

PRILOGA K: METODOLOGIJA VREDNOTENJA EKOLOŠKEGA STANJA
OBALNEGA MORJA NA PODLAGI FITOPLANKTONA

KAZALO VSEBINE

1	VZORČENJE FITOPLANKTONA OBALNEGA MORJA	4
1.1	Frekvenca in čas vzorčenja.....	4
1.2	Izbira mesta vzorčenja.....	4
1.3	Vzorčenje vode in določitev globin vzorčenja	4
2	LABORATORIJSKA OBDELAVA VZORCEV FITOPLANKTONA.....	6
2.1	Priprava vzorcev v laboratoriju in shranjevanje vzorcev fitoplanktona.....	6
2.2	Zapis in hranjenje vzorcev.....	7
2.3	Določanje abundance in vrstne sestave fitoplanktona	7
2.3.1	KVANTITATIVNA ANALIZA FITOPLANKTONA	7
2.3.2	SESTAVA FITOPLANKTONA IN KLJUČI ZA DOLOČANJE TAKSONOV	9
2.4	Merjenje klorofila <i>a</i> in razgradnih produktov v fitoplanktonu.....	10
3	VREDNOTENJE EKOLOŠKEGA STANJA OBALNEGA MORJA NA PODLAGI FITOPLANKTONA	12
3.1	Vrednotenje ekološkega stanja obalnega morja na podlagi fitoplanktona - modul trofičnost.....	12
3.1.1	UVRSTITEV MESTA VZORČENJA V EKOLOŠKI TIP OBALNEGA MORJA.....	13
3.1.2	IZRAČUN METRIKE BIOMASE FITOPLANKTONA: LETNA GEOMETRIČNA SREDINA KONCENTRACIJ KLOROFILA <i>A</i>	13
3.1.3	NORMALIZACIJA IN TRANSFORMACIJA METRIKE BIOMASA FITOPLANKTONA ..	14
3.1.4	UVRSTITEV MESTA VZORČENJA V RAZRED EKOLOŠKEGA STANJA PO MODULU TROFIČNOST.....	15
3.1.5	IZRAČUN VREDNOSTI RAZMERJA EKOLOŠKE KAKOVOSTI PO MODULU TROFIČNOST NA PODLAGI FITOPLANKTONA IN UVRSTITEV VODNEGA TELES OBALNEGA MORJA V RAZRED EKOLOŠKEGA STANJA PO MODULU TROFIČNOST ZA IZBRANO OBDOBJE	16
3.2	Vrednotenje ekološkega stanja in razvrščanje vodnih teles obalnega morja v razrede ekološkega stanja na podlagi biološkega elementa fitoplankton.....	17
4	VIRI	18

SLOVAR UPORABLJENIH IZRAZOV

metrika oz. indeks - merljiv del ali proces biološkega sistema, ki se spreminja z velikostjo obremenitve

modul – predstavlja vrsto obremenitve, katere vpliv na združbe vodnih organizmov (biološke elemente kakovosti) se vrednoti z izbranimi metrikami oziroma indeksi

normalizacija metrik – izračun razmerja ekološke kakovosti za posamezno metriko oz. indeks

razmerje ekološke kakovosti – razmerje med ugotovljeno vrednostjo metrike oz. indeksa na izbranem mestu vzorčenja in referenčno vrednostjo metrike oz. indeksa ob upoštevanju spodnje meje

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

spodnja meja – vrednost biološke metrike oz. indeksa v zelo spremenjenih razmerah

transformacija metrik – transformacija vrednosti razmerja ekološke kakovosti (REK) metrike oz. indeksa; izbor transformacijske enačbe je odvisen od vrednosti REK

1 VZORČENJE FITOPLANKTONA OBALNEGA MORJA

1.1 Frekvenca in čas vzorčenja

Vzorčenje fitoplanktona (biomasa, abundanca in sestava) se izvaja enkrat mesečno, običajno med 8. in 15. uro.

1.2 Izbira mesta vzorčenja

Vzorčenje se izvaja na tistih mestih vzorčenja, ki so v mreži mest vzorčenja nacionalnega monitoringa za spremljanje kemijskega in ekološkega stanja morja predvidene za vzorčenje fitoplanktona in splošnih fizikalno-kemijskih elementov, ki podpirajo biološke elemente.

1.3 Vzorčenje vode in določitev globin vzorčenja

Vzorci morske vode za fitoplankton (in podporne fizikalno-kemijskih elemente) se vzorči z vzorčevalnimi posodami znane prostornine (npr. 5-litrne Niskinove posode) na posameznih globinah vodnega stolpa. Priporočljiva je uporaba standardnega oceanografskega vzorčevalnika – rozete, ki ima na svojem ogrodju vpeto določeno število Niskinovih posod (npr. 12). V računalnik, ki je povezan z rozeto, se vnese globino vzorčenja, poseben mehanizem pa potem sproži zapiranje vzorčevalnih posod na izbranih globinah. Tako je omogočeno sočasno, oz. z nekaj sekundnim zamikom, zajemanje vzorcev na različnih globinah vodnega stolpa ob enkratnem vertikalnem spustu rozete. Nato se iz vsake vzorčevalne posode razdeli vodo za nadaljnje analize parametrov morske vode. Podvzorci za analize klorofila *a* (500 mL) hranimo na temnem in hladnem mestu (ladijski hladilnik) do prihoda v laboratorij. Podvzorci za mikroskopske analize fitoplanktona (2,5 L) hranimo v temi do prihoda v laboratorij.

Določitev globin vzorčenja:

- Biomasa fitoplanktona, koncentracija klorofila *a* (Chl *a*): veljavna metoda za vrednotenje ekološkega stanja po fitoplanktonu sloni na podatkih o površinskih koncentracijah Chl *a* (globina: 0 m). Predlagamo vključitev še dveh globin vzorčenja za klorofil *a* (10 m, dno), ki bosta, poleg površinskega sloja, vključeni v razvoj

multimetričnega indeksa za vrednotenje ekološkega stanja s fitoplanktonom (obveznost, izhajajoča iz Aneksa 2 Odločbe 2013/480/ES).

- Abundanca in sestava fitoplanktona: razvoj metodologije za vrednotenje stanja z uporabo teh fitoplanktonskih parametrov poteka na nacionalnem nivoju, predvideno pa je tudi nadaljevanje interkalibracije za te parametre v skupini Med-GIG. Predlagane globine vzorčenja: 0 m, 10 m, dno.

2 LABORATORIJSKA OBDELAVA VZORCEV FITOPLANKTONA

2.1 Priprava vzorcev v laboratoriju in shranjevanje vzorcev fitoplanktona

Za kvantitativno analizo fitoplanktona se iz vzorčevalne platenke (2,5 L) odlije podvzorec v temno steklenico z zamaškom na navoj (500 ali 1000 mL), v kateri je fiksativ.

Vzorci fitoplanktona fiksiramo z nasičeno 37% raztopino formalina, nevtralizirano z dodatkom 20 g heksametilentetramina. Raztopino temeljito premešamo, da se dodana snov popolnoma raztopi (po potrebi se uporabi ultrasonična kopel, ki pospeši razbitje delcev) in izmerimo pH, ki mora biti v območju pH morske vode (8,1-8,2).

Pred vsakokratno uporabo se tako pripravljeno raztopino filtrira skozi filter v plastičnem ohišju za enkratno uporabo (velikost por 0,22 μm), ker heksametilentetramin v vzorcih morske vode s časom precipitira in njegovi delci motijo vzorce fitoplanktona pri mikroskpiranju. Volumen dodanega nevtraliziranega formalina je odvisen od volumna vzorcev, velja pa, naj bo končna koncentracija formalina 2%.

Priprava fiksativa in fiksiranje vzorcev poteka v digestoriju.

Določanje vsebnosti Chl *a* v fitoplanktonu je opisano v poglavju »Merjenje klorofila *a* in razgradnih produktov v fitoplanktonu«.

2.2 Zapis in hranjenje vzorcev

V terenski list se na terenu zapiše naslednje podatke: datum, čas, vodno telo, mesto vzorčenja, geografske koordinate, globina, vrsta vzorca, hkrati pa tudi vse opombe in opazovanja.

Terenski list je del dokumentacije o vzorčenju in se ga hrani na dogovorjenem mestu.

Fiksirani vzorci za kvantitativno in kvalitativno analizo fitoplanktona se do nadaljnje obdelave hranijo na policah v prezračevanem in temnem skladišču za vzorce in se jih čim manj premika.

Po opravljenih mikroskopskih pregledih se del vzorca prelije v 100 mL plastenko, ki služi za daljše (do 5 let) hranjenje in morebitno preverbo ter se ga prav tako hrani v skladišču za vzorce.

2.3 Določanje abundance in vrstne sestave fitoplanktona

2.3.1 KVANTITATIVNA ANALIZA FITOPLANKTONA

Kvantitativna analiza služi za določitev abundance taksonov (vrsta, rod, razred) fitoplanktona v vzorcu morske vode, tj. števila celic na volumsko enoto. V ta namen se uporabi Utermöhlova metoda, ki omogoča preštetje fitoplanktonskih organizmov v znanem volumnu podvzorca z uporabo invertnega mikroskopa (Utermöhl, 1958).

Vzorec, shranjen v temni steklenici in fiksiran z 2% nevtraliziranim formalinom, temeljito premešamo (pribl. 100-krat počasi obrnemo steklenico). V sedimentacijski valj znane prostornine s sedimentacijsko komorico natočimo podvzorec ter pustimo usedati od 24 do 72 ur. Volumen podvzorca izberemo glede na predvideno gostoto fitoplanktonskih celic, ki jo lahko ocenimo iz meritev koncentracij Chl *a* (*in situ* fluorescenca, analitska metoda določanja Chl *a*). Včasih je pri zelo veliki gostoti fitoplanktona vzorec potrebno predhodno redčiti (2x, 4x, 8x...). To se izvede s Folsomovim razdelilcem, redčenje pa se kasneje upošteva pri izračunavanju števila.

Po končanem usedanju nato pod invertnim mikroskopom preštajemo fitoplanktonske celice na dnu sedimentacijske komorice. Pri štetju vseh predstavnikov fitoplanktonske združbe z zelo raznoliko velikostjo in abundanco, štejemo po transektih, tj. po zaporednih vidnih poljih, ki si sledijo v navpični ali prečni smeri ali križem čez dno komore pri 400x povečavi. Drugi način je, da se naključno izbere polja brez določenega vzorca. V vsakem primeru pa je ključno število pregledanih polj, ki vpliva na velikost napake metode. Priporočljivo je pregledati 100 vidnih polj pri 400x povečavi, v primeru zelo redkih vrst pa do 200 polj. Če štejemo le celice velikih vrst z nizko abundanco (npr. *Dinophysis* spp., velikost > 40 µm), pa pregledamo celotno dno komorice pri 200x povečavi.

Številčnost fitoplanktona se izračuna po enačbi 1:

Enačba 1: Izračun številčnosti fitoplanktona

$$No. = N * \left(\frac{a}{b}\right) * \left(\frac{1000}{c}\right) * d$$

kjer je:

No. - število fitoplanktona, izražen kot (celice/L),

N - število prešteti celic v pregledanih vidnih poljih,

a - število vseh vidnih polj pri določeni povečavi (npr. 2500 pri 400x povečavi),

b - število pregledanih vidnih polj,

c - volumen sedimentiranega podvzorca (v mL),

d - faktor redčenja (največkrat 1).

2.3.2 SESTAVA FITOPLANKTONA IN KLJUČI ZA DOLOČANJE TAKSONOV

Zaželeno stopnja določanja sestave je do vrste, v primerih, ko to ni mogoče pa do prvega najnižjega taksona (rod, družina itd.).

Za določanje vrst fitoplanktona je na razpolago številna literatura: določevalni ključi, priporočljivi so tudi znanstveni članki s področja taksonomije in sistematike, ki so po navadi novejši in zato bolj ažurirani. Zelo priporočljiva je tudi spletna stran <http://www.algaebase.org/>, kjer lahko preverimo veljavna imena taksonov. Seznami najbolj uporabne sistematske literature so podani ločeno za posamezne razrede oz. skupine fitoplanktona:

Diatomeje:

Brunel, J. 1970. Le phytoplancton de la Baie des Chaleurs. 2^e édition. Les presses de l'Université de Montréal, Montréal, 365 str.

Cupp, E. E. 1943. Marine plankton diatoms of the west coast of North America. Bull. Scripps Instn. Oceanogr., 5, 1-237.

Hasle, G. R. in Syvertsen, E. E. 1996. Marine diatoms. V: Tomas, C. R. (ur.): Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates. Academic Press, Inc., San Diego, s. 5-385.

Hendey, N. I. 1964. An Introductory Account of the Smaller Algae of British Coastal Waters. Part V: Bacillariophyceae (Diatoms). Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Fishery Investigations, Series IV. H.M. Stationery Office, London, 317 str.

Hustedt, F. 1930. Die Kieselalgen. Deutschlands, Österreichs und der Schweiz mit Berücksichtigung der übrigen Länder Europas sowie der angrenzenden Meeresgebiete. Teil 1. Akademische Verlagsgesellschaft m.b.H., Leipzig, 920 str.

Rampi, L. in Bernhard, M. 1978. Chiave per la determinazione delle diatomee pelagiche mediterranee. C.N.E.N.-C.S.N.-Casaccia, 71 str.

Dinoflagelati:

Balech, E. 1988. Los Dinoflagelados del Atlantico Sudoccidental. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentacion, Madrid. Número 1, 310 str.

Dodge, J. D. 1982. Marine Dinoflagellates of the British Isles. H.M:S.O., 310 str.

Faust, M. A. in Gualledge, R. A. 2002. Identifying Harmful Marine Dinoflagellates. Dept. Systematic Biology-Botany, Washington DC, 144 str.

Fukuyo, J., Takano, H., Chihara, M. in Matsuoka, K. (ur.). 1990. Red Tide Organisms in Japan. An Illustrated Taxonomic Guide. Uchida Rokakuho, Tokyo, 430 str.

Larsen, J. in Moestrup, Ø. 1989. Guide to Toxic and Potentially Toxic Marine Algae. The Fish Inspection Services, Ministry of Fisheries, Copenhagen, 61 str.

Rampi, L. in Bernhard, M. 1980. Chiave per la determinazione delle peridinee pelagiche mediterranee. C.N.E.N.-RT/B10(80)8, 193 str.

Schiller, J. 1930. Dinoflagellatae (Peridinae). Rabenhorst's Kryptogamen Flora. Teil 1. Akad. Verlag., Leipzig, 10, 617 str.

Schiller, J. 1933. Dinoflagellatae (Peridinae). Rabenhorst's Kryptogamen Flora. Teil 2. Akad. Verlag., Leipzig, 10, 590 str.

Steindinger, K. A. in Tangen, K. 1996. Dinoflagellates. V: Tomas, C. R. (ur.): Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates. Academic Press, Inc., San Diego, s. 387-584.

Kokolitoforidi:

Heimdal, B. R. 1993. Modern Coccolithophorids. V: Tomas, C. R. (ur.): Marine Phytoplankton. A Guide to Naked Flagellates and Coccolithophorids. Academic Press, Inc., San Diego, s. 147-249.

Schiller, J. 1930. Coccolithinae. Rabenhorst's Kryptogamen Flora. Akad. Verlag., Leipzig, 10(2): 89-267.

Druge skupine:

Gemeinhardt, K. 1930. Silicoflagellatae. Rabenhorst's Kryptogamen Flora. Akad. Verlag., Leipzig, 10: 1-88.

Larsen, J., Ø. Moestrup. 1989. Guide to Toxic and Potentially Toxic Marine Algae. The Fish Inspection Services, Ministry of Fisheries, Copenhagen, 61 str.

Throndsen, J. 1993. The Planktonic Marine Flagellates. V: Tomas, C. R. (ur.): Marine Phytoplankton. A Guide to Naked Flagellates and Coccolithophorids. Academic Press, Inc., San Diego, s. 7-145.

2.4 Merjenje klorofila *a* in razgradnih produktov v fitoplanktonu

Za opredelitev biomase fitoplanktona se uporabi analitsko metodo določevanja koncentracije Chl *a*, ki ga vsebujejo vsi fotoavtotrofni organizmi, vključno s fitoplanktonom. Koncentracijo Chl *a* in njegovih razgradnih produktov – feopigmentov se določi z uporabo fluorimetrične metode (Holm-Hansen in sod., 1965).

Priprava vzorcev

Iz vzorca (500 mL), ki se ga previdno večkrat premeša, se odmeri v plastični merilni valj željen volumen morske vode (po navadi 400 mL) in filtrira skozi GF/F filter iz steklenih vlaken (nominalna velikost por 0,7 μ m) pri nizkem vakuumu. Filter in filtracijski nastavek se nato spere z majhno količino Mili-Q vode. Filter se osuši, prepogne in zavije v alu folijo, označi ime vzorca (postaja, globina), datum vzorčenja in volumen prefiltrirane vode ter shrani do nadaljnje ekstrakcije v zamrzovalniku (-18 °C).

Potek ekstrakcije in meritev klorofila a

Ekstrakcija Chl *a* poteka v nepolarnem topilu - 90% raztopini acetona (9 delov acetona in 1 del destilirane vode), ki ga hranimo v hladilniku. Med samo ekstrakcijo hranimo delovno raztopino acetona v posodi z zdrobljenim ledom, da se med homogenizacijo filter ne bi preveč segrel, saj povišana temperatura vpliva na fluorescenco.

Filter s fitoplanktonskimi celicami se homogenizira s pomočjo tkivnega homogenizatorja v epruveti za homogeniziranje, v katero se nalije pribl. 3 mL 90% acetona. Homogenizacija filtra poteka pribl. 1 min pri hitrosti 30 rpm, tako da je filter v celoti razbit na majhne koščke. Nato se homogenizat prelije v plastično centrifugirko, dobro spere epruveto in dopolni z acetonom v skupnem volumnu 10 mL. Ekstrakcija Chl *a* poteka najmanj 2 uri v temi, ne sme pa preseči 24 ur. Po končani ekstrakciji, se v acetonu raztopljeno barvilo centrifugira 10 min pri 5000 rpm (tik pred centrifugiranjem večkrat pretresti vsebino centrifugirke). Fluorimeter se vključi okoli 20 min pred začetkom izvajanja meritev in se ga umeri na fluorescenco čistega topila. Po centrifugiranju se supernatant pazljivo prelije v steklene kivete z zamaškom in izmeri fluorescenco pred zakisanjem (Fb). Fluorescenco se ponovno izmeri še po zakisanju supernatanta z dodatkom 60 μ L 0,1 M HCl. Z zakisanjem molekule Chl *a* razpadejo, novo nastale razgradne spojine – feopigmenti pa fluorescirajo pri isti valovni dolžini kot Chl *a*. Za ponovno branje fluorescence zakisanega ekstrakta (Fa) se počaka 90 s in vsebino kivete dobro premeša.

Končno koncentracijo Chl *a* in feopigmentov izračunamo z upoštevanjem vrednosti fluorescence pred (Fb) in po zakisanju (Fa), volumna prefiltriranega vzorca (mL), volumna ekstrakta (mL) ter faktorja zadnje kalibracije inštrumenta. Nekateri modeli fluorimetrov (npr. Turner Trilogy) že sami podajo končni rezultat v izbrani enoti (npr. μ g/L), potem ko vnesemo potrebne parametre enačbe.

Inštrument se kalibrira (enkrat letno oz. ob znatni spremembi pogojev izvajanja meritev) z uporabo čistega Chl *a* – standarda (SIGMA Chlorophyll *a* from spinach) znane koncentracije.

3 VREDNOTENJE EKOLOŠKEGA STANJA OBALNEGA MORJA NA PODLAGI FITOPLANKTONA

Vrednotenje ekološkega stanja v skladu z Vodno direktivo (Direktiva 2000/60/EC) predstavlja ugotavljanje spremenjenosti strukture in funkcije ekosistema v primerjavi z naravnimi – referenčnimi razmerami. Glede na ekološko kakovost se razvrsti ekosistem oz. vodno telo v enega od 5 razredov kakovosti ekološkega stanja (preglednica 1).

Preglednica 1: Razredi kakovosti ekološkega stanja

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

Fitoplankton je biološki element, ki se neposredno odziva na bogatitev vodnega telesa s hranilnimi snovmi. Posledice eutrofikacije pri fitoplanktonu so porast biomase, spremembe sestave fitoplanktonske združbe in pogostejša cvetenja, ki so lahko tudi škodljiva. V Vodni direktivi je predvideno, da se za vrednotenje ekološkega stanja s fitoplanktonom uporabijo vsi omenjeni parametri. Vendar so sistemi vrednotenja z več različnimi parametri fitoplanktona še zmeraj v razvoju, v drugi fazi interkalibracije pa je bila v sredozemski interkalibracijski skupini za fitoplankton sprejeta uporaba metrike biomasa fitoplanktona - koncentracije klorofila *a* (Chl *a*).

Na podlagi fitoplanktona oziroma metrike biomasa fitoplanktona vrednotimo ekološko stanje obalnega morja po modulu trofičnost.

3.1 Vrednotenje ekološkega stanja obalnega morja na podlagi fitoplanktona - modul trofičnost

Značilnosti fitoplanktonske združbe v Tržaškem zalivu označujejo njena biomasa (koncentracija Chl *a*) ter številčnost (abundanca) in vrstna sestava, kar vključuje tudi spremljanje cvetenj posameznih vrst oz. skupin fitoplanktona. Zaenkrat se za vrednotenje ekološkega stanja na podlagi biološkega elementa fitoplankton uporabi le prva izmed teh značilnosti.

Metrika, ki se uporabi za oceno stanja po modulu trofičnost, je **biomasa fitoplanktona**.

Zaporedje korakov za pravilno vrednotenje ekološkega stanja na podlagi biološke metrike biomasa fitoplanktona:

- a) uvrstitev mesta vzorčenja v ekološki tip obalnega morja,
- b) izračun metrike za biomaso fitoplanktona,
- c) izračun in normalizacija REK-ov za fitoplankton,
- d) uvrstitev mesta vzorčenja v razred ekološkega stanja po modulu trofičnost in
- e) izračun vrednosti razmerja ekološke kakovosti po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona in uvrstitev vodnega telesa obalnega morja v razred ekološkega stanja po modulu trofičnost za izbrano obdobje.

3.1.1 UVRSTITEV MESTA VZORČENJA V EKOLOŠKI TIP OBALNEGA MORJA

Za biološki element fitoplankton velja, da ne sledi sprejeti tipologiji za Sredozemsko morje, kjer sta bila kot glavna kriterija za določitev tipov obalnega morja, izbrana globina in prevladujoči tip podlage. Ker sta oba kriterija nepomembna za določitev značilnosti obalne združbe fitoplanktona, smo izdelali le eno metodologijo za vsa vodna telesa za ocenjevanje ekološkega stanja na podlagi fitoplanktona. Celotno slovensko obalno morje je bilo s stališča fitoplanktona umeščeno le v en tip obalnega morja, ki ni pod neposrednim vplivom sladkovodnih obremenitev, vendar je njihov vpliv še vedno zaznaven (tip IIA Adriatic na nivoju sredozemske interkalibracijske skupine). To pomeni, da za oba sprejeta ekološka tipa slovenskega obalnega morja (OM M1 in OM M3) veljajo v primeru fitoplanktona enake referenčne razmere oz. enake referenčne vrednosti Chl *a* (0,15 µg/L).

3.1.2 IZRAČUN METRIKE BIOMASE FITOPLANKTONA: LETNA GEOMETRIČNA SREDINA KONCENTRACIJ Klorofila *a*

Za oceno ekološkega stanja se uporabi metrika biomasa fitoplanktona izražena kot letna geometrična sredina koncentracij klorofila *a* (µg/L).

K izboru metrike letne geometrične sredine koncentracij klorofila *a* (Chl *a*) izmed drugih možnih (npr. srednja vrednost, mediana, 90-ti centil oz. krajša ali daljša obdobja od enega leta), je največ prispevalo dejstvo, da se s povprečenjem koncentracij zmanjšajo sezonska nihanja, ki so v primeru slovenskega obalnega morja večja kot medletna. Zaradi log-normalne porazdelitve koncentracij Chl *a*, je najbolj upravičen pristop povprečenja geometrična sredina, ki je enaka aritmetični sredini logaritmiranih koncentracij. S povprečenjem na letni ravni pa se sezonska odstopanja zmanjšajo.

Izračun metrike – vstopni podatki:

- obdobje in frekvenca vzorčenja: celoletni cikel vzorčenja z 1-krat mesečno frekvenco
- vzorčevalna globina: 0 m
- izračun metrike biomase fitoplanktona kot letna geometrična sredina površinskih koncentracij Chl *a*. Slednja se izračuna po naslednji enačbi 2:

Enačba 2: Letna geometrična sredina površinskih koncentracij Chl *a*

$$G(Chl_a)_l = \left(\prod_{i=1}^n Chl_a \right)^{\frac{1}{n}} = \sqrt[n]{Chl_a_1 * Chl_a_2 * ... * Chl_a_n}$$

kjer je:

$G(Chl_a)_l$ – geometrična srednja vrednost mesečnih koncentracij Chl *a* v *l*-tem letu,

Chl_a_n – površinska koncentracija Chl *a* *n*-tega vzorca,

n – število vzorcev v enem letu.

3.1.3 NORMALIZACIJA IN TRANSFORMACIJA METRIKE BIOMASA FITOPLANKTONA

Metriko biomase fitoplanktona je treba normalizirati v vrednost REK po enačbi 3. Za normalizacijo se upošteva enotna referenčna vrednost klorofilne biomase za oba ekološka tipa obalnega morja.

Enačba 3: Izračun REK-a za biomaso fitoplanktona

$$REK_{izr_l} = \frac{Chl_a(RC)}{G(Chl_a)_l}$$

kjer je:

REK_{izr_l} – izračunan REK za biomaso fitoplanktona za *l*-to leto,

$Chl_a(RC)$ – koncentracija Chl *a* pri referenčnih razmerah (0,15 µg/L),

$G(Chl_a)_l$ – geometrična srednja vrednost mesečnih koncentracij Chl *a* v *l*-tem letu.

Ker so vrednosti Chl *a* podrejene logaritemski naravi metrike, tudi izračunani REK-i (razmerje med referenčno in dejansko vrednostjo Chl *a*) ne ustrezajo linearnim-ekvidistančnim vrednostim, kot jih določa Vodna direktiva. Zato je treba REK vrednosti transformirati z uporabo enačbe 4.

Enačba 4: Transformirana vrednost REK za biomaso fitoplanktona

$$Biomasa_fitopl_REK_i = 0,1976 * \ln(REK_izr_i) + 1,0412$$

kjer je:

Biomasa_fitopl_REK_i – transformirana vrednost REK za biomaso fitoplanktona za *i*-to leto,

REK_izr_i – izračunan REK za biomaso fitoplanktona za *i*-to leto.

3.1.4 UVRSTITEV MESTA VZORČENJA V RAZRED EKOLOŠKEGA STANJA PO MODULU TROFIČNOST

Transformirane REK vrednosti metrike biomasa fitoplanktona (Biomasa_fitopl_REK_i) se primerja z mejnimi vrednostmi v preglednici 2. S pomočjo le-te se mesto vzorčenja uvrsti v razred kakovosti ekološkega stanja.

V preglednici 2 so poleg mejnih vrednosti razmerja ekološke kakovosti biomase fitoplanktona podane tudi mejne vrednosti izražene kot koncentracija Chl *a*.

Preglednica 2: Razredi kakovosti ekološkega stanja po modulu trofičnost, pripadajoče mejne REK vrednosti in mejne vrednosti fitoplanktonske biomase za posamezen razred kakovosti

Biomasa_fitopl_REK - razpon	Razred kakovosti – ekološko stanje	Klorofil <i>a</i> (µg/L) - razpon
1	Referenčna vrednost	0,15
≥ 0,75	Zelo dobro	≤ 0,65
0,58 - 0,74	Dobro	0,66 - 1,57
0,41 – 0,57	Zmerno	1,58 - 3,79
0,22 – 0,40	Slabo	3,80 - 9,14
< 0,22	Zelo slabo	> 9,14

3.1.5 IZRAČUN VREDNOSTI RAZMERJA EKOLOŠKE KAKOVOSTI PO MODULU TROFIČNOST NA PODLAGI FITOPLANKTONA IN UVRSTITEV VODNEGA TELES A OBALNEGA MORJA V RAZRED EKOLOŠKEGA STANJA PO MODULU TROFIČNOST ZA IZBRANO OBDOBJE

Izračun vrednosti razmerja ekološke kakovosti po modulu trofičnost za vodno telo je enak izračunu $Biomasa_fitopl_REK_i$ (enačba 4), če je v vodnem telesu le eno mesto vzorčenja. V primeru, da ima vodno telo dve ali več mest vzorčenja, se izračuna letno geometrično sredino mesečnih vrednosti vseh mest vzorčenja skupaj po enačbi 2. Po normalizaciji in transformaciji se dobljeno vrednost $Biomasa_fitopl_REK$ primerja z mejnimi vrednostmi v preglednici 2 in uvrsti vodno telo v razred ekološkega stanja.

Vrednost razmerja ekološke kakovosti po modulu trofičnost na podlagi fitoplanktona za vodno telo obalnega morja za izbrano obdobje (npr. obdobje načrta upravljanja voda) se izračuna kot aritmetično povprečje letnih vrednosti $Biomasa_fitopl_REK_i$ (enačba 5).

Enačba 5: Izračun modula trofičnost na podlagi fitoplanktona za vodno telo za izbrano obdobje

$$OM_FPL_{Tro} = \frac{\sum_{l=1}^m Biomasa_fitopl_REK_l}{m}$$

kjer je:

OM_FPL_{Tro} – vrednost razmerja ekološke kakovosti po modulu trofičnost o -tega obdobja na podlagi fitoplanktona obalnega morja

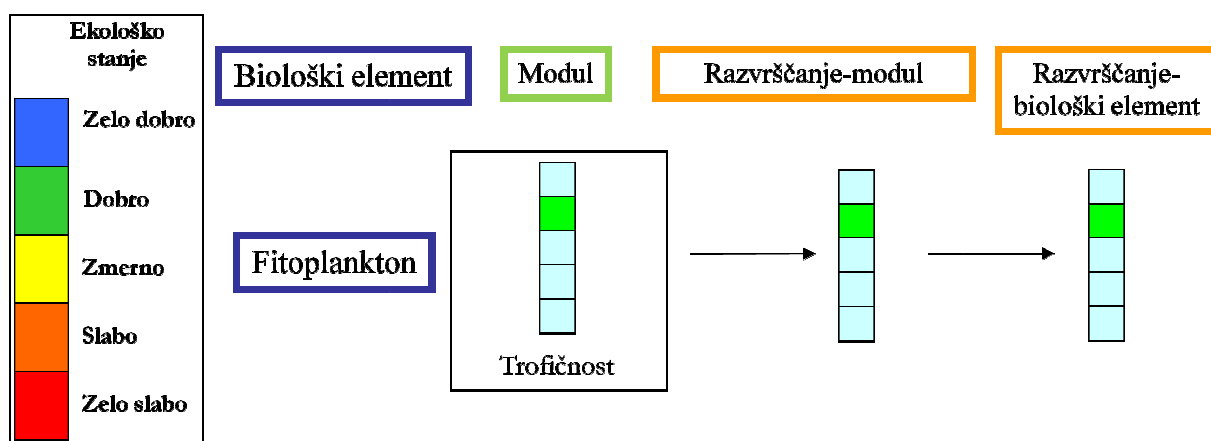
$Biomasa_fitopl_REK_i$ – transformirana vrednost REK za biomaso fitoplanktona i -tega leta,

m – število vzorčenih let.

Vodno telo se uvrsti v razred ekološkega stanja po modulu trofičnost tako, da se vrednost razmerja ekološke kakovosti po modulu trofičnost razvrsti v razred kakovosti (preglednica 2).

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

Vrednotenje ekološkega stanja in razvrščanje vodnih teles obalnega morja v razrede ekološkega stanja na podlagi fitoplanktona se izvede na podlagi modula trofičnosti (slika 2).



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

4 VIRI

- Direktiva 2000/60/ES evropskega parlamenta in sveta z dne 23. oktobra 2000. Bruselj, 72 str.
- Edler L. (1979). Recommendations on Methods for Marine Biological Studies in the Baltic Sea. Phytoplankton and Chlorophyll. The Baltic Marine Biologist Publ., No. 5, Gotub, Malmö, 32 str.
- Francé J., Bajt O., Mavrič B., Mozetič P., Orlando Bonaca M. (2013). Sodelovanje pri pripravi strokovnih podlag za dopolnitev uredbe o stanju površinskih voda za obalno morje. Zaključno poročilo. Poročila 150. Morska Biološka Postaja, Nacionalni Inštitut za Biologijo, Piran, 93 str.
- Holm-Hansen O., Lorenzen C. J., Holmes R. W., Strickland J. D. H. (1965). Fluorometric determination of chlorophyll. J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer., 30: 3-15.
- Sournia A. (ur.) (1978). Phytoplankton manual. Monographs on oceanographic methodology, 6. UNESCO, Paris, 337 str.
- Trilogy Laboratory Fluorometer User's Manual (2005). Version 1.0. August 31, 2005.
- Utermöhl H. (1958). Zur Vervollkommung der Quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mit. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol. 9: 1-38.
- Zingone A., Honsell G., Marino D., Montresor M., Socal G. (1990). Fitoplancton. V: Innamorati, M., Ferrari, I., Marino, D. in Ribera D'Alcalà, M (ur.): Metodi nell'ecologia del plancton marino. Nova Thalassia 11: 193-198.