			1	2	7	
R0971	<i>Pandorina morum</i>			2	2	4	2
R1377	<i>Cryptomonas curvata</i>			1	3	5	1
R1536	<i>Anabaena flos-aquae</i>		1	1	2	3	3
R1620	<i>Pseudanabaena catenata</i>		1	1	2	3	3
R1205	<i>Cosmarium bioculatum</i>			1	1	8	
R1506	<i>Rhabdogloea</i> sp.			1	1	8	
R0490	<i>Ankyra lanceolata</i>			1	3	4	2
R0762	<i>Scenedesmus armatus</i>			1	3	4	2
R0975	<i>Phacotus lenticularis</i>			1	3	4	2
R1818	<i>Chrysochromulina parva</i>			1	3	4	2
R1004	<i>Mougeotia thylespora</i>				3	7	
R0184	<i>Diatoma ehrenbergii</i>				3	7	
R1141	<i>Synura</i> sp.			1	3	3	3
R0697	<i>Oocystis lacustris</i>			1	2	5	2
R0743	<i>Quadrigula lacustris</i>			1	1	7	1
R1288	<i>Staurastrum gracile</i>				3	6	1
R1487	<i>Microcystis flos-aquae</i>		1	1	1	3	4
R0701	<i>Oocystis parva</i>			1	1	6	2
R0760	<i>Scenedesmus obtusus</i>				1	9	
R0966	<i>Gonium pectorale</i>				1	9	
R0996	<i>Tetraselmis cordiformis</i>				2	7	1
R0998	<i>Volvox aureus</i>				1	9	
R1181	<i>Closterium acutum</i> var. <i>variabile</i>				2	7	1
R1300	<i>Staurastrum paradoxum</i>				2	7	1
R1519	<i>Synechocystis aquatilis</i>				2	7	1
R1560	<i>Aphanizomenon gracile</i>			1	2	4	3
R1613	<i>Planktothrix agardhii</i>			1	3	2	4
R0082	<i>Stephanodiscus minutulus</i>				3	4	3
R0489	<i>Ankyra judayi</i>				1	8	1
R0633	<i>Kirchneriella</i> sp.				2	6	2
R0654	<i>Lagerheimia subsalsa</i>				1	8	1
R0923	<i>Carteria</i> sp.			1	1	5	3
R1095	<i>Erkenia subaequiciliata</i>			1	2	3	4
R1386	<i>Cryptomonas ovata</i>			1	2	3	4
R1199	<i>Closterium pronum</i>				1	8	1
R1283	<i>Staurastrum cingulum</i>				1	8	1
R1621	<i>Pseudanabaena limnetica</i>				3	4	3
R0189	<i>Diatoma tenuis</i>			1	1	4	4
R0529	<i>Coelastrum pseudomicroporum</i>				1	7	2
R0530	<i>Coelastrum reticulatum</i>			1	2	2	5

Koda	Vrsta	Trofični razredi z različno koncentracijo celotnega fosforja (TP $\mu\text{g L}^{-1}$)				
A. Razvrstitev vrst po naraščajoči trofičnosti		<=5	5-8	8-15	15-30	30-60
R1726	<i>Euglena</i> sp.			1	2	2
R0993	<i>Sphaerocystis schroeteri</i>				2	5
R1191	<i>Closterium limneticum</i>				1	7
R1525	<i>Woronichinia naegeliana</i>				3	3
R0891	<i>Gloeocystis</i> sp.				1	6
R0660	<i>Micractinium pusillum</i>				1	6
R0820	<i>Schroederia setigera</i>				1	6
R1482	<i>Microcystis aeruginosa</i>			1	1	3
R0016	<i>Acanthoceras zachariasii</i>				2	3
R0024	<i>Aulacoseira granulata</i> var. <i>angustissima</i>				2	3
R0343	<i>Nitzschia acicularis</i>			1	1	2
R0527	<i>Coelastrum microporum</i>			1	1	2
R1178	<i>Closterium acutum</i>			1	1	2
R0704	<i>Oocystis solitaria</i>				2	3
R1003	<i>Mougeotia</i> sp.				1	5
R0806	<i>Scenedesmus quadricauda</i>				1	4
R0940	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>				1	4
R0047	<i>Cyclotella meneghiniana</i>				1	4
R0963	<i>Eudorina elegans</i>				2	2
R1176	<i>Closterium aciculare</i>					6
R1311	<i>Staurastrum tetracerum</i>					6
R1153	<i>Pseudopedinella erkensis</i>				2	2
R0023	<i>Aulacoseira granulata</i>				1	3
R0506	<i>Chlorococcum</i> sp.					5
R0698	<i>Oocystis marssonii</i>				1	3
R1518	<i>Synechococcus</i> sp.					5
R1558	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>				1	3
R0713	<i>Pediastrum boryanum</i>					4
R0722	<i>Pediastrum simplex</i>				1	2
R0725	<i>Pediastrum tetras</i>				1	2
R0754	<i>Scenedesmus acuminatus</i>					4
R1499	<i>Microcystis wesenbergii</i>				1	2
R1582	<i>Limnithrix redekei</i>				1	2
R0488	<i>Ankyra ancora</i>				1	1
R0523	<i>Coelastrum astroideum</i>					3
R0616	<i>Golenkinia radiata</i>				1	1
R0716	<i>Pediastrum duplex</i>					3
R0777	<i>Scenedesmus dimorphus</i>				1	1
R1531	<i>Anabaena circinalis</i>				1	1
R1544	<i>Anabaena planctonica</i>					3
R1748	<i>Phacus longicauda</i>				1	1
R0078	<i>Stephanodiscus binderanus</i>					2
R0079	<i>Stephanodiscus hantzschii</i>					2
R0484	<i>Ankistrodesmus</i> sp.					2
R0781	<i>Scenedesmus eornis</i>					2
R0999	<i>Volvox globator</i>					2
R1622	<i>Pseudanabaena mucicola</i>					2
R0503	<i>Chlorella</i> sp.					2
R0020	<i>Aulacoseira ambigua</i>					1
R0500	<i>Characium</i> sp.					1
R1610	<i>Planktolyngbya limnetica</i>					1
R0028	<i>Aulacoseira italica</i>					
R0930	<i>Chlamydocapsa planctonica</i>					

Pred izračunom indeksa Brettum je treba določiti skupni biovolumen fitoplanktona in relativni biovolumen posamezne indikatorske vrste v vzorcu. Natančni postopki so opisani v poglavju 2.3.

V prvem koraku izračuna indeksa Brettum za posamezni vzorec se indikatorska vrednost posamezne indikatorske vrste i v vsakem od trofičnih razredov j (x_{ij}) pomnoži z relativnim biovolumnom vrste (v_i) (preglednica 7, enačba 1). Za vsak trofični razred j dobimo indeks I_j . Rezultat je vrednosti 6 skupnih indeksov, ena vrednost za vsak trofični razred.

Enačba 1: Izračun skupnega indeksa trofičnih razredov (I_j)

$$I_j = \frac{\sum_{i=1}^n v_i * X_{ij}}{\sum_{i=1}^n v_i}$$

Kjer je:

x_{ij} – specifična indikatorska vrednost taksona i v trofičnem razredu j

v_i – relativni biovolumen taksona i

I_j – skupni indeks trofičnega razreda j

Iz šestih indeksov I_j posameznega trofičnega razreda se v naslednjem koraku izračuna indeks Brettum (enačba 2). V izračunu se prvi trofični razred obteži z utežjo $T=6$, šesti trofični razred pa z utežjo $T=1$. Obteženo povprečje predstavlja končni indeks Brettum. Z gradientom trofičnosti vrednost indeksa Brettum narašča.

Enačba 2: Izračun indeksa Brettum

$$BI = \frac{\sum_{j=1}^6 I_j * T_j}{\sum_{j=1}^6 I_j}$$

Kjer je:

BI – vrednost indeksa Brettum

T_j – utež trofičnega razreda j

I_j – vrednost skupnega indeksa trofičnega razreda j

3.1.4 IZRAČUN RAZMERJA EKOLOŠKE KAKOVOSTI (REK) ZA POSAMEZNE METRIKE

Vsako vrednotenje ekološkega stanja vodnega telesa, ki je v skladu z Direktivo 2000/60/ES mora v končni oceni opredeliti odstopanje od referenčnih razmer. Za prikaz tega odstopanja se uvede razmerje ekološke kakovosti ali REK vrednosti, kar se doseže z normalizacijo vrednosti posameznih parametrov, oziroma metrik.

Normalizacijo povprečnega letnega skupnega biovolumna fitoplanktona in povprečne letne vsebnosti klorofila *a* se izvede tako, da se referenčno vrednost metrike deli z izračunano oziroma izmerjeno vrednostjo metrike (enačbi 3 in 4).

Enačba 3: Normalizacija parametra povprečni skupni biovolumen **fitoplanktona**

$$REK_{BV} = \frac{BV_{ref}}{BV_{vzorca}}$$

Kjer je:

REK_{BV} – razmerje ekološke kakovosti za skupni biovolumen fitoplanktona

BV_{ref} – referenčna vrednost za skupni biovolumen fitoplanktona

BV_{vzorca} – skupni biovolumen fitoplanktona v vzorcu

Enačba 4: Normalizacija metrike klorofil-*a*

$$REK_{Chla} = \frac{Chla_{ref}}{Chla_{vzorca}}$$

Kjer je:

REK_{Chla} – razmerje ekološke kakovosti za povprečno vsebnost klorofila *a*

Chla_{ref} – referenčna vrednost za povprečno vsebnost klorofila *a*

Chla_{vzorca} – določena povprečna vsebnost klorofila *a* v vzorcu

Normalizacijo izračunane vrednosti za indeks Brettum (BI) se izvede tako, da se izračunana vrednost indeksa Brettum deli z referenčno vrednostjo indeksa Brettum (enačba 5).

5: Normalizacija metrike indeksa Brettum

$$REK_BI = \frac{BI_vzorca}{BI_ref}$$

Kjer je:

REK_BI – razmerje ekološke kakovosti metrike indeks Brettum

BI_ref – referenčna vrednost metrike indeks Brettum

BI_vzorca – izračunana vrednost indeksa Brettum v vzorcu

3.1.5 TRANSFORMACIJA NORMALIZIRANIH REK VREDNOSTI POSAMEZNIH METRIK

Za doseganje enakomerne oddaljenosti razredov ekološkega stanja, ki omogoča direkten izračun ekološkega stanja iz normaliziranih REK vrednosti, je potrebna nadaljnja transformacija REK vrednosti za vse parametre, oziroma metrike.

Transformacija REKi vrednosti v normalizirane nREKi vrednosti za vsak posamezen razred kakovosti se opravi z uporabo algoritma v preglednici 8.

Preglednica 8: Algoritem za pretvorbo transformiranih (REKi) v normalizirane REK vrednosti (nREKi)

REKi	n REKi
≥ 1	1
$\geq REK\ ZD/D$	$(REKi - REK\ ZD/D) / (1 - REK\ ZD/D) * 0,2 + 0,8$
$REK\ ZD/D > REKi \geq REK\ D/Z$	$(REKi - REK\ D/Z) / (REK\ ZD/D - REK\ D/Z) * 0,2 + 0,6$
$REK\ D/Z > REKi \geq REK\ Z/S$	$(REKi - REK\ Z/S) / (REK\ D/Z - REK\ Z/S) * 0,2 + 0,4$
$REK\ Z/S > REKi \geq REK\ S/ZS$	$(REKi - REK\ S/ZS) / (REK\ Z/S - REK\ S/ZS) * 0,2 + 0,2$
$< REK\ S/ZS$	$REKi / REK\ S/ZS * 0,2$
ZD/D meja med zelo dobrim in dobrim ekološkim stanjem	Z/S meja med zmernim in slabim stanjem
D/Z meja med dobrim in zmernim stanjem	S/ZS meja med slabim in zelo slabim stanjem

3.1.6 IZRAČUN MULTIMETRIJSKEGA INDEKSA FITOPLANKTONA

Multimetrijski indeks fitoplanktona (MMI_FPL) je sestavljena metrika iz normaliziranih in transformiranih REK vrednosti osnovnih metrik za oceno stanja fitoplanktona, povprečne letne vrednosti skupnega biovolumna, povprečne letne vsebnosti klorofil-a, in povprečnega indeksa Brettum. Obe metriki za količino fitoplanktona imata skupaj enako težo kot indeks Brettum, ki je metrika za vrednotenje kvalitete oz. vrstne sestave fitoplanktona (enačba 6).

Enačba 6: Izračun multimetrijskega indeksa fitoplanktona za vrednotenje ekološkega stanja jezer v posameznem letu

$$\text{MMI_FPL}_i = \frac{(\text{nREK_BV}_i + \text{nREK_Chla}_i) / 2 + \text{nREK_BI}_i}{2}$$

Kjer je:

MMI_FPL_i – vrednost multimetrijskega indeksa fitoplanktona v *i*-tem letu

nREK_BV_i – normalizirana REK vrednost za povprečni letni skupni biovolumen fitoplanktona v *i*-tem letu

nREK_Chla_i – normalizirana REK vrednost za povprečno letno vsebnost klorofila a v *i*-tem letu

nREK_BI_i – normalizirana REK vrednost indeksa Brettum v *i*-tem letu

Za izračun multimetrijskega indeksa fitoplanktona (MMI_FPL) v posameznem letu so potrebna najmanj 4 vzorčenja fitoplanktona v različnih limnoloških obdobjih. Le tako določen indeks omogoča izračun vrednosti modula trofičnosti na podlagi fitoplanktona.

3.1.7 IZRAČUN RAZMERJA EKOLOŠKE KAKOVOSTI PO MODULU TROFIČNOST NA PODLAGI FITOPLANKTONA ZA POSAMEZNO LETO

Vrednost razmerja ekološke kakovosti (REK) po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona za vodno telo jezera v posameznem letu je enaka vrednost multimetrijskega indeksa fitoplanktona za posamezno leto (enačba 7).

Enačba 7: Izračun vrednosti REK po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona za posamezno leto

$$MMI_FPL_i = J_FPL_{Tri}$$

Kjer je:

MMI_FPL_i – vrednost multimetrijskega indeksa fitoplanktona v *i*-tem letu

J_FPL_{Tri} – razmerje ekološke kakovosti po modulu trofičnost v *i*-tem letu na podlagi fitoplanktona

Ker metodologija vrednotenja ekološkega stanja jezer na podlagi fitoplanktona zahteva najmanj 3-letno zaporedno spremljanje stanja fitoplanktona, razvrstitev vodnega telesa v razred ekološkega stanja po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona v posameznem letu se ne izvaja.

3.1.8 IZRAČUN RAZMERJA EKOLOŠKE KAKOVOSTI PO MODULU TROFIČNOST NA PODLAGI FITOPLANKTONA ZA IZBRANO OBDOBJE

Metodologija vrednotenja ekološkega stanja jezer na podlagi fitoplanktona zahteva za uvrstitev vodnega telesa v razred ekološkega stanja najmanj triletni zaporedni niz opazovanj fitoplanktona. Razmerje ekološke kakovosti po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona se zato izračuna najmanj za obdobje treh zaporednih let po enačbi 8.

Enačba 8: Izračun razmerja ekološke kakovosti po modulu trofičnost

$$J_{FPL_{Tr\ l}} = \frac{\sum_{j=1}^m J_{FPL_i}}{m}$$

Kjer je:

$J_{FPL_{Tr\ l}}$ – razmerje ekološke kakovosti po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona v l -tem izbranem obdobju

J_{FPL_i} – razmerje ekološke kakovosti po modulu trofičnost v i -tem letu

m – število opazovanih let ($m \geq 3$)

3.1.9 RAZVRSTITEV VODNEGA TELESA V RAZRED EKOLOŠKEGA STANJA PO MODULU TROFIČNOST NA PODLAGI FITOPLANKTONA

Vodno telo se uvrsti v razred ekološkega stanja po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona tako, da se razmerje ekološke kakovosti po modulu trofičnost izračunano za izbrano obdobje razvrsti v razred kakovosti glede na preglednico 9.

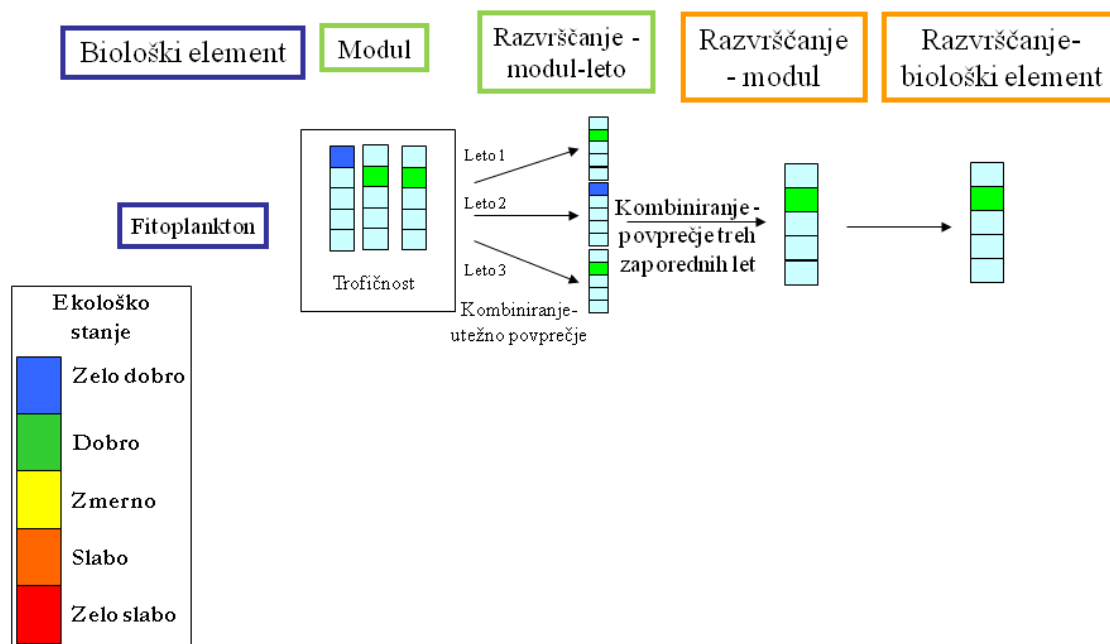
Preglednica 9: Mejne vrednosti razredov kakovosti ekološkega stanja po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona.

Razmerje ekološke kakovosti* - razpon	Razred kakovosti – ekološko stanje
$\geq 0,80$	zelo dobro
0,60 - 0,79	dobro
0,40 - 0,59	zmerno
0,20 - 0,39	slabo
$> 0,20$	zelo slabo

* rezultate se zaokroži na dve decimalni mesti.

3.2 Vrednotenje ekološkega stanja jezer in razvrščanje vodnih teles jezer v razrede ekološkega stanja na podlagi biološkega elementa fitoplankton

Vrednotenje ekološkega stanja in razvrščanje vodnih teles jezer v razrede ekološkega stanja na podlagi fitoplanktona se izvede na podlagi modula trofičnost (slika 1).



Slika 1: Shematski prikaz razvrščanja vodnih teles jezer v razrede ekološkega stanja na podlagi biološkega elementa fitoplankton

4 VIRI

http://www.lebensministerium.at/wasser/wasseroesterreich/plan_gewaesser_ngp/nationaler_gewaesserbewirtschaftungsplan-nlp/bio_lf.html

Direktiva 2000/60/ES Evropskega parlamenta in Sveta z dne 23. oktobra 2000 o določitvi okvira za ukrepe Skupnosti na področju vodne politike. Bruselj, 72 str.

<http://wasser.lebensministerium.at/article/articleview/52972/1/5659>

Hutchinson G. E. (1957). A Treatise on Limnology. Volume 1,2,3. John Wiley & Sons, Inc. New York, London.

CEN/TC 230 Water quality – Wasserbeschaffenheit – Anleitung zur Bestimmung des Phytoplankton 2013/05.

Wolfram G., Argillier C., de Bortoli J., Buzzi F., Dalmiglio A., Dokulil M. T., Hoehn E., Marchetto A., Martinez P.-J., Morabito G., Reichmann M., Remec-Rekar Š., Riedmüller U., Rioury C., Schaumburg J., Schulz L. & Urbanič G. (2009). Reference conditions and WFD compliant class boundaries for phytoplankton biomass and chlorophyll-a in Alpine lakes. *Hydrobiologia* 633: 45–58.

Urbanič, G., Remec-Rekar, Š., Kosi, G., Germ, M., M. Bricelj & S. Podgornik (2007): Typology of lakes in Slovenia. *Natura Sloveniae* 91: 5-13.

Urbanič G., Remec-Rekar Š., Kosi G., Germ M., Bricelj M., Podgornik S. (2006). Tipologija jezer. V: Urbanič, G. (2006), Dodelava tipizacije za reke in jezera. Poročilo o delu v letu 2006. Inštitut za vode RS, Ljubljana, str. 12-18.

Urbanič G., Remec-Rekar Š., Kosi G. (2008). Klasifikacija ekološkega stanja jezer z biološkimi elementi v skladu z Vodno direktivo (Direktiva 2000/60/ES). Eko-voda, Zgornja Ščavnica, 31 str.

Wallin M., Wiederholm T., Johnson K. R. (2003). Guidance on establishing reference condition and ecological status class boundaries for inland surface waters, version 7.0. CIS Working Group 2.3 – REFCOND, 93 str.

Wolfram G., Donabaum K., Dokulil M. (2012). Leitfaden zur Erhebung der Biologischen Qualitätselemente. Teil B2 – Phytoplankton.