

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Nina DEGENEK

**ŽIVO SREBRO V HRUSTANČNICAH IZ SEVERNEGA JADRANA**  
DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**MERCURY IN CARTILAGINOUS FISH FROM THE NORTHERN  
ADRIATIC**  
GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, december 2008

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija biologije na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Praktično delo sem opravila na Inštitutu Jožef Stefan na Odseku za znanost o okolju v Podgorici.

Študijska komisija Oddelka za biologijo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Lovrenca Lipeja, za somentorico pa prof. dr. Mileno Horvat.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Kristina Sepčić  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biokemijo

Mentor: prof. dr. Lovrenc Lipej  
Nacionalni institut za biologijo, Morska biološka postaja Piran

Somentor: prof. dr. Milena Horvat  
Institut Jožef Stefan, Odsek za znanost o okolju

Recenzent: prof. dr. Tom Turk  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biokemijo

Datum zagovora: 22.12.2008

Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Nina Degenek

## **KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMATIKA (KDI)**

ŠD Dn  
DK 591.5:546.49:597.3(043.2)=163.6  
KG živo srebro/ metil živo srebro/ bioakumulacija/ biomagnifikacija/ hrustančnice/ navadni morski golob/ kljunati morski golob/ navadni morski bič/ vijoličasti morski bič/ atomska absorpcijska spektrometrija hladnih par (CV-AAS)/ plinska kromatografija za zajetje elektronov (GC-ECD)  
AV DEGENEK, Nina  
SA LIPEJ, Lovrenc (mentor)/ HORVAT, Milena (somentorica)  
KZ SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo  
LI 2008  
IN ŽIVO SREBRO V HRUSTANČNICAH IZ SEVERNEGA JADRANA  
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)  
OP XIV, 123 str., 30 tab., 37 sl., 1 pril., 123 vir.  
IJ sl  
JI sl/en  
AI Bioakumulacija metil živega srebra (MMHg) lahko vodi do visokih vsebnosti živega srebra v ribah, s katerimi se prehranjujejo živali in ljudje. Kljub vsemu je trofična obogatitev z živim srebrom v obalnem okolju še slabo raziskana. Merili smo Hg in MMHg vsebnosti v škrgah, jetrih in mišicah pri štirih vrstah hrustančnic: navadnemu morskemu golobu, kljunatemu morskemu golobu, vijoličastemu morskemu biču in navadnemu morskemu biču iz Tržaškega zaliva. Opazili smo pozitivne statistično značilne korelacije Hg in MMHg z dolžino in težo. Najvišjo akumulacijo MMHg smo opazili v mišicah. Hg and MMHg smo izmerili tudi pri dveh zarodkih kljunatega morskega goloba, kar kaže na prenos Hg iz matere med brejestjo. Pri kljunatem morskem golobu je bilo počasno naraščanje MMHg v jetrih neodvisno od naraščanja Hg. Opazili smo negativne statistično značilne korelacije med Hg in % MeHg v jetrih. Prisotna je bila tudi razlika v Hg in MMHg med spoloma. Najvišje vsebnosti Hg in MMHg v vseh organih smo izmerili pri vijoličastemu morskemu biču, ki se je v severnem Jadranu prvič pojavil leta 1999. To morda priča o tem, da ta vrsta ni prilagojena na okolje z visokimi vsebnostmi Hg. Hg in MMHg smo izmerili tudi v čokatem voleku, ki je pretežno plen navadnega in kljunatega morskega goloba, in v inčunu ter rdečem mečaku, ki ju pleni vijoličasti morski bič.

### KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)

ND Dn  
DC 591.5:546.49:597.3(043.2)=163.6  
CX mercury/ methyl mercury/ bioaccumulation/ biomagnification/ cartilaginous fish/  
common eagle ray/ bull ray/ common sting ray/ pelagic stingray/ cold vapour  
atomic absorption spectrometry (CV-AAS)/ gas chromatography on electron captor  
detector (GC-ECD)  
AU DEGENEK, Nina  
AA LIPEJ, Lovrenc (supervisor)/ HORVAT, Milena (co-advisor)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Biology  
PY 2008  
TI MERCURY IN CARTILAGINOUS FISH FROM THE NORTHERN ADRIATIC  
DT Graduation Thesis (University studies)  
NO XIV, 123 p., 30 tab., 37 fig., 1 ann., 123 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB Bioaccumulation of methylmercury (MMHg) in marine food webs can lead to high  
mercury contents in fishes which are consumed by wildlife and humans. However, the trophic  
enrichment of mercury in coastal environments remains poorly understood. We studied the Hg and  
MMHg contents in gills, liver and muscle of four cartilaginous species, namely eagle ray, bull ray,  
pelagic stingray and common stingray, collected in the Gulf of Trieste, one of the most Hg polluted  
area in the Mediterranean. Hg and MMHg contents were correlated positively with species length  
and weight. The highest MMHg accumulation was detected in muscles. Hg and MMHg were also  
found in two embryos of the bull ray indicating the Hg transfer throughout mother during  
pregnancy. In bull ray, the slower MMHg increase in liver was independent of Hg content.  
Negative correlations were found between Hg and % MeHg in liver. The differences in Hg and  
MMHg contents between sexes were also encountered. The highest Hg and MMHg contents in all  
organs were detected in pelagic stingray which first appeared in the northern Adriatic in 1999  
suggesting that this species is not adapted to high Hg environment. In parallel, Hg and MMHg  
contents were determined in banded murex, the preferred prey for eagle ray and bull ray, and  
anchovy and red bandfish, which are preyed by pelagic stingray.

## KAZALO VSEBINE

|   |      |
|---|------|
| Ključna dokumentacijska informatika                                 | III  |
| Key words documentation   | IV   |
| Kazalo vsebine  | V    |
| Kazalo tabel  | VIII |
| Kazalo slik   | X    |
| Kazalo prilog   | XIII |
| Razlaga simbolov in okrajšav  | XIV  |
| <br>  |      |
| <b>1      UVOD</b>  | 1    |
| <b>1.1    Živo srebro</b>   | 1    |
| 1.1.1 <u>Naravni izvori Hg v okolju</u>                             | 2    |
| 1.1.2 <u>Antropogeni izvori Hg v okolju</u>                         | 3    |
| <b>1.2    Fizikalne in kemijske lastnosti posameznih oblik Hg</b>   | 4    |
| 1.2.1 <u>Elementno živo srebro (<math>Hg^0</math>)</u>              | 4    |
| 1.2.2 <u>Anorganski ioni Hg</u>                                     | 5    |
| 1.2.3 <u>Monometil živo srebro (MMHg oz. <math>CH_3Hg^+</math>)</u> | 5    |
| <b>1.3    Živo srebro v okolju</b>                                  | 5    |
| 1.3.1 <u>Globalno kroženje</u>                                      | 5    |
| 1.3.2 <u>Biogeokemijsko kroženje</u>                                | 6    |
| 1.3.3 <u>Transformacije in transport Hg</u>                         | 8    |
| 1.3.4 <u>Bioakumulacija in biomagnifikacija</u>                     | 9    |
| <b>1.4    Hg v morskem okolju</b>                                   | 10   |
| 1.4.1 <u>Hg v Tržaškem zalivu</u>                                   | 11   |
| 1.4.2 <u>Hg v morskem biotskem svetu</u>                            | 14   |
| 1.4.2.1 Negativni vplivi Hg na ribe                                 | 15   |
| <b>1.5    Toksičnost Hg za človeka</b>                              | 16   |
| <br>  |      |
| <b>2      OPIS OBRAVNAVANEGA OBMOČJA IN RAZISKOVANIH RIB</b>        | 19   |
| <b>2.1    Raziskovane vrste rib</b>                                 | 19   |
| 2.2.1 <u>Sistematska uvrstitev preiskovanih živali</u>              | 19   |

|         |  |    |
|---------|--|----|
| 2.2.2   | <u>Opis posameznih vrst</u>  | 20 |
| 2.2.2.1 | Navadni morski golob ( <i>Myliobatis aquila</i> )                              | 20 |
| 2.2.2.2 | Kljunati morski golob ( <i>Pteromylaeus bovinus</i> )                          | 21 |
| 2.2.2.3 | Vijoličasti morski bič ( <i>Dasyatis violacea</i> )                            | 22 |
| 2.2.2.4 | Navadni morski bič ( <i>Dasyatis pastinaca</i> )                               | 23 |
| 2.2.3   | <u>Razmnoževanje morskih bičev in morskih golobov</u>                          | 23 |
| 2.2.4   | <u>Opis plena</u>  | 26 |
| 3       | <b>MATERIALI IN METODE DELA</b>  | 27 |
| 3.1     | <b>Vzorčevanje</b>   | 27 |
| 3.2     | <b>Priprava vzorcev za obdelavo</b>  | 28 |
| 3.3     | <b>Določanje celokupnega Hg v vzorcih rib in drugih morskih organizmov</b>     | 29 |
| 3.3.1   | <u>Kemikalije, materiali in aparature, ki so potrebni pri določevanju THg</u>  | 29 |
| 3.3.2   | <u>Postopek merjenja celokupnega Hg</u>  | 30 |
| 3.3.3   | <u>Princip merjenja THg v posameznih vzorcih</u>                               | 31 |
| 3.4     | <b>Določanje MMHg v vzorcih rib in drugih morskih organizmov</b>               | 33 |
| 3.4.1   | <u>Kemikalije, materiali in aparature, ki so potrebni pri določevanju MMHg</u> | 33 |
| 3.4.2   | <u>Postopek za določevanje MMHg v vzorcih</u>                                  | 35 |
| 3.4.3   | <u>Princip merjenja z GC-ECD</u>   | 39 |
| 3.4.4   | <u>Kontrola kakovosti analiz</u>   | 40 |
| 3.4.5   | <u>Statistična obdelava podatkov</u>   | 41 |
| 4       | <b>REZULTATI</b>   | 43 |
| 4.1     | <b>Biometrija</b>  | 43 |
| 4.1.1   | <u>Navadni morski golob</u>  | 43 |
| 4.1.2   | <u>Kljunati morski golob</u>   | 45 |
| 4.1.3   | <u>Vijoličasti morski bič</u>  | 47 |
| 4.1.4   | <u>Navadni morski bič</u>  | 49 |
| 4.2     | <b>Vsebnosti THg in MMHg</b>   | 50 |
| 4.2.1   | <u>Navadni morski golob</u>  | 50 |
| 4.2.2   | <u>Kljunati morski golob</u>   | 54 |
| 4.2.3   | <u>Vijoličasti morski bič</u>  | 65 |

|       |  |     |
|-------|--|-----|
| 4.2.4 | <u>Navadni morski bič</u>                                    | 69  |
| 4.3   | <b>Deleži MMHg pri posameznih vrstah</b>                     | 71  |
| 4.4   | <b>Rezultati THg in MMHg v plenu</b>                         | 75  |
| <br>  |  |     |
| 5     | <b>RAZPRAVA</b>  | 76  |
| 5.1   | <b>Primernost uporabljene metodike</b>                       | 76  |
| 5.2   | <b>Primerjava z drugimi metodikami</b>                       | 76  |
| 5.3   | <b>Razprava o posameznih vrstah</b>                          | 77  |
| 5.4   | <b>Primerjava med vrstami</b>                                | 87  |
| 5.5   | <b>Bioakumulacija Hg v prehranjevalni verigi</b>             | 96  |
| 5.6   | <b>Primerjava z drugimi območji</b>                          | 101 |
| 5.7   | <b>Implikacije s prehranjevalno verigo v Tržaškem zalivu</b> | 102 |
| 5.8   | <b>Predlogi za nadaljnjo raziskavo te tematike</b>           | 104 |
| <br>  |  |     |
| 6     | <b>POVZETEK</b>  | 105 |
| <br>  |  |     |
| 7     | <b>VIRI</b>  | 108 |
| <br>  |  |     |
|       | <b>ZAHVALA</b>   |     |
| <br>  |  |     |
|       | <b>PRILOGE</b>   |     |

## KAZALO TABEL

- Tabela 1: Koncentracije THg in MMHg v morski vodi v Tržaškem zalivu (povzeto po Horvat in sod., 1999 in Faganeli in sod., 2003)
- Tabela 2: Koncentracije THg in MMHg v površinskemu delu sedimenta v Tržaškem zalivu (povzeto po Hines in sod., 2006)
- Tabela 3: Oblike Hg - viri, absorpcija, porazdelitev in izločanje Hg
- Tabela 4: Ostanki plena iz želodcev devetih primerkov vijoličastega morskega biča (*Dasyatis violacea*). Povzeto po Mavrič in sod. (2004)
- Tabela 5: Biometrični podatki o navadnem morskem golobu (*Myliobatis aquila*)
- Tabela 6: Biometrični podatki o kljunatem morskem golobu (*Pteromylaeus bovinus*), samice
- Tabela 7: Biometrični podatki o kljunatemu morskemu golobu (*Pteromylaeus bovinus*), samci
- Tabela 8: Biometrični podatki o vijoličastem morskem biču (*Dasyatis violacea*)
- Tabela 9: Biometrični podatki o navadnem morskem biču (*Dasyatis pastinaca*)
- Tabela 10: Uporabljeni certificirani referenčni materiali (CRM), njihova certificirana vrednost in proizvajalec
- Tabela 11: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih navadnih morskih golobov (*Myliobatis aquila*)
- Tabela 12a: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih kljunatih morskih golobov (*Pteromylaeus bovinus*), samice
- Tabela 12b: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih kljunatih morskih golobov (*Pteromylaeus bovinus*), samci
- Tabela 12c: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih kljunatih morskih golobov (*Pteromylaeus bovinus*), zarodka
- Tabela 13: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih vijoličastih morskih bičev (*Dasyatis violacea*)

- Tabela 14: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih navadnega morskega biča (*Dasyatis pastinaca*)
- Tabela 15: Rezultati deležev MMHg v posameznih vzorcih navadnega morskega goloba
- Tabela 16a: Rezultati deležev MMHg v posameznih tkivih kljunatega morskega biča
- Tabela 16b: Rezultati deležev MMHg v posameznih tkivih kljunatega morskega biča (zarodka)
- Tabela 17: Rezultati deležev MMHg v posameznih tkivih vijoličastega morskega biča
- Tabela 18: Povprečne vrednosti, standardna deviacija in območje vrednosti v treh različnih tkivih pri štirih različnih vrstah hrustančnic
- Tabela 19: Podatki o koncentracijah THg (mg/kg mt), MeHg (mg/kg mt) in deležu MMHg pri nekaterih vrstah, s katerimi se prehranjujejo navadni morski golob, kljunati morski golob in vijoličasti morski bič
- Tabela 20: Primerjava THg in MMHg v mišicah pri navadnem morskem golobu iz dveh različnih lokacij
- Tabela 21: Korelacijski koeficienti za navadnega morskega goloba (n=5)
- Tabela 22: Rezultati T-testa ( $\alpha = 0,05$ )  $H_0 = [\text{THg}]$   
 $([\text{MMHg}])_{\text{samice}} = [\text{THg}]([\text{MMHg}])_{\text{samci}}$  (THg in MMHg so podani v mg/kg st)
- Tabela 23: Korelacijski koeficienti za kljunatega morskega goloba (n=15)
- Tabela 24: Korelacijski koeficienti za vijoličastega morskega biča (n=8)
- Tabela 25: Delež MMHg (%) v posameznih delih prehranjevalne verige (pri bentoških nevretenčarjih sem upoštevala le voleka brez hišice)
- Tabela 26: BKF<sub>THg</sub> in BKF<sub>MMHg</sub> na posameznih trofičnih nivojih
- Tabela 27: Podatki THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v mišičnem tkivu pri nekaterih vrstah iz Tržaškega zaliva

## KAZALO SLIK

- Slika 1: Osnovne poti biogeokemijskega kroženja Hg
- Slika 2: Letna masna bilanca živega srebra v Tržaškem zalivu (Prirejeno po Rajar in sod., 2000)
- Slika 3: Navadni morski golob (*Myliobatis aquila*) (Foto: Doug Perrine)
- Slika 4: Kljunati morski golobi (Foto: Tihomir Makovec)
- Slika 5: Prikaz najdenih živali v želodcu vijoličastega morskega biča (Mavrič in sod., 2004)
- Slika 6: Prikaz širine diska (DW), dolžine diska (DL) in celotne dolžine (do konice repa) (TL). Na sliki je vijoličasti morski bič.
- Slika 7: Lokacija ulova vijoličastih morskih bičev (Lipej in sod., 2008)
- Slika 8: Shema sistema CVAAS (povzeto po Horvat in sod., 1991)
- Slika 9: Prikaz postopka analize MMHg s pomočjo enojne in dvojne ekstrakcije v tkivih rib
- Slika 10: Shema plinskega kromatografa, povezanega z detektorjem in izpisovalnikom
- Slika 11: Biometrija navadnih morskih golobov
- Slika 12: Biometrija kljunatih morskih golobov
- Slika 13: Biometrija vijoličastih morskih bičev
- Slika 14: Prikaz grafov, kjer so predstavljene koncentracije THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v posameznih tkivih navadnega morskega goloba (n=5)
- Slika 15: Deleži MMHg v posameznih tkivih navadnega morskega goloba (n=5)
- Slika 16: Odnos med THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v škrghah, jetrih in mišicah pri navadnem morskem golobu. (n=5)
- Slika 17: Prikaz grafov s koncentracijami THg (mg/kg st.) in MMHg (mg/kg st) v posameznih tkivih kljunatega morskega goloba (n=17)
- Slika 18: Deleži MMHg v posameznih tkivih kljunatega morskega goloba pri samicah, samcih in dveh zarodkih
- Slika 19: Odnos med THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v škrghah, jetrih in mišicah pri kljunatem morskem golobu (n=15 za škrge in n=16 za jetra in škrge)

- Slika 20: Grafi THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v škrgah, jetrih in mišicah glede na širino diska (mm) pri kljunatem morskem golobu
- Slika 21: Grafi THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v škrgah, jetrih in mišicah glede na dolžino diska (mm) pri kljunatem morskem golobu
- Slika 22: Grafi THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v škrgah, jetrih in mišicah glede na celotno dolžino (mm) pri kljunatem morskem golobu
- Slika 23: Grafi THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v škrgah, jetrih in mišicah glede na težo (kg) pri kljunatem morskem golobu
- Slika 24: Prikaz grafov s koncentracijami THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v posameznih tkivih vijoličastega morskega biča (n=8)
- Slika 25: Deleži MMHg v posameznih tkivih vijoličastega morskega biča (n=8)
- Slika 26: Odnos med THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v škrgah, jetrih in mišicah pri vijoličastem morskem biču (n=8)
- Slika 27: Prikaz THg in MMHg v jetrih glede na širino diska (mm)
- Slika 28: Prikaz padanja deleža MMHg (%) v jetrih z naraščanjem THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) pri kljunatem morskem golobu
- Slika 29: Grafi na sliki prikazujejo spreminjanje deleža MMHg v jetrih glede na THg in MMHg v škrgah, THg in MMHg v mišicah in DW, DL ter TL
- Slika 30: Biometrična porazdelitev osebkov posameznih vrst glede na širino in dolžino diska ter težo živali; na grafu so prikazani povprečna vrednost, mediana, interkvartilni razmik in razpon vrednosti za posamezno vrsto
- Slika 31: Primerjava THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v mišicah kljunatega morskega goloba, navadnega morskega goloba in vijoličastega morskega biča; na grafu so prikazani povprečna vrednost, mediana, interkvartilni razmik in razpon vrednosti za posamezno vrsto
- Slika 32: Primerjava THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v škrgah kljunatega morskega goloba, navadnega morskega goloba in vijoličastega morskega biča; na grafu so prikazani povprečna vrednost, mediana, interkvartilni razmik in razpon vrednosti za posamezno vrsto
- Slika 33: Primerjava THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v jetrih kljunatega morskega goloba, navadnega morskega goloba in vijoličastega morskega

biča; na grafu so prikazani povprečna vrednost, mediana, interkvartilni razmik in razpon vrednosti za posamezno vrsto

Slika 34: Poenostavljen prikaz prenosa Hg od morske vode do končnega člena v prehranjevalni verigi

Slika 35: Prikaz naraščanja deleža MMHg v mišicah po prehranjevalni verigi navzgor  
(Legenda: 1 – morska voda, 2 – plankton, 3 – bentoški nevretenčarji, 4 – manjše bentoške ribe, 5 – manjše pelaške ribe, 6 – večje bentoške ribe, 7 – večje pelaške ribe)

Slika 36: Prikaz biokoncentracijskih faktorjev (BKF) za THg na posameznih trofičnih nivojih

Slika 37: Prikaz naraščanja BKF<sub>MMHg</sub> po posameznih trofičnih nivojih;  $C_b = [Hg]$  v živem svetu,  $C_w = [Hg]$  v morski vodi

## KAZALO PRILOG

Priloga 1: Koeficienti za izračun vsebnosti v 1 gramu mokre teže v posameznem vzorcu

## RAZLAGA SIMBOLOV IN OKRAJŠAV

|               |   |
|---------------|---|
| <b>Hg</b>     | element živo srebro   |
| <b>THg</b>    | celokupno (total) živo srebro   |
| <b>MMHg</b>   | mono metil živo srebro oz. krajše metil živo srebro. Sinonimi za MeHg so še metilživosrebrov ion, metilživosrebrov ion (1+), metil živo srebro (1+), metil živo srebro (1+), metilživosrebrov kation (Prager, 1997) |
| <b>DMHg</b>   | organska oblika živega srebra; dimetil živo srebro  |
| <b>RHg</b>    | reaktivno živo srebro ( $\text{Hg}^{2+}$ )  |
| <b>RGM</b>    | reaktivno plinsko živo srebro   |
| <b>DGM</b>    | raztopljeno plinsko živo srebro ( $\text{Hg}^0$ )   |
| <b>PHg</b>    | particulate-bound Hg; Hg vezan na delce   |
| <b>WHO</b>    | Svetovna zdravstvena organizacija (World Health Organization)   |
| <b>EPA</b>    | Ameriška agencija za varovanje okolja (US Environmental Protection Agency)  |
| <b>CV-AAS</b> | atomska absorpcijska spektrometrija hladnih par (Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry)  |
| <b>GC-ECD</b> | plinski kromatograf z detektorjem za zajetje elektronov   |
| <b>Se</b>     | selen   |
| <b>TZ</b>     | Tržaški zaliv   |
| <b>ATSDR</b>  | Agency for Toxic Substances and Disease Registry  |
| <b>BKF</b>    | Biokoncentracijski faktor   |

## 1. UVOD

Živo srebro (Hg) je predmet obsežnih raziskav, ker se predvsem strupeno (deluje nevrotoksično) metil živo srebro (MMHg), ki nastaja pretežno z mikrobnou metilacijo, akumulira in biomagnificira po prehranjevalni verigi v vseh vodnih ekosistemih in posledično v človeku. Vnos v človeka poteka skoraj izključno z uživanjem kontaminiranih morskih organizmov. Podobno je v Tržaškem zalivu, kamor se že približno petsto let izlivajo z živim srebrom kontaminirane vode reke Soče zaradi rudarjenja v Idrijskem bazenu (Horvat in sod., 1999). Poznavanje vsebnosti, transporta in dinamike MMHg v morskem ekosistemu je potrebno za določanje vpliva na užitne morske organizme in navsezadnje na človeka. V tem kontekstu so za raziskave primerne tiste dolgo živeče vrste rib na vrhu prehranjevalne verige, ki živijo na širšem območju. Vsebnost Hg v njihovem tkivu in organih je posledica povprečne dolgoročne kontaminacije morskega bazena. Še posebej so v tem oziru pomembni plenilci. Zato smo za potrebe te naloge izbrali štiri plenilce med hrustančnicami, in sicer navadnega morskega goloba (*Myliobatis aquila*), kljunatega morskega goloba (*Pteromylaeus bovinus*), vijoličastega morskega biča (*Dasyatis violacea*) in navadnega morskega biča (*Dasyatis pastinaca*). Izmerili smo tudi THg in MMHg v treh primerkih njihovega plena.

### 1.1 Živo srebro

Živo srebro (Hg) je uporaben element, ki prevaja električni tok in se enostavno veže z drugimi kovinami, s katerimi tvori zlitino, ki ji pravimo amalgam. Snovi, ki vsebujejo Hg, se lahko uporabljam v različne namene, saj delujejo kot učinkoviti pesticidi, fungicidi in preservativi (ATSDR, 1999). Hg vključujemo med globalne polutante. Zaradi strupenosti za človeka in organizme je uporaba Hg omejena v večini držav po svetu.

Hg je edina kovina, ki je pri sobni temperaturi (25 °C) v tekočem stanju in ima poleg tega še najnižjo znano kritično temperaturo (1478 °C) (Hensel & Warren, 1999).

Od ostalih kovin se razlikuje v več pogledih:

- je edina kovina, ki je pri sobni temperaturi v tekočem stanju,
- je edina kovina, ki ima vrelische pod 650 °C,
- ima višji ionizacijski potencial kot katerikoli elektropozitiven element, z izjemo vodika, in je kemično precej inertna kovina,
- obstaja pri oksidacijskemu stanju 0 ( $Hg^0$ ), oksidacijskemu stanju 1+ ( $Hg_2^{2+}$ ) za razliko od pričakovanega stanja 2+ ( $Hg^{2+}$ ).

Razlikujemo naravne in antropogene izvore Hg v okolju.

#### 1.1.1 Naravni izvori Hg v okolju so:

- izhlapevanje s površine Zemlje ob preperevanju kamnin na kopnem in iz oceanov; to je največji naravni vir Hg v atmosfero. Hg predstavlja naravno komponento zemeljske skorje in je prisoten v atmosferi, litosferi ter oceanih. V teh komponentah okolja so Hg in njegove spojine prisotne v nizkih koncentracijskih nivojih.
- cinabaritna območja; prevladujoča oblika geokemijskih zalog Hg v rudnih mineralih zemeljske skorje je živosrebrov sulfid oziroma cinabarit ( $HgS$ ), ki je primarno magmatskega izvora in se pojavlja v obliki drobnozrnatih škrlatnordečih mineralov. Mnoge študije so enotne v ugotovitvah, da je v Sredozemlju več kot 2/3 svetovnih zalog Hg, čeprav območje zavzema le 1% celotne svetovne površine (Bargagli in sod., 1985, UNEP/FAO/WHO, 1987). Glavna nahajališča Hg rude v mediteransko-črnomorskem bazenu so: Almaden (Španija), Idrija (Slovenija), Mt. Amiata (Italija) in Nikitovka (Rusija).
- vulkanske emisije, ki pomembno prispevajo k naravnim množinam Hg v atmosferi in so velike predvsem na stičiščih kontinentalnih geoloških plošč, kjer je aktivnost ognjenikov stalna.

### 1.1.2 Antrupogeni izvori Hg v okolju so (UNEP, 2002):

- rudarstvo in predelava živosrebrove rude,
- uporaba Hg pri pridobivanju zlata in srebra,
- uporaba v industriji in produktih,
- izgorevanje fosilnih goriv in druge visokotemperaturne tehnologije (cementarne, sežigalnice).

V Srednji Ameriki (Haiti, Francoska Gvajana) so nedavno odkrili, da se Hg tam uporablja v religiozne namene. Hg naj bi izganjalo duhove, zato ljudje  $Hg^0$  razpršujejo v bivalnih prostorih in celo otroških sobah. Mnoge ženske ga uporabljajo tudi kot nekakšen spolni atraktant. Z njim se škropijo po telesu in ga vtirajo v kožo (Wendroff, 1995). Takšno početje je velik problem, ki sicer pomembno ne doprinaša k globalnim emisijam, a je izredno nevarno za ljudi. To je znano tudi v ZDA in Indiji.

Hg se uporablja v zdravstvu (cepiva) in homeopatiji. Včasih so ga uporabljali za zdravljenje sifilisa.

Skrb za onesnaženje s Hg v morskem okolju se je začela z znanim primerom Minamate na Japonskem, kjer se je v 50-ih letih 19. stoletja zastrupilo veliko ljudi. Številni med njimi so tudi umrli po zaužitju rib in drugih morskih sadežev (školjke, rakci), ki so vsebovali visoke koncentracije metil živega srebra (MMHg). Drugi primer zastrupitve z MMHg se je zgodil v Iranu, kjer so se ljudje zastrupili z žitom, ki je bil tretiran z organoživosrebrovimi fungicidi.

Hg je element, ki v naravnem okolju obstaja v treh oksidacijskih stanjih:

- **Hg<sup>0</sup> (g)** je samorodno živo srebro, ki je v obliki tekoče hlapne kovine z visokim parnim tlakom in slabo topnostjo v vodi.
- **Hg<sup>1+</sup>** (kalomel) je enovalentno živo srebro ali Hg(I), ki htro oksidira v Hg<sup>2+</sup>.

- **Hg<sup>2+</sup>** je dvovalentno živo srebro ali Hg(II) z veliko afiniteto do tvorbe vezi z mnogimi anorganskimi in organskimi ligandi, posebno s tistimi, ki vsebujejo žveplo (S).

Je eden izmed najbolj nevarnih onesnaževalcev okolja predvsem zaradi svoje toksičnosti in akumulacije v vodnih organizmih. Relativna toksičnost Hg je odvisna od njegove kemijske oblike. Metil živo srebro (MMHg) je najbolj toksična oblika.

V okolju obstaja v različnih fizikalnih in kemijskih oblikah. Zmožnost pretvorb iz ene oblike v drugo pogojuje osnovo za distribucijo živosrebrovih kompleksov v lokalnih in globalnih ciklih in njihov pomen v živem svetu.

Najbolj pomembne kemijske oblike v okolju so:

- **elementno živo srebro (Hg<sup>0</sup>)**,
- **dvovalentno anorgansko živo srebro (Hg<sup>2+</sup>) ali Hg (II)** (v vodnem okolju ga določamo kot reaktivno Hg (RHg)),
- **metil živosrebrov kation (CH<sub>3</sub>Hg<sup>+</sup>) (MMHg)**, ki ima veliko afiniteto do vezave na različne biotsko aktivne makromolekule, kar povzroča kopiranje MMHg v organizmih,
- **dimetil živo srebro ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Hg) (DMHg)** je hlapna in inertna živosrebrova spojina, ki pod vplivom UV žarkov hitro razpade (glej stran 5).

## 1.2. Fizikalne in kemijske lastnosti posameznih oblik Hg

### 1.2.1 Elementno živo srebro ( Hg<sup>0</sup> )

V atmosferi je prisotno v obliki živosrebrove pare, ki je pri sobni temperaturi v tekočem agregatnem stanju. Ima relativno velik pritisk in je slabo topen v vodi. Je lipofilen, kar pomeni, da se topi v maščobah. Para ostaja v monoatomarni obliki.

### 1.2.2 Anorganski ioni Hg

Mnoge soli  $Hg^{2+}$  so topne v vodi so zaradi tega zelo toksične. Topnost  $HgS$  v vodi je nizka. Temu primerno je manjša tudi toksičnost  $HgS$ .

### 1.2.3 Monometil živo srebro (MMHg oz. $CH_3Hg^+$ )

Metil živo srebro se najpogosteje pojavlja v obliki  $CH_3Hg^+Cl^-$ , ki je pri sobni temperaturi ( $25^\circ$ ) v obliki belega kristala. Kot prosti ion  $CH_3Hg^+$  obstaja v naravi le v zelo majhnih količinah (Prager, 1997), zato govorimo pretežno o fizikalnih in kemijskih lastnostih pripadajočih kloridnih soli. MMHg se lahko vgraje v biološke sisteme; ravno tako lahko prehaja krvno-možgansko bariero (Weil in sod., 2005).

Tako MMHg kot DMHg sta hlapna. V osnovi velja, da je DMHg bolj hlapno od metil živosrebrovega kationa  $CH_3Hg^+$ , vendar pa se prvi kmalu po nastanku demetilira in razpade na ionsko obliko  $Hg^{2+}$  in dva metilna radikala. MMHg je kemijsko obstojna Hg skupina, v naravi pa ob prisotnosti bakterij zelo hitro razpade. Hlapnost MMHg se zmanjša ob vezavi na anione v okolju in ob vezavi na biotske ligande v organizmih.

Organske živosrebrove spojine na splošno prikažemo s formulo R-Hg-X, pri čemer je R organski radikal, ki je preko C-atoma s kovalentno vezjo vezan na Hg, X pa predstavlja nek anion (največkrat halogen), -OH ali -CN skupino. V tkivih organizmov se na R-Hg<sup>+</sup> na mesto aniona preko -S-S mostičkov vežejo različne kompleksne biotsko aktivne molekule.

## 1.3 Živo srebro v okolju

### 1.3.1 Globalno kroženje

Atmosfera je najpomembnejša transportna pot za Hg (Mason in sod., 1994). Le del zračnega Hg je vezan na delce v zraku (pHg), zelo majhen del pa je v obliki neobstojnih Me-Hg<sup>+</sup> ionov ali Me-Hg-Me. Za razliko od obeh kratkoživih oblik se elementarno  $Hg^0$  v zraku dolgo zadržuje. Njegova obstojnost v zraku je ocenjena od 0,4 do 2 let (Lindquist &

Rodhe, 1985), zato se lahko prenaša na velike razdalje. Zaradi tega ima lastnosti globalnega onesnaževalca. Emisije Hg so predvsem v obliki elementarnega Hg ( $Hg^0$ ), zato je tudi večina Hg v atmosferi v tej obliki.  $Hg^0$  je v atmosferi razmeroma nereaktivен. Poleg  $Hg^0$  so v atmosferi dokazali še prisotnost reaktivnega živega srebra in Hg vezanega na delce (pHg) (Lindberg & Stratton, 1998). PHg se pojavlja predvsem zaradi delovanja vulkanov in prisotnosti prahu v zraku. Njegov delež je v primerjavi z  $Hg^0$  zanemarljiv. Glavne poti izmenjave Hg so suho in mokro odlaganje Hg ter izhlapevanje raztopljenega plinskega Hg ( $Hg^0$ ) iz oceanov (Hudson in sod., 1994). Emisij Hg iz kopenskih sistemov še niso tako podrobno raziskali. Pomemben vidik kroženja živega srebra na zemeljski površini je oksidacija  $Hg^0$  v atmosferi in ponor  $Hg^0$  zaradi pomanjkanja ozona na polarnih delih (Schroeder in sod, 1998). To vodi v povečano odlaganje Hg na polih in posledično v emisije Hg nazaj v atmosfero. Izhlapevanje Hg iz oceanov je pomemben del pri globalnemu kroženju Hg. Obseg oceanskega izhlapevanja Hg je podoben vnosu Hg iz antropogenih virov (Mason & Sheu, 2002).

Zaradi številnih biokemijskih pretvorb, hlapnosti večine oblik elementa in raznovrstnih geokemijskih sprememb velik del Hg v biosferi aktivno kroži med oceani, ozračjem in kopnim.

### 1.3.2 Biogeokemijsko kroženje (slika 1)

Biogeokemijski cikel je izmenjava MMHg,  $Hg^{2+}$  oblik, DMHg in  $Hg^0$  v atmosferi, vodnem okolju in na kopnem. Elementarno Hg se v atmosfero sprošča iz številnih naravnih in antropogenih virov. Sčasoma se  $Hg^0$  v atmosferi pod vplivom sončne svetlobe in ozona pretvorji v topno obliko  $Hg^{2+}$ , ki se s suhim in mokrim odlaganjem vključuje v nadaljnje pretvorbe (Ahmed in sod., 1987).

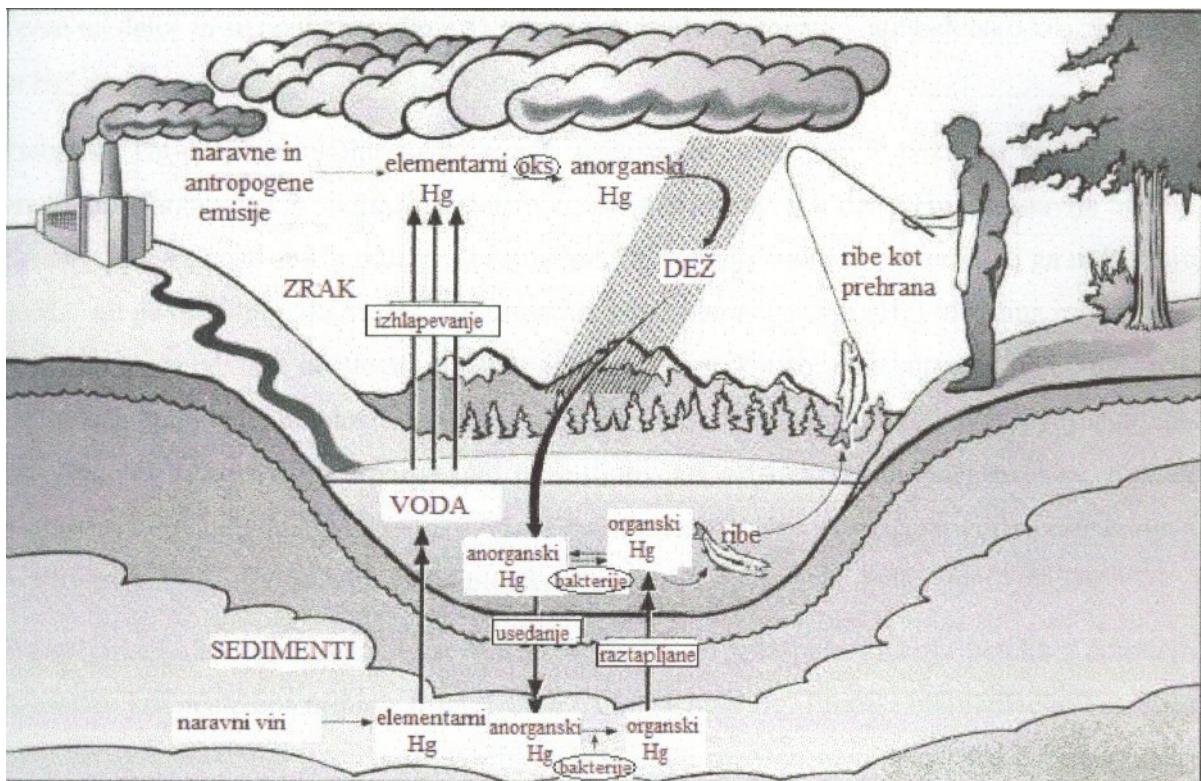
Razumevanje biogeokemije Hg je velikega pomena predvsem zaradi toksičnosti MMHg, akumulacije Hg v živem svetu in biomagnifikacije v vodnih prehranjevalnih verigah. Kopenski biogeokemijski cikli in cikli Hg v morskem okolju so podobni, razlikujejo se le v nekaterih lastnostih. Pri obeh ciklih je pomembna *in situ* bakterijska pretvorba anorganskih oblik živega srebra v bolj toksične MMHg oblike, ki se nabirajo v mišičnem tkivu rib

(Winfrey & Rudd, 1990). Najpomembnejši vir reaktivnega Hg (RHg) v obalnem vodnem okolju in oceanskem okolju je atmosferski vnos in vnos preko dvigovanja  $Hg^{2+}$  iz globin, t.i. *upwelling*.  $Hg^{2+}$  je osnova kroženja živega srebra. Je veliko manj hlapen kot  $Hg^0$  in dosti bolj topen. Hg depozicija je praktično depozicija  $Hg^{2+}$ , emisije Hg pa pretežno v  $Hg^0$  obliki. Raziskave modelov kažejo, naj bi bili aerosoli morske soli v mejnem morskom sloju pomembni pri kroženju Hg zaradi svoje sposobnosti, da tvorijo  $Hg^{2+}$  komplekse, ker so njihove vsebnosti kloridnih ionov visoke (Pirrone in sod., 2000). Večletne meritve  $Hg^0$  v Alertu v Kanadi so pokazale, da se z »izpraznjenjem« (angl. depletion) ozona prav tako nižajo koncentracije  $Hg^0$ , pogosto pod mejo detekcije merilnih tehnik (Schroeder in sod., 1998). Ta opazovanja so vodila k hipotezi, da so za nižanje koncentracij  $Hg^0$  odgovorne enote bromovih radikalov. Raziskave na modelu prikazujejo, da se halogenske enote ( $Br_2$  in  $BrCl$ ) sproščajo v atmosfero kot rezultat zakisanja aerosolov morske soli, ki je nastalo s pomočjo fotolize, in uničujejo  $O_3$  (Vogt in sod., 1996).

Biološki procesi so odgovorni za aktivno redistribucijo RHg. Velik del RHg se v tem procesu reducira do  $Hg^0$ , ki se vrne v atmosfero, preostali del pa se veže na delce in transportira v globlje dele oceana. Zaradi aktivnega cikla atmosferskega Hg imajo oceani pomembno vlogo pri ponoru  $Hg^0$  (Mason & Fitzgerald, 1996). Vsi ti procesi se v okolju odvijajo v izredno nizkih koncentracijah. Visoke koncentracije MMHg v morskih organizmih gre pripisati procesu bioakumulacije in biomagnifikacije.

V priobalno območje največ Hg prinašajo reke. To živo srebro je večinoma v nereaktivni obliki in se hitro odloži na sedimente. V rekah prihaja le manjši del RHg, ki je pripravljen na takojšnje reakcije (Cossa in sod., 1996). Koncentracije Hg so v priobalnih vodah višje kot na odprtem morju zaradi večje gostote in depozicije pHg (Cossa in sod., 1996). Koncentracije raztopljenega Hg so v oceanih zelo nizke, pod 1 ng/L. Druge oblike Hg v oceanih so elementarno živo srebro ( $Hg^0$ ), ki se nahaja pretežno v visoko produktivnih površinskih vodah, in organske oblike Hg (MMHg in DMHg), ki jih najdemo v globljih plasteh (Cossa in sod., 1994). V oceanih se poleg MMHg pojavlja tudi druga oblika organskega Hg DMHg, v sladkih vodah pa je glavna oblika organskega Hg MMHg.

MMHg predstavlja dominantno obliko celokupnega Hg v nekaterih organizmih višjih organizmov in zelo majhen delež celokupnega Hg v vodnih ekosistemih ter v atmosferi.



Slika 1: Osnovne poti biogeokemijskega kroženja Hg

### 1.3.3 Transformacije in transport Hg

V morskem okolju obstaja Hg tako v organski kot anorganski obliki. Transformacije Hg iz ene v drugo obliko imajo velik vpliv na topnost, hlapnost, mobilnost in razpoložljivosti Hg (Benoit in sod., 1994).

Večina antropogenega Hg vstopa v vodni sistem v anorganski obliki, ki je posledica kloralkalne industrije kot enega izmed glavnih virov onesnaževanja z živim srebrom (Manohar in sod., 2002). MMHg se mora tako tvoriti *in situ*. Znano je, da se metilacija v glavnem dogaja v sedimentu in anoksičnih vodnih sistemih (Craig & Moreton, 1985). V kulturi lahko veliko mikrobov metilira živo srebro v ionski obliki, v okolju pa je ta

aktivnost primarno »namenjena« sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) reducirajočim bakterijam (Compeau & Bartha, 1985). Redukcija  $\text{SO}_4$  je odgovorna za metilacijo Hg (Compeau & Bartha, 1985). Metilacija Hg naj bi zavzemala podobno globinsko razporeditev kot redukcija  $\text{SO}_4$  (King in sod., 1999).

Dejavniki, ki dajejo prednost procesu metilacije, so višje temperature, nizek pH, anoksični pogoji, višja vsebnost organskega materiala in zadostne koncentracije sulfata (Bloom, 1992). Sulfidi pa nasprotno zmanjšujejo produkcijo MMHg v slanem sedimentu (Craig & Moreton, 1985).

#### **1.3.4 Bioakumulacija in biomagnifikacija**

Bioakumulacija je sposobnost organizmov, da kopičijo in zadržujejo določene kemijske snovi v svojih telesih. Obseg bioakumulacije se razlikuje pri posameznih morskih organizmih in je odvisen od vrste in značilnosti snovi. Pri trdovratnih in visoko hidrofobnih kemikalijah je stopnja bioakumulacije lahko izjemno visoka. Ribe akumulirajo Hg v tkivih, kjer se veže na proteine. Metilacija Hg je ključni korak pri njegovem vstopu v prehranjevalne verige. Lipofilna narava MMHg omogoča tej organski obliki, da vstopa skozi celično membrano. Afiniteta MMHg do sulfidrilnih skupin določenih proteinov in njegova dolga razpolovna doba vodita do hitre bioakumulacije v živečih organizmih in posledične biomagnifikacije po trofičnih nivojih navzgor. Koncentracije teh snovi se v vsakem naslednjem trofičnem nivoju povišajo. Primer take prehranjevalne verige je alga → zooplankton → rastlinojede ribe → plenilske ribe. MMHg je primer snovi, ki se v živem okolju bioakumulira in biomagnificira do visoke stopnje. Biomagnifikacija Hg po prehranjevalni verigi temelji na kumulativnem prenosu metilirane oblike Hg. Lahko vodi do ekstremno visokih koncentracij pri piscivornih vrstah, ki so na vrhu trofične mreže (Boudou & Ribeyre, 1996).

S staranjem rib se Hg v njih še dodatno akumulira. Plenilci, ki so na vrhu prehranjevale verige, imajo na splošno višje koncentracije MMHg. Ta se namreč v organizmih ne izloči popolnoma in se tako prenaša po prehranjevalni verigi od plena na plenilce. Skoraj 100% Hg, ki se bioakumulira v tkivih organizmov višjih trofičnih nivojev, je v obliki MMHg

(Bloom, 1992). Glavni dejavniki, ki vplivajo na stopnjo MMHg v ribah, so trofični nivo posamezne vrste oziroma dolžina prehranjevalne verige, starost rib, mikrobnna aktivnost, koncentracija Hg v zgornjih slojih sedimenta, vsebnost raztopljenega organskega ogljika, slanost, pH vode in redoks potencial.

#### 1.4 Hg v morskem okolju

Kemijska oblika živega srebra v vodnih sistemih je močno odvisna od redoks in pH pogojev kot tudi od koncentracije anorganskih in organskih agentov. V morski vodi živo srebro pretežno obstaja kot  $\text{HgCl}_4^{2-}$  in  $\text{HgCl}_3$ , MMHg pa je prisoten zlasti v obliki klorida (Stumm & Morgan, 1996). Delež  $\text{Hg}^{2+}$ , ki je vezan na huminske kisline, je predvsem zaradi kompeticije kloridnega iona v morski vodi nižji kot v sladkovodnih sistemih. V obalnem območju je večina raztopljenega Hg vezana na organske koloide (Mason & Fitzgerald, 1993). Metilacija Hg je v morskem okolju običajno nižja kot v sladkovodnem okolju (Compeau & Bartha, 1987), kar gre pripisati učinku slanosti in prisotnosti sulfidnih in kloridnih kompleksov. Barkay in sodelavci (1997) so odkrili, da je  $\text{HgCl}_2$  bolje razpoložljiv kot negativno nabit  $\text{HgCl}_4^{2-}$  zato, ker lahko negativni naboj zmanjša dostopnost Hg metilirajočim bakterijam.

Glavne oblike živega srebra v vodnem sistemu so elementarno živo srebro ( $\text{Hg}^0$ ), kompleksi  $\text{Hg}^{2+}$  z različnimi organskimi in anorganskimi ligandi in organske živosrebrove oblike, večinoma v obliki monometil živega srebra (MMHg) in dimetil živega srebra ( $\text{MM}_2\text{Hg}$ ).  $\text{Hg}^0$  v vodi izvira iz različnih virov, od katerih je najpomembnejša redukcija  $\text{Hg}^{2+}$ , ki jo povzročajo vodni mikroorganizmi (Mason in sod., 1995 a,b). Redukcija  $\text{Hg}^{2+}$  lahko nastaja tudi s pomočjo abiotičnih organizmov v prisotnosti huminske kisline in dekompozicije organo-živosrebrovih oblik (Allard & Arsenie, 1991). Drugi pomembni mehanizem je fotoredukcija  $\text{Hg}^{2+}$  in posledično nastanek  $\text{Hg}^0$  v vodnem okolju (Amyot in sod., 1997).  $\text{Hg}^0$  je relativno nereaktiv, vendar v prisotnosti kloridnih ionov lahko oksidira v  $\text{Hg}^{2+}$  (Yamamoto, 1996). Večina površinskih voda je bolj nasičena z  $\text{Hg}^0$  kot atmosfera, zato se  $\text{Hg}^0$  sprošča iz vode v atmosfero.

Reducirajoče razmere in visoka slanost pospešujejo proces demetilacije MMHg (Hines in sod., 2000). Bikarbonat ima tudi negativen vpliv na metilacijo Hg pri aerobnih in anaerobnih razmerah (Campeau & Bartha, 1987). MMHg je kinetično inerten za dekompozicijo (Stumm & Morgan, 1996), vendar pa se lahko učinkovito razkroji ali fotokemično in/ali z mikrobnim delovanjem.

Sezonske razlike Hg speciacije v morskem okolju so povezane s temperaturo, redoks stanjem, sezonskimi spremembami v produktivnosti in dostopnosti hrani. Poleg MMHg je v globokih oceanskih vodah prisoten še DMHg (Mason & Fitzgerald, 1990), vendar proces njegovega nastanka ni docela jasen. DMHg z lahkoto zapušča vodno okolje z izhlapevanjem in fotolitično degradacijo in ne sodeluje pri akumulaciji v vodnih organizmih (Morel in sod., 1998). V površinskih slojih oceanskih voda niso zasledili DMHg.

Zanimiva lastnost biogeokemije živega srebra v Sredozemlju je visoka koncentracija Hg v tkivih rib, ki je višja kot pri enakih vrstah rib v Atlantskem oceanu (FAO, 1986), čeprav so koncentracije Hg v odprtih vodah enake (Cossa in sod., 1997).

#### 1.4.1 Hg v Tržaškem zalivu

Glavni vir onesnaževanja zaliva je nekdanji rudnik živega srebra, ki je lociran ob reki Idrijeti. Vanjo se že stoletja nalagajo usedline, bogate s cinobrom, ki prihaja iz območja nekdanjega Idrijskega rudnika. Reka Idrijca je eden izmed pritokov reke Soče. Izliva se v Tržaški zaliv, kamor transportira kontaminirano vodo in sedimente (Palinkaš in sod., 1995).

Nedavne meritve v zalivu (Horvat, 1996) kažejo na povišano vsebnost Hg v vodi, sedimentu in živem svetu. V zadnjem desetletju niso zaznali pričakovanega upadanja vsebnosti Hg. Koncentracije v suspendiranem in talnem sedimentu so za dva velikostna reda višje kot ustrezne vrednosti v osrednjem in južnem Jadranskem morju (Horvat in sod., 2002).

Znano je, da se severni del Jadranskega morja sooča z onesnaženostjo, ki jo spremljajo evtrofikacija, anaerobne razmere in poletna temperaturna stratifikacija (Faganeli in sod., 1991). To je ugodna osnova za transformacijo anorganskega Hg v metilirano toksično obliko, ki je bioakumulativna in visoko toksična. Ta oblika Hg je odgovorna za povišane vrednosti Hg v morskih organizmih, ki večkrat presegajo koncentracijo 0,5 mg/kg, kar je najvišja dovoljena meja Hg v njihovih tkivih (WHO). Problematika onesnaženosti Tržaškega zaliva z živim srebrom je izjemno pomembna predvsem zaradi visoke aktivnosti na področju ribolova in gojišča školjk.

Koncentracije THg so bile v Tržaškem zalivu do 10-krat višje kot koncentracije THg v osrednjem in južnem Jadranu (Ferrara & Maseri, 1992) in nekaterih drugih zalivih (Guentzel in sod., 1996). Do manjših odstopanj v koncentracijah raztopljenega Hg prihaja tudi na posameznih območjih Jadranskega morja. Faganeli in sodelavci (2003) menijo, da je reka Soča najpomembnejši vir raztopljenega in celokupnega Hg v Tržaškem zalivu. Reaktivne oblike živega srebra, vključno s  $Hg^{2+}$ , in raztopljene plinske oblike kažejo visoko korelacijo z raztopljenim Hg. Kaže, da je večina raztopljenega Hg reaktivnega in tako potencialno vključenega v biogeokemijske transformacije. Podobne korelacije so tudi za Idrijco in Sočo (Horvat in sod., 2001). Višje koncentracije THg v globinskih slojih so posledica remobilizacije iz sedimentov. Koncentracije THg v vodi pri dnu znašajo  $> 50$  ng/l, kar je posledica resuspenzije sedimenta. Koncentracije THg v površinskih slojih znašajo  $< 5$  ng/l. Višje koncentracije 5-25 ng/l so omejene na območje zaliva, kamor se izliva reka Soča (Horvat in sod., 1999; Faganeli in sod., 2003). Pomemben vir MMHg v Tržaškem zalivu je sediment na dnu. Koncentracije MMHg so pri dnu približno 10-krat višje (do 60 pg/l) kot na površini morja (pod 5 pg/l). To kaže na pomembnost sedimenta kot sekundarnega vira te toksične oblike Hg (Covelli in sod., 2001, 2006). Koncentracije THg in MMHg v vodi se nižajo z oddaljenostjo od obale.

Tabela 1: Koncentracije THg in MMHg v morski vodi v Tržaškem zalivu (povzeto po Horvat in sod., 1999 in Faganeli in sod., 2003)

| MORSKA VODA |                                |  |                           |
|-------------|--------------------------------|--|---------------------------|
|             | na površini<br>osrednji del TZ | na površini<br>območje pri izlivu Soče | na dnu TZ                 |
| <b>THg</b>  | < 5 ng/l                       | 5-25 ng/l                              | > 50 ng/l                 |
| <b>MMHg</b> | med < 0,005 in 0,062 ng/l      |  | med < 0,025 in 0,126 ng/l |

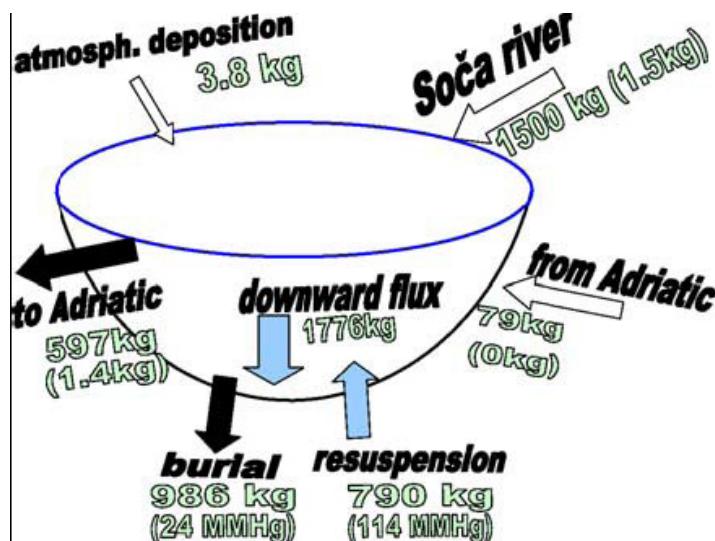
Tabela 2: Koncentracije THg in MMHg v površinskemu delu sedimenta v Tržaškem zalivu (povzeto po Hines in sod., 2006)

| SEDIMENT (površinski deli) |             |               |
|----------------------------|-------------|---------------|
|                            | ob estuarju | dlje od obale |
| <b>THg</b>                 | ~5-20 µg/g  | 1,25 µg/g     |
| <b>MMHg</b>                | 2 ng/g      | 0,5 ng/g      |

Opombe: Koncentracije THg in MMHg v sedimentu se z globino sedimenta nižajo.

MMHg predstavlja v sedimentu le majhen del celokupnega Hg, in sicer < 0,02% (Faganeli in sod., 2003).

V normalnih razmerah (povprečni letni veter in izliv Soče) je skoraj ves del (284 kg) dotoka Hg v raztopljeni obliki, v nevihtnih razmerah pa 89 kg THg/leto v raztopljeni obliki in 224 kg/leto v obliki, vezani na delce. Celoten iztok živega srebra iz Tržaškega zaliva je preračunan na 597 kg/leto. Iz ovrednotenja masne bilance je razvidno, da 44% (790 kg) (stalnega) Hg ponovno vstopi v vodni stolpec zaradi resuspenzije in difuzije med mejno ploskvijo med dnem in vodo, vendar ne zapusti zaliva. Večina neto MMHg, ki pride z morskega dna (90 kg/leto), vstopa v različne prehranjevalne verige in se tako nenehno akumulira v živem svetu, ali pa se iz morskega okolja odstrani z ribolovom in migracijami rib. Z reko Sočo pride v zaliv zanemarljiv dotok MMHg (0,14 kg/leto), v sedimentu Tržaškega zaliva pa nastane 114 kg MMHg/leto (Rajar in sod., 2004). Na sliki 2 je prikazana letna masna bilanca Hg v Tržaškem zalivu.



Slika 2: Letna masna bilanca živega srebra v Tržaškem zalivu. Podatki o pritoku in iztoku iz/v Jadransko morje so dobili s pomočjo hidrodinamočnega in disperzijskega modeliranja (Širca in Rajar, 1997b). Vrednosti v oklepajih predstavljajo tok MMHg (v kg/leto) (Prilejeno po Rajar in sod., 2000).

#### 1.4.2 Hg v morskem biotskem svetu

V morskom ekosistemu imajo ribe pomembno vlogo pri porazdelitvi Hg med različnimi biotskimi območji. Predstavlja veliko različnih trofičnih nivojev, od strogo herbivornih vrst do karnivornih vrst, in zasedajo tako rekoč vse ekološke niše.

Splošno je znano, da se Hg v ribah akumulira predvsem s hrano (Hall in sod., 1997). Prispevek Hg iz vode preko dihanja lahko variira in je odvisen od številnih okoljskih parametrov, ki nadzorujejo produkcijo MMHg in njegovo dostopnost v vodnem sistemu, ter od vrste rib in sezone (Downs in sod., 1998). Razporeditev Hg v ribjih organih je odvisna od: (i) izpostavljenosti Hg; načina privzema (preko vode/plena) in kemijske oblike Hg; (ii) fizikalno-kemijskih lastnosti biotopa (vodno okolje/sediment), od tega je odvisna speciacija Hg in posledično fiziološke in biokemijske funkcije živečih organizmov; (iii) strukturnih in funkcionalnih lastnosti različnih vrst rib, ki bi lahko vplivale na privzem preko bioloških pregrad (prebavna stena in škrge), procesov shranjevanja v tkivih in celicah ter mehanizmov ekskrecije (Boudou & Ribeyre, 1996).

Na območju Francoske Gvajane so Reginé in sod. (2006) preskrbeli nove informacije o razporeditvi Hg v ribjih organih glede na njihov režim prehranjevanja. Opazili so vidne razlike med herbivornimi, perifitofagnimi in piscivornimi/omnivornimi vrstami. Veliko dejavnikov prispeva k tem razlikam. Strukturne in funkcionalne razlike med vrstami lahko vplivajo na koncentracije Hg v organih kljub enakim izpostavitvenim pogojem. Pomemben faktor je tudi koncentracija MMHg v ribah, s katerimi se prehranjujejo plenilske vrste. Kar nekaj raziskav je pokazalo, da uživanje hrane, umetno obogatene z MMHg ali anorganskim Hg, vodi do različne stopnje metilacije v tkivih pri ribah (Boudou & Ribeyre, 1984). Tudi uživanje hrane z MMHg vodi do visoke stopnje absorpcije v črevesni steni, pri nekaterih primerkih celo blizu 100%. Ta organska oblika se transportira v rdečih krvničkah po krvi do vseh organov in tkiv. Največ MMHg se veže v skeletnih mišicah. Obstajata direkten prenos MMHg preko škrge in prenos preko trofičnih nivojev, kar vodi do akumulacije te toksične oblike živega srebra v skeletnih mišicah, ki imajo visoko sposobnost skladiščenja MMHg in nizko stopnjo očiščevanja (Boudou & Ribeyre, 1984).

#### 1.4.2.1 Negativni vpliv Hg na ribe

Zelo malo raziskav na temo negativnih vplivov Hg je bilo narejenih na ribi kot ciljnemu osebku v prehranjevalni verigi. Večino raziskav so namreč opravili predvsem o vplivih kontaminiranih rib na človeka (Wiener in sod., 2003).

Raziskave temeljijo zlasti na izpostavljenosti rib različnim koncentracijam MMHg v vodi, ki so od  $10^4$ - do  $10^5$ - krat višje kot v naravnih vodah, namesto na izpostavljenosti MMHg preko prehrane, ki je glavni vir MMHg pri ribah (Wiener & Spry, 1996).

MMHg naj bi glede na številne raziskave negativno vplivalo na vedenje rib, razvoj gonad, produkcijo spolnih hormonov in razmnoževanje (Friedmann in sod., 1996).

### 1.5 Toksičnost Hg za človeka

Najpomembnejša oblika Hg je MMHg, ki ima na človeka predvsem nevrotoksične učinke. Pomemben je zlasti čas nosečnosti, saj MMHg nevrotoksično vpliva na fetus, ki je MMHg izpostavljen, če se mati prehranjuje z morebiti okuženo hrano v času nosečnosti (Meyers in sod., 2000; NAS, 2000). Izpostavljenost živemu srebru vodi do pojava številnih simptomov, kot so poslabšan vid in sluh, vrtoglavica, bruhanje, glavobol, oslabljene mišice, alergije, oslabljen imunski sistem, poškodbe možganov. V končni fazи lahko vodi tudi v smrt (Risher, 2003). Nevrotoksične učinke MMHg blažijo zaščitni učinki selena ki je prisoten v ribah (Hansen in Gilman, 2005). Toksičnost MMHg lahko inhibirajo tudi drugi antioksidanti, kot je N-acetil-L-cistein (Ornaghi in sod., 1993). Človek je poleg MMHg izpostavljen tudi drugim oblikam Hg, ki so predstavljeni v tabeli 3. Omenjeni so tudi: absorpcija, porazdelitev, presnova in izločanje posameznih oblik Hg, vzrok njihove strupenosti, njihovi učinki in biološki material za oceno izpostavljenosti pri človeku.

Tabela 3: Oblike Hg - viri, absorpcija, porazdelitev in izločanje  $T_{1/2}$ 

|  | <b>MMHg</b>   | <b>Hg<sup>0</sup></b>  | <b>Anorgansko Hg<sup>2+</sup> in Hg- Hg<sup>2+</sup></b>  |
|--|---|--|---|
| <b>Viri</b>  | Ribe, perutnina, pesticidi  | Zobni amalgam, fosilna goriva, termometri, poklicna izpostavljenost  | Antiseptiki, industrija usnja, proizvodnja baterij, fungicidi, belilne kreme, demetilacija MMHg preko mikroflore v črevesju; biološka oksidacija Hg <sup>0</sup>  |
| <b>Absorpcija</b>                                  | 95-100 % v prebavnem traktu; 100 % vdihanih hlapov  | 75-85 % preko pljuč  | 7-15 % zaužitega odmerka; 2-3 % odmerka preko kože  |
| <b>Porazdelitev</b>                                | Lipofilna oblika, porazdelitev po celiem telesu, prehaja krvno-možgansko in posteljično pregrado, kopiranje v možganih in ledvicah              | Lipofilna oblika, porazdelitev po celičnih membranah, tudi preko krvno-možganske in posteljične pregrade, kopiranje v možganih, žlezah in ledvicah | Slabo prehaja preko krvno-možganske pregrade in posteljice; opaženo v možganih novorojenčkov, kopiranje v ledvicah  |
| <b>Presnova</b>                                    | Potreben je kompleks s cisteinom za znotrajcelično absorpcijo; počasi se demetilira do anorganskega Hg ( $T_{1/2}$ : 70 dni)                    | Znotrajcelična oksidacija preko katalaze in vodikovega peroksida ( $T_{1/2}$ : 1-3 meseca)   | Večina se ga veže na metalotioneine in inducira njihovo biosintezo; v manjši meri se metilira s pomočjo črevesne mikroflore<br>$T_{1/2}$ : 1-2 meseca (2 dni za neabsorbirano Hg v prebavnem traktu)  |
| <b>Izločanje</b>                                   | 90 % preko žolča in blata; 10 % preko urina   | Urin, blato, žolč, znoj, slina   | Urin, žolč, blato, znoj, slina  |
| <b>Vzrok za strupenost</b>                         | Tvorba prostih radikalov, vezava na tiole, encime in strukturne proteine ter demetilacija do Hg <sup>2+</sup>                                   | Oksidacija do Hg <sup>2+</sup>   | Vezava na tiole, encime in strukturne proteine  |
| <b>Učinki</b>                                      | Poškodbe nevronskih celic in zakasneli simptomi senzoričnih motenj, motnje v vidu, mentalne motnje, krči, paraliza. Poškodbe so irreverzibilne. | <i>Izpostavljenost visokim koncentracijam:</i> tremor, gingvitis, eritizem, motnje spomina, emocionalne in psihološke motnje, poškodbe ledvic      | Hg- Hg <sup>2+</sup> (kalomel): akrodermija. Hg <sup>2+</sup> : <i>Akutna izpostavljenost:</i> irreverzibilne poškodbe ledvic, stomatitis, gastroenteritis, kardiovaskularni kolaps.<br><i>Kronična izpostavljenost:</i> nevrološke motnje, podobne Učinkom Hg <sup>0</sup> , učinki na imunski sistem. Poškodbe so reverzibilne. |
| <b>Biološki material za oceno izpostavljenosti</b> | Kri, lasje  | Urin, kri, izdihani zrak   | Urin  |

Cilj pričajoče raziskave je določitev vsebnosti Hg in MMHg v tkivih štirih vrst hrustančnic in nekaterih primerkih njihovega plena, primerjava vseh štirih vrst med seboj in iz že znanih podatkov o koncentracijah Hg v vodi (Horvat in sod. 1999; Faganeli in sod., 2003) ter izračun njihovega biokoncentracijskega faktorja (BKF). S tovrstnimi analizami in analizami zvrsti Hg v planktonu in vodi bomo lahko določili dolgoročni obseg biomagnifikacije THg in MMHg v morski prehranjevalni verigi v Tržaškem zalivu in Severnemu Jadranu nasploh.

## 2. OPIS OBRAVNAVANEGA OBMOČJA IN RAZISKOVANIH RIB

Tržaški zaliv se nahaja na vzhodnem delu najbolj severnega dela Jadranskega morja, kjer se Sredozemlje najgloblje zajeda v evropsko celino. Njegove dimenziije so  $25 \times 30$  km. Največja globina v osrednjem delu Tržaškega zaliva znaša 25 m, povprečna globina pa 16 m. Glavna reka, ki se izliva v Tržaški zaliv, je reka Soča s povprečnim letnim iztokom 150 m<sup>3</sup>/s. Na hidrodinamično cirkulacijo v zalivu vpliva zlasti burja, še posebej v jesenskih in zimskih mesecih. Značilnost naše obale je eocenska sedimentna kamnina fliš. Slovenijo povezuje s Sredozemljem vsega 46,6 km dolga morska obala v Tržaškem zalivu.

### 2.1 Raziskovane vrste rib

Leta 2005 so v Tržaškem zalivu ulovili številne morske golobe in morske biče, za katere je znano, da se na temu območju le redko pojavljajo (Lipej, 1999). Izbrali smo nekaj osebkov štirih vrst - 5 osebkov navadnega morskega goloba (*Myliobatis aquila*), 17 osebkov kljunatega morskega goloba (*Pteromylaeus bovinus*), 8 osebkov vijoličastega morskega biča (*Dasyatis violacea*) in 1 primerek navadnega morskega biča (*Dasyatis pastinaca*).

#### 2.2.1 Sistematska uvrstitev preiskovanih živali (Lipej, 1999)

Razred: HRUSTANČNICE (Chondrichthyes)

Podrazred: Elasmobranchii

Red: SKATI (Hypotremata)

Družina: MORSKI GOLOBOI (Myliobatidae)

1. rod: Morski golobi (*Myliobatis*) (Cuvier, 1816)
  - 1.1. **Navadni morski golob** (*Myliobatis aquila*) (Linnaeus, 1758)
2. rod: Kljunati morski golobi (*Pteromylaeus*) (Garman, 1913)
  - 2.1. **Kljunati morski golob** (*Pteromylaeus bovinus*) (E. Geoffroy Saint Hilaire, 1817)

Družina: MORSKI BIČI (Dasyatidae)

1. rod: Morski biči (*Dasyatis*)
  - 1.1. vrsta: **Navadni morski bič** (*Dasyatis pastinaca*) (Linnaeus, 1758)

## 1.2. vrsta: **Vijoličasti morski bič** (*Dasyatis violacea*) (Bonaparte, 1832)

### 2.2.2 Opis posameznih vrst

#### 2.2.2.1 Navadni morski golob (*Myliobatis aquila*)

Navadni morski golob (slika 3) se pojavlja v Jadranu do globine 300 m. V slovenskem morju je razmeroma pogosta vrsta. Živi na peščenem in muljastem morskem dnu. Najštevilčnejši je na globinah od 10-50 m. Je živorodna vrsta. Samica leže od 6 do 7 mladičev. Poleti se v velikih jatah pojavljajo čisto ob obali. Podnevi je zakopan v pesek, ponoči pa aktiven. Prehranjuje se pretežno z bentoškimi nevretenčarji, kot so raki (Crustacea), polži (Gastropoda), školjke (Bivalva), razni mnogoščetinci (Polychaeta) (Capapé, 1975a). V njihovih želodcih so našli tudi ostanke lignjev (*Loligo vulgaris*) in kostnic (McEachran & Seret, 1990). Navadni morski golob se pojavlja na vzhodni Atlantski obali (Madeiri, Maroku in Kanarskih Otokov), zahodni obali Irske, Britanskih otokov, JZ delu Severnega morja, Južni Afriki in Sredozemlju ([www.fishbase.com](http://www.fishbase.com)). Biometrični podatki o tej vrsti so vidni v tabeli 5.



Slika 3: Navadni morski golob (*Myliobatis aquila*) Foto: Doug Perrine

### 2.2.2.2 Kljunati morski golob (*Pterymylaeus bovinus*)

Kljunati morski golob (slika 4) je vrsta zmerno topnih in tropskih morij. Pogosto se zadržuje na blatnih tleh do 100 m globoko, kjer išče bentoške nevretenčarje. Razmnožuje se od marca do konca oktobra. Obdobje brejosti v povprečju traja 6 mesecev. V slovenskem morju se pojavlja občasno. Je bentopelaška vrsta, ki živi od 10 do 150 m globoko. Občasno se zadržuje v manjših skupinah. Hrani se predvsem z bentoškimi nevretenčarji, polži, školjkami, raki, ribami, iglokožci in kolobarniki (Capapé, 1975b; Capapé & Quignard, 1975). Prehrana mladega osebka se razlikuje od prehrane starejšega. Meso kljunatega morskega goloba je visoko cenjeno v kulinariki. Pojavlja se ob vzhodni Atlantski obali (Portugalska in Maroko do Angole), v Sredozemskem morju, Južni Afriki (od Saladanha Bay do Natala) in južnem delu Mozambika ([www.fishbase.com](http://www.fishbase.com)). Do leta 2005 je veljal kot redka vrsta skatov v Jadranu (Šoljan, 1963; Jardas, 1996). Biometrični podatki o tej vrsti so prikazani v tabelah 6 in 7.



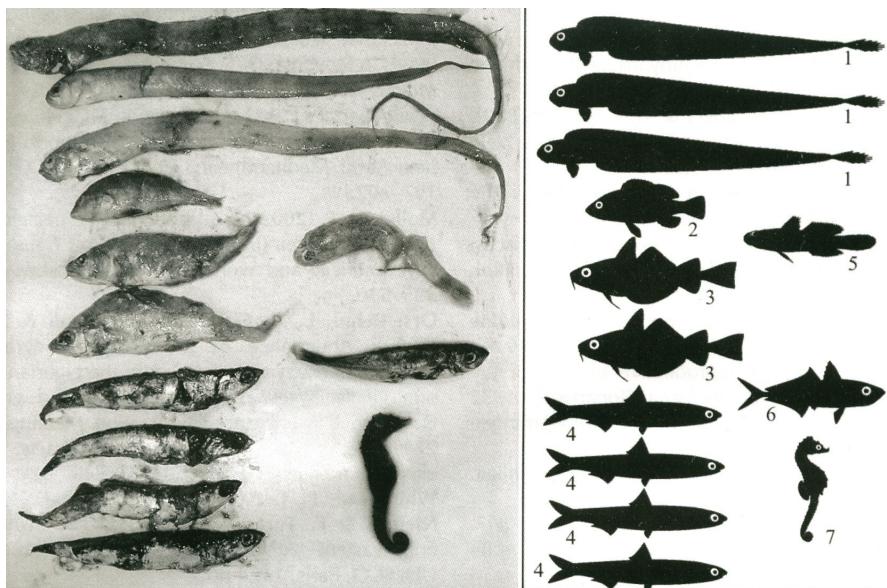
Slika 4: Kljunati morski golobi (Foto: Tihomir Makovec)

### 2.2.2.3 Vijoličasti morski bič (*Dasyatis violacea*)

Vijoličasti morski bič (slika 6) je zmerno velik skat z maksimalno širino diska 80 cm (Mollet, 2002) in temne barve s tipičnim široko zaokroženim gobcem. Živi v tropskih in subtropskih morjih, pa tudi v vodah zmernih zemljepisnih širin. V Sredozemlju se pojavlja večinoma v okolini afriške obale (Hemida in sod., 2003), v Ligurijskem morju (Orsi Relini in sod., 2000), vodah Sicilije (McEachran & Capapé, 1984) in vodah Grčije ter Izraela (Hemida in sod., 2003). V Jadranu je vijoličasti morski bič zelo redka vrsta (Jardas, 1996). V Tržaškem zalivu so ga prvič opazili leta 1999 (Mavrič in sod., 2004). Večino plena so sestavljeni inčuni in rdeči mečaki (tabela 4, slika 5). Biometrični podatki o raziskanih primerkih vijoličastih morskih bičev so prikazani v tabeli 8.

Tabela 4: Ostanki plena iz želodcev devetih primerkov vijoličastega morskega biča (*Dasyatis violacea*)  
Povzeto po Mavrič in sod. (2004)

| Vrsta (latinsko)                     | Vrsta (slovensko)          | %     | Razred %           |
|--------------------------------------|----------------------------|-------|--------------------|
| <i>Engraulis encrasiculus</i>        | inčun                      | 54,88 | Kostnice (98,78%)  |
| <i>Cepola rubescens</i>              | rdeči mečak                | 10,98 |                    |
| Clupeidae                            | slédi                      | 7,32  |                    |
| <i>Sardina pilchardus</i>            | sardina                    | 6,10  |                    |
| <i>Trachurus trachurus</i>           | šur                        | 1,22  |                    |
| <i>Trachurus</i> sp.                 | šuri                       | 3,66  |                    |
| <i>Merluccius merluccius</i>         | oslič                      | 3,66  |                    |
| <i>Trisopterus minutus capelanus</i> | molič                      | 2,44  |                    |
| <i>Gobius</i> sp.                    | glavači                    | 1,22  |                    |
| <i>Serranus hepatus</i>              | volkec                     | 1,22  |                    |
| <i>Hippocampus hippocampus</i>       | kratkonosi morski konjiček | 1,22  |                    |
| nedoločene kostnice                  |                            | 4,88  |                    |
| <i>Sepia</i> sp.                     | sipa                       | 1,22  | Glavonožci (1,22%) |



Slika 5: Prikaz najdenih živali v želodcu vijoličastega morskega biča (Mavrič in sod., 2004)

#### 2.2.2.4 Navadni morski bič (*Dasyatis pastinaca*)

Navadni morski bič je bentoška vrsta, ki se hrani z raki, mehkužci in ribami na dnu ([www.fishbase.com](http://www.fishbase.com)). Biometrični podatki o tej vrsti so prikazani v tabeli 9.

#### 2.2.3 Razmnoževanje morskih bičev in morskih golobov

Ker sta bila v vzorcih prisotna tudi 2 zarodka kljunatega morskega goloba, bi na kratko omenila še posebnosti njihovega razmnoževanja in tako pripomogla k razpravi o prisotnosti Hg v teh vzorcih.

Morski golobi in morski biči imajo notranjo oploditev. Zanje je značilna aplacentalna viviparija. To pomeni, da se mladiči izvalijo znotraj telesa matere, ni pa placente, ki bi razvijajoči se zarodek oskrbovala s hranili. Oplojeno jajče se razvija v kapsuli, katere pregrada je zelo tanka. Zarodki se hranijo s hranili iz rumenjakove vrečke in s pomočjo »materinega mleka«, ki je pravzaprav hranljiva tekočina, katero izločajo dolgi filamenti uterusa. To hranljivo tekočino absorbira rumenjakova vrečka, ali pa jo zarodek dobi skozi usteca ali škržne reže. Brejost traja od 8 do 12 mesecev. Nato se skotijo živi mladiči, ki so

se sposobni samostojno prehranjevati in braniti, saj že imajo razvito bodico.  
[http://homepage.mac.com/mollet/Pv/Embryo\\_dev.html](http://homepage.mac.com/mollet/Pv/Embryo_dev.html).

Tabela 5: Biometrični podatki o navadnem morskem golobu (*Myliobatis aquila*) (Legenda: DW – širina diska (mm), TL – celotna dolžina ribe (mm), W – teža ribe (kg), f – samica, m – samec, juv – mlad osebek.)

| zap. št. | oznaka vzorca | DW (mm) | DL (mm) | TL (mm) | W(kg) | spol | lokacija ulova          | datum      | koda |
|----------|---------------|---------|---------|---------|-------|------|-------------------------|------------|------|
| 1        | 025 - MA      | 380     | 225     | 670     | 0,98  | f    | 45°24'14"N   13°11'92"E | 27.9.2005  | 152  |
| 2        | 035 - MA      | 277     | 160     | 525     | 0,30  | m    | 45°19'34"N   13°11'88"E | 28.9.2005  | 153  |
| 3        | 028 - MA      | 345     | 212     | 640     | 0,62  | juv  | 45°24'14"N   13°11'92"E | 27.9.2005  | 152  |
| 4        | 044 - MA      | 273     | 145     | 495     | 0,26  | juv  | 45°16'66"N   13°14'54"E | 6.10.2005  | 180  |
| 5        | 061 - MA      | 275     | 142     | 525     | 0,32  | juv  | 45°26'24"N   13°11'38"E | 17.10.2005 | 191  |

Tabela 6: Biometrični podatki o kljunatem morskem golobu (*Pteromylaeus bovinus*), samice (Legenda: DW – širina diska (mm), TL – celotna dolžina ribe (mm), W – teža ribe (kg), f – samica)

| oznaka vzorca | DW (mm) | DL (mm) | TL (mm) | W(kg) | spol    | lokacija ulova          | datum      | koda |
|---------------|---------|---------|---------|-------|---------|-------------------------|------------|------|
| 053 - PB      | 1630    | 1080    | 1960    | 74    | f       | 45°34'13"N   13°34'08"E | 4.10.2005  | xl2  |
| 054 - PB      | 1885    | 1180    | 2240    | 110   | f       | 45°34'13"N   13°34'08"E | 4.10.2005  | xl3  |
| 055 - PB      | 1569    | 1082    | 1690    | 68    | f       | 45°26'24"N   13°11'38"E | 17.10.2005 | 181  |
| 055 - PB (B)  | 450     | 250     | 760     |       | zarodek | embrio vrste 055 PB     |            |      |
| 055 - PB (D)  | 450     | 265     | 780     |       | zarodek | embrio vrste 055 PB     |            |      |
| 056 - PB      | 1540    | 1080    | 2500    | 57    | f       | 45°26'55"N   13°08'64"E | 22.9.2005  | 192  |
| 057 - PB      | 1910    | 1320    | 2940    | 116   | f       | 45°19'34"N   13°11'88"E | 28.9.2005  | 155  |
| 058 - PB      | 2220    | 1155    | 2670    | 88    | f       | 45°19'34"N   13°11'88"E | 28.9.2005  | 155  |
| 063 - PB      | 750     | 395     | 1261    | 5,28  | f       | 45°21'87"N   13°07'12"E | 28.9.2005  | 156  |
| 066 - PB      | 1710    | 1125    | 2630    | 84    | breja   | 45°19'34"N   13°11'88"E | 28.9.2005  | 154  |
| 067 - PB      | 1590    | 1100    | 2660    | 68    | f       | 45°34'16"N   13°28'43"E | 19.8.2005  | 74   |

Tabela 7: Podatki o kljunatuemu morskemu golobu (*Pteromylaeus bovinus*), samci (Legenda: DW – širina diska (mm), TL – celotna dolžina ribe (mm), W – teža ribe (kg), m – samec)

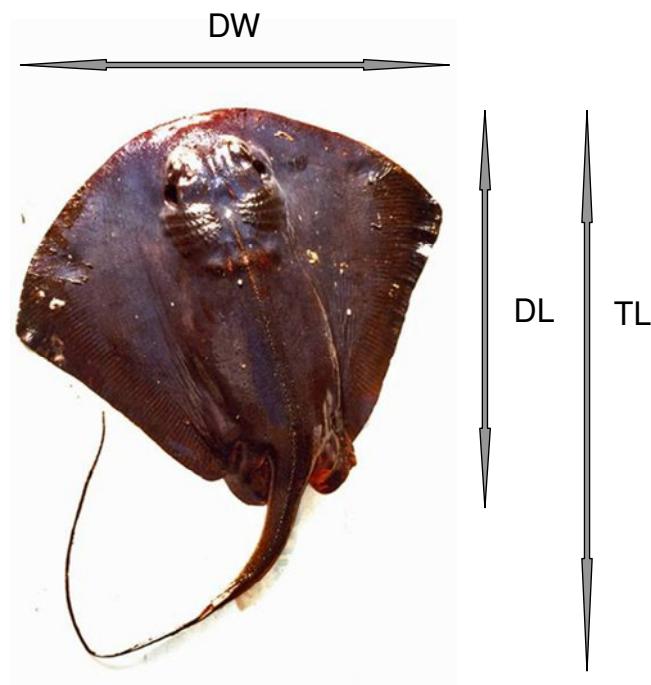
| oznaka vzorca | DW (mm) | DL (mm) | TL (mm) | W(kg) | spol | lokacija ulova          | datum      | koda |
|---------------|---------|---------|---------|-------|------|-------------------------|------------|------|
| 029 - PB      | 528     | 302     | 875     | 1,5   | m    | 45°19'34"N   13°11'88"E | 28.9.2005  | 153  |
| 034 - PB      | 735     | 435     | 1210    | 5,28  | m    | 45°19'34"N   13°11'88"E | 28.9.2005  | 153  |
| 052 - PB      | 1135    | 715     | 1940    | 21    | m    | 45°34'13"N   13°34'08"E | 4.10.2005  | xl1  |
| 060 - PB      | 535     | 124     | 879     | 1,88  | m    | 45°26'24"N   13°11'38"E | 17.10.2005 | 191  |
| 062 - PB      | 571     | 335     | 860     | 2,52  | m    | 45°21'87"N   13°07'12"E | 28.9.2005  | 156  |
| 064 - PB      | 775     | 411     | 1256    | 6,2   | m    | 45°21'87"N   13°07'12"E | 28.9.2005  | 156  |

Tabela 8: Podatki o vijoličastem morskem biču (*Dasyatis violacea*) (Legenda: DW – širina diska (mm), TL – celotna dolžina ribe (mm), W – teža ribe (kg), f – samica, m – samec)

| oznaka vzorca | DW (mm) | DL (mm) | TL (mm) | W(kg) | spol | lokacija ulova        | datum      | koda |
|---------------|---------|---------|---------|-------|------|-----------------------|------------|------|
| 006 - PV      | 600     | 549     | 1392    | 7,56  | f    | 45°32'75"N 13°31'32"E | 18.10.2005 | 200  |
| 007 - PV      | 562     | 420     | 1375    | 5,44  | f    | 45°19'24"N 13°11'97"E | 4.10.2005  | 162  |
| 010 - PV      | 550     | 425     | 1290    | 5,22  | f    | 45°23'24"N 13°07'10"E | 4.10.2005  | 163  |
| 038 - PV      | 541     | 393     | 1281    | 5,48  | f    | 45°19'24"N 13°11'97"E | 4.10.2005  | 160  |
| 039 - PV      | 445     | 340     | 1070    | 2,64  | m    | 45°19'24"N 13°11'97"E | 4.10.2005  | 160  |
| 049 - PV      | 521     | 400     | 776     | 3,74  | m    | 45°16'66"N 13°14'54"E | 6.10.2005  | 181  |
| 050 - PV      | 588     | 450     | 1262    | 6,12  | f    | 45°22'08"N 13°14'17"E | 5.10.2005  | 168  |
| 051 - PV      | 437     | 354     | 1010    | 2,40  | m    | 45°22'08"N 13°14'17"E | 5.10.2005  | 168  |

Tabela 9: Podatki o navadnem morskem biču (*Dasyatis pastinaca*) (Legenda: f – samica)

| oznaka vzorca | DW (mm) | DL (mm) | TL (mm) | W(kg) | spol | lokacija ulova        | datum     | koda |
|---------------|---------|---------|---------|-------|------|-----------------------|-----------|------|
| 040 - DP      | 455     | 367     | 788     | 4     | f    | 45°16'66"N 13°14'54"E | 6.10.2005 |      |



Slika 6: Prikaz širine diska (DW), dolžine diska (DL) in celotne dolžine (do konice repa) (TL). Na sliki je vijoličasti morski bič.

## 2.2.4 Opis plena

Čokati volek (*Murex trunculus*) je polž (Gastropoda) iz družine Muricidae. Živi v plitvih vodah v sublitoralnem pasu. Je mesojedec in se prehranjuje večinoma s školjkami, v katere naredi luknjico s pomočjo kislega izločka ([www.slo-istra.com/morskezivali/cokati-volek.html](http://www.slo-istra.com/morskezivali/cokati-volek.html)).

Rdeči mečak (*Cepola rubescens*) spada v družino Cepolidae. Živi na peščenih in blatnih tleh, občasno pa priplava tudi višje. Prehranjuje se z zooplanktonom (večinoma majhnimi rakci) ([www.fishbase.com](http://www.fishbase.com)).

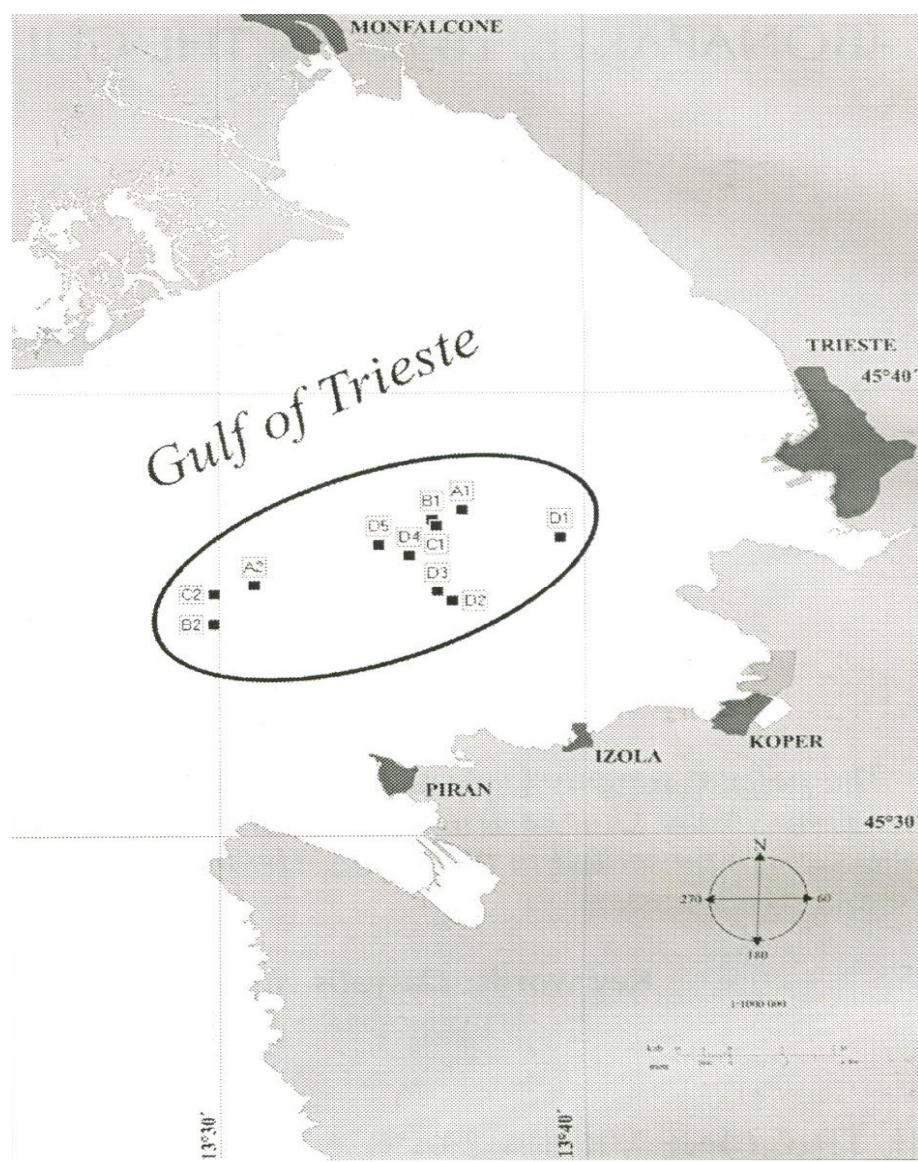
Inčun (*Engraulis encrasicholus*) spada v družino Engraulidae. Je priobalna pelaška vrsta, ki se hrani večinoma z zooplanktonom ([www.fishbase.com](http://www.fishbase.com)).

V štirih osebkih hrustančnic smo izmerili THg in MMHg v škrgah, mišicah in jetrih. THg in MMHg smo izmerili tudi pri nekaterih osebkih njihovega plena. THg smo merili s pomočjo metode kislinskega razklopa in merjenjem na CV-AAS (atomska absorpcijska spektrometrija hladnih par), MMHg pa z metodo prehlapevanja MMHg na cisteinski papirček v mikrodifuzijski celici, kasnejšo ekstrakcijo v organsko fazo in merjenjem na GC-ECD (plinski kromatograf z detektorjem za zajetje elektronov).

### 3. MATERIALI IN METODE DELA

#### 3.1 Vzorčevanje

V obdobju od avgusta do oktobra 2005 so na območju južnega dela Tržaškega zaliva in zahodne obale Istre z vlečno mrežo ulovili 32 kljunatih morskih golobov. Med njimi je bilo 28 odraslih, 4 pa so bili zarodki. Ujeli so še 67 vijoličastih morskih bičev, 27 navadnih morskih golobov in enega navadnega morskega biča.



Slika 7: Lokacija ulova vijoličastih morskih bičev (Lipej in sod., 2008)

### 3.2 Priprava vzorcev za obdelavo

Na razpolago smo imeli 31 osebkov vseh štirih vrst. Vsakemu smo odvzeli košček mišic, škrge in jeter za nadaljnjo analizo THg in MMHg. Vzorce smo sprejeli na Morski biološki postaji v Piranu. Odvzete vzorce smo zamrznili in jih shranili za nadaljno uporabo v Inštitutu Jožefa Stefana - Odseku za znanost o okolju v Podgorici.

Analizirali smo 30 vzorcev škrge, 31 vzorcev jeter in 31 vzorcev mišičnega tkiva, ki so pripadali vsem omenjenim vrstam. Vzorce smo v čistih polietilenskih vrečkah hranili v zamrzovalniku pri temperaturai od -15 do -20°C. Pazili smo, da med delom ni prišlo do medsebojne kontaminacije različnih vzorcev. Vzorce smo pred uporabo stehtali in jih nato ponovno globoko zamrznili. Sledilo je počasno sušenje vzorcev s pomočjo 4-dnevne liofilizacije (Liofilizator Christ Alpha 1-4) pri temperaturi -40°C in tlaku 0,020 mbar. Nato smo posušene vzorce stehtali, da smo dobili podatke za suho maso posameznih tkiv. Sledila je homogenizacija posameznih tkiv.

Tkiva smo homogenizirali s pomočjo mletja (Mlinček: Fritsch planetary micro mill pulverisette7). Uporabili smo posodice iz ahata ter ahatne kroglice. Tako posodice kot kroglice smo za vsak posamezen vzorec dobro sprali z vodo in jih nato temeljito obrisali. Ahatne posodice in kroglice smo uporabili zaradi manjše nevarnosti, da bi prišlo do adsorpcije živega srebra in posledično do kontaminacije vzorcev. Za vsak slučaj pa smo predhodno vseeno preverili, kateri vzorci so bili nazadnje mleti v istih posodicah.

Zmlete vzorce smo v prahovkah hranili v hladilniku, da ne bi prišlo do izgub Hg. Pri transportu, vzorčenju, pripravi in shranjevanju vzorcev smo pazili, da smo jih čim manj časa izpostavljeni sobni temperaturi zaradi nevarnosti izgube Hg oz. kontaminacije s hlapnimi oblikami Hg.

Na voljo smo imeli tudi 3 vrste, s katerimi se prehranjujejo raziskovane hrustančnice, in sicer čokatega voleka, rdečega mečaka in inčuna. Vzorce smo prav tako sprejeli na Morski biološki postaji v Piranu. Do analize smo jih v čistih polietilenskih vrečkah skrbno hranili v zamrzovalniku. Razpolagali smo s 5 osebki inčunov, 5 osebki rdečih mečakov in 10

primerki volekov. Ker nas je zanimala koncentracija THg in MMHg v prehrani hrustančnic in ne posamezen osebek njihovega plena, smo s pomočjo mlinčka homogenizirali vse osebke iste vrste in jih v analizi obravnavali kot en vzorec. Pri voleku smo homogenizirali samo mehko tkivo. V vzorec nista bila vključena hišica in operkulum. Suhe mase pri vzorcih plena nismo določili.

### 3.3 Določanje celokupnega Hg v vzorcih rib in drugih morskih organizmov

#### 3.3.1 Kemikalije, materiali in aparature, ki so potrebni pri določevanju THg

Kislinski razklop posameznih vzorcev smo povzeli po Akagiju in Nishimuri (1991). Za razklop smo potrebovali naslednje kemikalije:

- 3 ml  $\text{HNO}_3$  (konc.) 65%
- 1 ml  $\text{HClO}_4$  (konc.) 70%
- 5 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (konc.) 96%
- 1ml BrCl

Vloga BrCl je oksidacija metil živega srebra v vzorcu. Oksidacija lahko poteče že v nekaj minutah, vendar pa je verjetneje, da popolna oksidacija poteče, če razkrojene vzorce z dodatkom BrCl pustimo preko noči.

Priprava BrCl:

Zatehtamo 11g  $\text{KBrO}_3$  in 15 g KBr ter dodamo 800 ml konc. HCl ( $< 0,2 \text{ ng/l}$ ).

- Hidroksil-amin hidroklorid (12%  $\text{NH}_2\text{OH}\text{HCl}$ )

Pred meritvami THg s CV-AAS je pomembno dodati hidroksil-amin hidroklorid, da odstranimo odvečne kloridne in bromidne ione, ki bi lahko motili zlato past.

Priprava 12 %  $\text{NH}_2\text{OH}\text{HCl}$ :

V teflonsko 125 ml posodico zatehtamo 12 g  $\text{NH}_2\text{OH}\text{HCl}$  in dodamo 100 ml Milli-Q vode.

- $\text{SnCl}_2$  (reduksijski reagent)

$\text{SnCl}_2$  nalijemo v t.i. reduksijsko celico. Njegova funkcija je redukcija  $\text{Hg}^{2+}$  do  $\text{Hg}^0$ , ki se pomika naprej po sistemu do zlate pasti, kjer se koncentrira.

### Priprava 20% $\text{SnCl}_2$

V 200 ml stekleno posodico smo s pomočjo plastične spatule zatehtali 40 g  $\text{SnCl}_2$ , dodali 40 ml konc. HCl in dolili Milli-Q vodo do oznake 200 ml.

- $\text{KMnO}_4$

$\text{KMnO}_4$  smo uporabljali pri čiščenju bučk.

### Priprava $\text{KMnO}_4$

V enolitrsko steklenico smo zatehtali 50 g  $\text{KMnO}_4$ , dodali 100 ml konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  in dolili Milli-Q do 1 l.

Standardno raztopino smo pripravili iz  $\text{HgCl}_2$ . Pred vsakim merjenjem celokupnega živega srebra v vzorcih smo naredili kalibracijsko krivuljo s pomočjo redukcije živega srebra v standardni raztopini. Med merjenjem posamičnih vzorcev v posamezni seriji smo določili tudi Hg v standardni raztopini in tako preverjali verodostojnost merilnega sistema ter pravilnost rezultatov.

### 3.3.2 Postopek merjenja celokupnega Hg

V steklene 100 ml bučke smo zatehtali 0,5 g suhe mase posameznega vzorca. Na vzorec smo nato v digestoriju odpipetirali kisline za kislinski razkroj v zaporedju 3ml  $\text{HNO}_3$ , 1ml  $\text{HClO}_4$  in 5 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Ta mešanica kislin povzroči kompletno oksidacijo organskega tkiva. Paziti moramo, da žvepleno kislino ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) dodamo nazadnje, saj drugače direkten stik te kisline z organsko snovjo povzroči pooglenitev organske snovi.

Po končanem pipetiranju smo kisline pustili delovati 1 uro na sobni temperaturi. V vsako bučko smo dodali nekaj steklenih kroglic (približno pet), da ne bi prišlo do pregretja tekočine. Bučke smo nato 20 minut pustili v grelnem bloku pri temperaturi 200 °C. Po segrevanju smo vanje dali nekaj Milli-Q vode in tako razredčili vsebino, da kasneje ne bi prišlo do premočne reakcije z  $\text{BrCl}$ . Bučke smo nato pustili v digestoriju preko noči. Naslednji dan smo razkrojene vzorce merili na CVAAS. Pred meritvami smo dodali približno 50  $\mu\text{l}$  hidroksil-amin hidoklorida oziroma toliko, da se je raztopina v bučki razbarvala. Hidroksil-amin hidroklorid namreč odstrani kloridne in bromidne ione, ki bi

lahko motili delovanje zlate pasti, ki ima pomembno vlogo pri procesu amalgamacije oziroma prekoncentracije Hg.

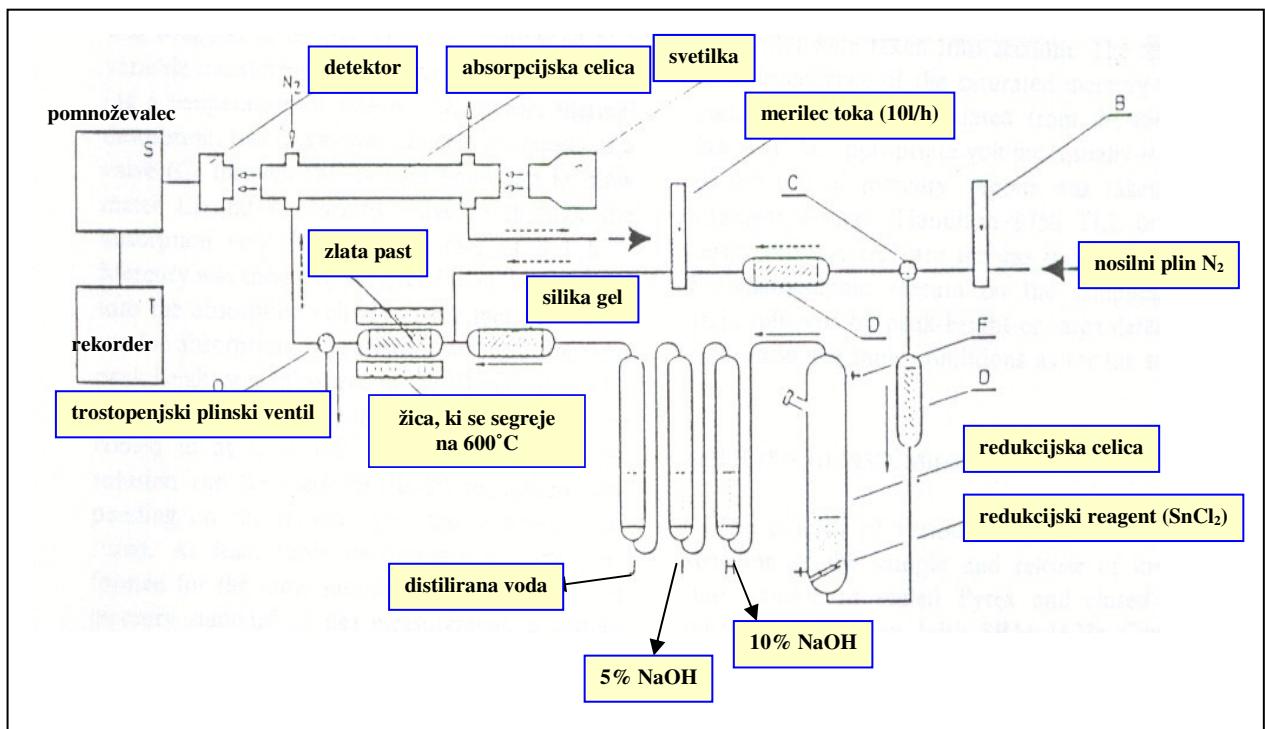
Pri opisanem postopku je bilo treba zagotoviti, da se je ves MMHg v vzorcu sprostil v raztopino in da so bile razmere oksidacije zadostne za razkroj MMHg v  $Hg^{2+}$ . Rezultate, ki smo jih dobili, smo primerjali s certificiranim referenčnim materialom. Vrednosti slepih vzorcev so bile zelo nizke, včasih celo nezaznavne.

### 3.3.3 Princip merjenja THg v posameznih vzorcih

Celokupno živo srebro smo analizirali s pomočjo atomske absorpcijske spektrometrije hladnih par (CV-AAS) (slika 11), ki je bila razvita in optimizirana na IJS (Horvat in sod., 1991).

CV-AAS je najpogosteje uporabljena tehnika za določanje Hg predvsem zaradi visoke občutljivosti, odsotnosti spektralnih interferenc, relativno nizkih stroškov upravljanja, enostavnosti in hitrosti.

CV-AAS temelji na redukciji ionskega živega srebra ( $Hg^{2+}$ ) v raztopini do elementarnega živega srebra ( $Hg^0$ ), ki se prenese v absorpcijsko celico atomskega absorpcijskega spektrometra, kjer meritev poteče pri valovni dolžini 253,7 nm. Deluje na principu dveh fotocelic, merilne in referenčne. Skozi merilno celico tečejo živosrebrove pare, ki spremenijo jakost svetlobe, ki pada nanje. Pojavlji se razlika v tokovih, ki tečejo skozi fotocelici. Tako posredno merimo razliko v absorpciji med merilno in referenčno fotocelico. Množino THg v posameznem vzorcu določimo iz višine absorpcijskega signala. Po odkritju te tehnike je prišlo do številnih sprememb metode, da bi postala bolj občutljiva in reproducibilna, da ne bi prihajalo do motenj, da bi bila čim bolj univerzalna in hitra. Najpomembnejša modifikacija je bila uvedba prekoncentracijskega koraka z amalgamacijo sproščenega Hg iz redukcijske celice na zlato past (Horvat in sod, 1991).



Slika 8: Shema sistema CVAAS (povzeto po Horvat in sod., 1991)

### 3.4 Določanje MMHg v vzorcih rib in drugih morskih organizmov

Določanje MMHg temelji na prehlapovanju MMHg v mikrodifuzijski celici z majhnim zračnim volumnom (Horvat in sod. 1990). Pri temperaturi 70°C se z delovanjem žveplene (VI) kisline na kalijev heksacianoferat (II) sprošča vodikov cianid. MMHg tako iz vzorca prehlapi v obliki cianida (MMHgCN) in hlapnih halogenidov (MMHgCl). V zunanjem delu mikrodifuzijske celice se MMHg veže na filtrirni papir, ki je impregniran s cisteinskim reagentom. Pri temperaturi 70°C žveplena kislina še ne hlapi, iz biološkega vzorca pa sprošča hlapne halogenske kisline. Cisteinski reagent mora zaradi hlapnih halogenskih kislin imeti primerno pufrsko kapaciteto, kar dosežemo z dodanim natrijevim citratom in natrijevim pirofosfatom v cisteinski reagent. Slednji prepreči oksidacijo cisteina v cistin.

MMHg nato z dodatkom kisline sprostimo iz cisteinskega papirčka. MMHg nato ekstrahiramo v toluen, pri čemer bakrovi ioni nadomestijo MMHg na papirčku. Toluen injiciramo v plinski kromatograf. Pri vzorcih z nižjimi koncentracijami MMHg uporabimo dvojno ekstrakcijo, s pomočjo katere se približamo kvantitativnemu prenosu MMHg. Čiščenje prve toluenske faze izvedemo z ekstrakcijo v cisteinski reagent in ponovno ekstrakcijo nakisane cisteinske faze v manjši volumen toluena. Sledi injiciranje toluenske faze v plinski kromatograf z detektorjem za zajetje elektronov (GC-ECD).

#### 3.4.1 Kemikalije, materiali in aparature, ki so potrebni pri določevanju MMHg

Pri postopku izolacije in določevanju MeHg v vzorcih smo uporabili naslednje kemikalije: trinatrijev citrat dekahidrat ( $\text{Na}_3\text{CH}_2(\text{COO})\text{C}(\text{COO})(\text{OH})\text{CH}_2\text{COO}\times 10\text{H}_2\text{O}$ ), kalijev heksacianoferat (II) trihidrat ( $\text{K}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6)\times 3\text{H}_2\text{O}$ ), L-cisteinijev klorid monohidrat (L- $\text{CH}_2(\text{SH})\text{CH}(\text{COO})\text{NH}_4\text{Cl}\times \text{H}_2\text{O}$  za biokemijske analize), bakrov (II) sulfat pentahidrat ( $\text{CuSO}_4\times 5\text{H}_2\text{O}$ ), kalijev bromid (KBr), tetranatrijev difosaft dekahidrat ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7\times 10\text{H}_2\text{O}$ ), natrijev klorid (NaCl), žveplovo (VI) kislino ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ , suprapur), klorovodikovo kislino ( $\text{HCl}$ , suprapur), dušikovo (V) kislino ( $\text{HNO}_3$ , suprapur), brezvodni natrijev sulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), toluen, benzen in Milli-Q deionizirano vodo (Milli-Q;  $> 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ , Millipore).

Materiali, ki smo jih uporabljali, so bili lij ločnik, steklene in keramične mikrodifuzijske (Conwayeve) celice s steklenimi pokrovi, ki so bili na eni strani obrušeni, filter papirčki, ekstrakcijske epruvete z brušenimi zamaški, bučke (50, 100 ml), polavtomatske pipete (0,01-5 ml) z nastavki, steklene merilne pipete, plastične in steklene Pasteurjeve pipete, kovinska in plastična pipeta, mikrosiringe (10 µl, Hamilton), stojala, septa za GC-ECD, zaščitne rokavice, aparature pa so bile mehanski stresalnik (ping-pong 400), centrifuga (Centric 322A), termostat-sušilnik, analitska tehtnica (Mettler PM460), plinski kromatograf (Hewlett-Packard model 5750) z detektorjem za zajetje elektronov [(Radioaktivni izvor:  $^{63}\text{Ni}$ , steklena kromatografska kolona dolžine 1,6 m z notranjim premerom 0,2 mm, napolnjena s Column Packing for Gas Chromatography (Hg-20A, Uniport HP 60/80 mesh)].

Za ekstrakcijo in detekcijo monometil živega srebra (MMHg) v treh različnih tkivih morskih bičev z metodo plinske kromatografije smo uporabili naslednje reagente:

- Cisteinski reagent

V 5 ml Milli-Q deionizirane vode smo snovi dodali v zaporedju:

0,065 g L-cisteinijevega klorida  $\times \text{H}_2\text{O}$

0,15 g  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \times 10 \text{ H}_2\text{O}$

2,0 g  $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \times 2\text{H}_2\text{O}$

- Nasičena raztopina  $\text{K}_4/\text{Fe}(\text{CN})_6$ /

V Milli-Q deionizirano vodo smo dodali  $\text{K}_4/\text{Fe}(\text{CN})_6 \times 3\text{H}_2\text{O}$  do nasičenja.

- 1% raztopina NaCl

V 99 g Milli-Q deionizirane vode smo raztopili 1 g NaCl.

- 8M  $\text{H}_2\text{SO}_4$

44 ml 96%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  smo razredčili z Milli-Q deionizirano vodo na 100 ml.

- 4M KBr

V 10 ml Milli-Q deionizirane vode smo raztopili 4,76 g KBr.

- 2M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  nasičena s  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$

11 ml 96%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  smo razredčili z Milli-Q deionizirano vodo na 100ml in dodajali  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  do nasičenja.

Reagente smo vsak dan pripravili na novo. Nekatere izmed njih smo zaradi velikih vsebnosti nečistoč pred uporabo prečistili s toluenom. Cisteinski reagent smo pred nanosom na filtrirne papirčke prečistili dvakrat, 4M raztopino KBr smo s toluenom prečistili petkrat, 2M  $H_2SO_4$  nasičeno s  $CuSO_4 \times 5H_2O$  pa trikrat. Na ta način smo v toluen ekstrahirali vse morebitne nečistoče, ki so prisotne v reagentih, in se tako izognili motnjam pri ločevanju kromatografskih vrhov in detekciji MMHg na GC-ECD.

Standardne raztopine - pri meritvah smo uporabljali 4 standardne raztopine z različnimi koncentracijami MMHg in EtHg. Vse standardne raztopine smo ponovno umerili tako, da smo pripravili novo standardno raztopino in z njeno pomočjo določili prave vsebnosti MMHg v ostalih standardnih raztopinah. Sklepali smo namreč, da je v starejših standardih prišlo do razpada MMHg in/ali do redčenja standardov s toluenom. Vsi standardi so bili pripravljeni v benzenu.

Koncentracije metil živega srebra (MMHg) v posameznih standardih so bile:

- **Std 1** : 0,09352  $\mu\text{g}/\text{ml}$  MMHg
- **Std 2** : 0,04115  $\mu\text{g}/\text{ml}$  MMHg
- **Std 3** : 0,02058  $\mu\text{g}/\text{ml}$  MMHg
- **Std 4** : 0,00706  $\mu\text{g}/\text{ml}$  MMHg.

### 3.4.2 Postopek za določevanje MMHga v vzorcih (slika 9)

Celokupne koncentracije Hg v vzorcih dajo premalo informacij o potencialni stopnji tveganja. MMHg kot najbolj pogosta organska oblika Hg je veliko bolj toksično kot anorgansko Hg (Hempel in sod., 1995). Zato smo v vzorcih izmerili tudi prisotnost MMHg.

Postopek za analizo MMHg v vzorcih rib in drugih morskih organizmov je predstavljen na sliki 9.

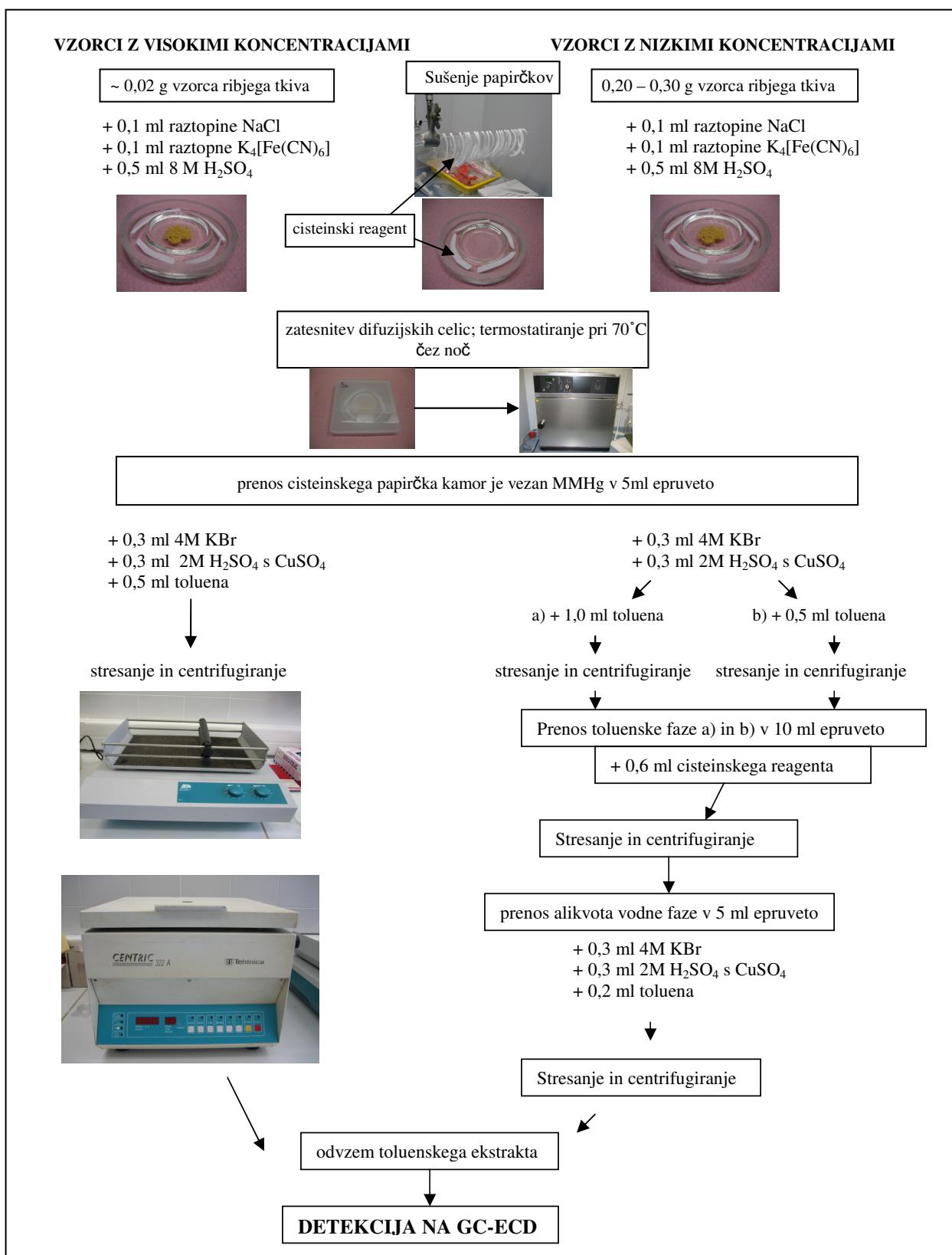
Prvi dan analize smo kolobarje filter papirja širine 3-5 mm omočili z 0,10-0,15 ml cisteinskega reagenta. Sušili smo jih približno eno uro in jih nato položili v zunanjji del mikrodifuzijske celice. Mikrodifuzijske celice so steklene ali keramične posodice s premerom 68 mm. Razdeljene so na zunanjji in notranji prostor. V notranji prostor smo natančno zatehtali približno 0,02 g liofiliziranega vzorca posameznega ribjega tkiva oziroma od 0,15-0,30 g svežega vzorca manjših rib in polžev, pri katerih smo pričakovali nižje koncentracije MMHg. Vzorcu smo dodali 0,1 ml nasičene raztopine  $K_4[Fe(CN)_6]$ , 0,1 ml 1% raztopine NaCl in 0,5 ml 8 M raztopine  $H_2SO_4$ . Preden smo mikrodifuzijsko celico pokrili, smo njen zunanjji brušeni rob omočili s koncentrirano  $H_2SO_4$ . Zatesnjene celice smo čez noč pustili v sušilniku pri temperaturi 70°C.

Ves čas smo delali v digestoriju, kjer ni prisotnih kislinskih hlapov, ki bi se lahko vezali na filtrirni papir in tako vplivali na izgube MMHg med postopkom.

Naslednji dan smo mikrodifuzijske celice vzeli iz sušilnika in počakali, da so se ohladile na sobno temperaturo. Posamezne filtrirne papirčke smo s pomočjo čiste pincete previdno prenesli v 3 ml epruvete z brušenim zamaškom. Dodali smo 0,3 ml 4M KBr, 0,3 ml 2M raztopine  $H_2SO_4$ , nasičene s  $CuSO_4$ , in 0,5 ml toluena. Dobro zamašene epruvete smo stresali 15 min pri 250-300 tresljajih/min in nato centrifugirali 10 min pri 2500 obratih/min. S stekleno Pasteurjevo pipeto smo odvzeli toluensko fazo in jo prenesli v steklene 2 ml epruvete z brušenim zamaškom ter injicirali v GC-ECD.

Pri dvojni ekstrakciji je bil postopek podoben. Filtrrnemu papirčku, kamor je vezan MMHg, smo dodali 0,3 ml 4M KBr, 0,3 ml 2M  $H_2SO_4$ , nasičene s  $CuSO_4$ , namesto 0,5 ml toluena pa 1 ml toluena. Sledil je postopek stresanja in centrifugiranja. S stekleno Pasteurjevo pipeto smo odvzeli največji možni volumen toluenske faze in jo prenesli v 10 ml epruveto z brušenim zamaškom. Preostali vodni fazi smo dodali 0,5 ml toluena ter ponovili postopek stresanja in centrifugiranja. Toluensko fazo smo dodali prvemu toluenskemu ekstraktu v 10 ml epruveti. V 10 ml epruveto s prvo in drugo toluensko fazo smo dodali 0,6 ml cisteinskega reagenta. Epruvete smo stresali 15 min na 250-300 tresljajih/min in nato centrifugirali 10 min pri 2500 obratih/min. S polavtomatsko pipeto smo odvzeli 0,5 ml spodnje vodne faze in jo prenesli v steklene 3 ml epruvete z brušenim

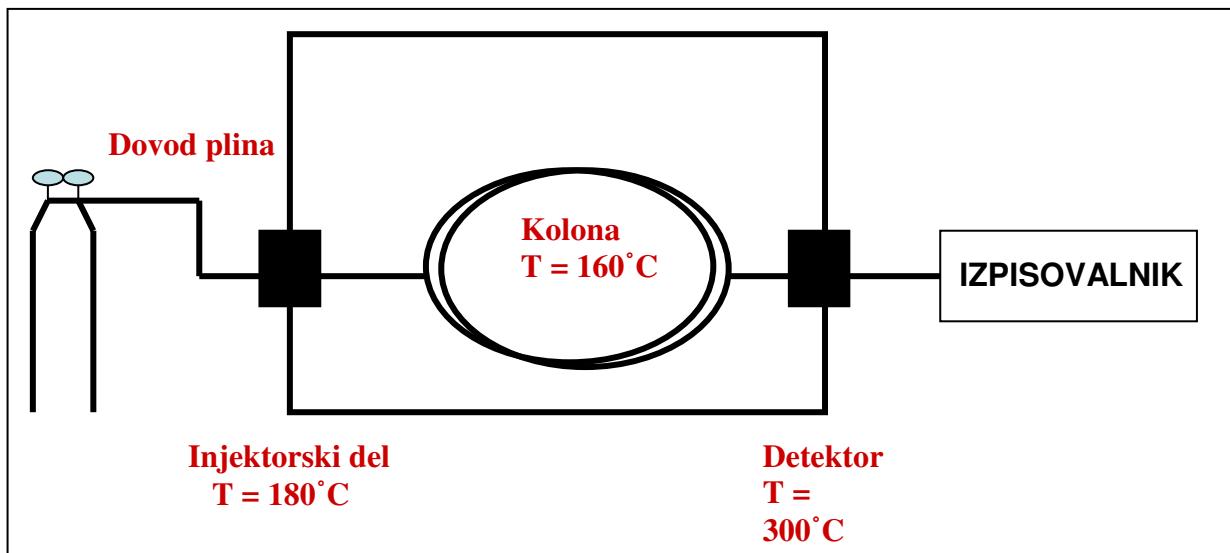
zamaškom. Vodni cisteinski fazi smo dodali 0,3 ml 4M KBr, 0,3 ml 2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> s CuSO<sub>4</sub> in 0,2 ml toluena. Sledilo je stresanje in centrifugiranje, odvzem toluenske faze ter detekcija MMHg s pomočjo GC-ECD.



Slika 9: Prikaz postopka analize MMHg s pomočjo enojne in dvojne ekstrakcije v tkivih rib

### 3.4.3 Princip merjenja z GC-ECD (plinskim kromatografom na zajetje elektronov) (slika 10)

V GC-ECD smo injicirali po 2  $\mu\text{l}$  toluenske faze. Odziv ECD je osnovan na nastanku negativnega iona eluirane spojine zaradi obsevanja z beta delci. Ob konstantnem pretoku skozi detektor radioaktivni izvor ( $^{63}\text{Ni}$ ) ionizira molekule nosilnega plina. Tako nastanejo elektroni in negativni ioni. Napetost, ki je priključena na elektrodah, daje konstanten tok. Ko se iz kolone eluira elektronegativna spojina in vstopi v detektor, nastane negativen ion. To zmanjša mobilnost elektronov in pojavi se padec konstantnega toka oz. padec napetosti, kar predstavlja ECD signal.



Slika 10: Shema plinskega kromatografa, povezanega z detektorjem in izpisovalnikom

Parametri GC-ECD - notranji premer steklene kolone je 2 mm, njena dolžina pa 160 cm. Napolnjena je s 5% DEGS – PS na Supelcoport 100-120 mesh, 5% Carbowax R 20M na Supelcoport 100-120 mesh in 5% PEGS na Diatomitu »C« 100-120 mesh. Mobilna faza pri merjenju s plinskim kromatografom za zajetje elektronov je dušik. Pretok dušika smo namestili na 60 ml/min, temperaturo injektorja smo nastavili na 180° C, temperaturo kolone na 160° C, temperaturo detektorja pa na 300° C.

Formula za izračun koncentracije MMHg v posameznem vzorcu je:

$$c_v = \frac{(h_v - h_{SL}) \times c_{ST} \times V_{OF}}{h_{ST} \times m_v} \quad (1)$$

$c_v$  – vsebnost MMHg v vzorcu ( $\mu\text{g/g}$ ),

$h_v$  – višina kromatografskega vrha za posamezen vzorec (mm),

$h_{SL}$  – povprečje višin kromatografskih vrhov za slepi poskus (mm),

$c_{ST}$  – koncentracija MeHg v standardni raztopini ( $\mu\text{g/ml}$ ),

$V_{OF}$  – volumen organske faze (ml),

$h_{ST}$  – povprečje višin kromatografskih vrhov za standardno raztopino (mm),

$m_v$  – masa zatehtanega vzorca.

### 3.4.4 Kontrola kakovosti analiz

Analizne rezultate oziroma natančnost določitve THg in MMHg v vzorcih smo sproti preverjali:

1. z analizami certificiranih referenčnih materialov (CRM),
2. z uporabo paralelk,
3. s preverjanjem čistosti reagentov in posode.

Kontrolo kakovosti analiz smo opravljali sproti z natančno določenimi vsebnostmi THg in MMHg v CRM. Za kontrolo analiz THg obstajajo številni referenčni materiali različnega izvora. Narejeni so na podlagi abiotskih (primer sedimenti) in biotskih matric, katerih osnova so rastlinski material in različna živalska tkiva. Uporabljali smo referenčni material DORM-2 (dogfish muscle), DOLT-3 (dogfish liver) in IAEA-350 (tuna fish homogenate) (tabela 10). Vsebnost THg in MMHg v izbranih certificiranih referenčnih materialih smo izmerili pred vsako serijo meritev vzorcev, s čimer smo zagotovili kontrolo natančnosti analiznega postopka in pravilnosti določitve koncentracij THg in MMHg v vzorcih.

Tabela 10: Uporabljeni certificirani referenčni materiali (CRM), njihova certificirana vrednost in proizvajalec.(Legenda: NRCC – National Research Council Canada, IAEA-MEL – International Atomic Energy Agency – Marine Environmental Laboratory) Certificirane vrednosti za MMHg in THg so v  $\pm 95\%$  intervalu zaupanja (preračunano glede na suho maso)

| <b>proizvajalec</b> | <b>CRM Code No.</b> | <b>matriks</b>         | <b>MMHg (mg/kg st)</b> | <b>THg (mg/kg st)</b> |
|---------------------|---------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| NRCC                | DOLT-1              | Dogfish Liver          | 0,080 $\pm$ 0,011      | 0,225 $\pm$ 0,037     |
| NRCC                | DORM-2              | Dogfish Muscle         | 4,47 $\pm$ 0,032       | 4,64 $\pm$ 0,26       |
| NRCC                | TORT-2              | Lobster Hepatopancreas | 0,152 $\pm$ 0,013      | 0,27 $\pm$ 0,06       |
| IAEA-MEL            | IAEA-350            | Tuna Fish Homogenate   | 3,65 $\pm$ 0,35        | 4,68 $\pm$ 0,28       |

Vse vzorce smo analizirali v paralelkah, kar pomeni, da smo pripravili dve razkrojni raztopini z odtehtami istega vzorca. Istočasno z vsako serijo analiz vzorcev smo pripravili še po 2 slepa vzorca (»blanks«) z razkrojnimi reagenti. Količine ustreznih oblik Hg v vsaki paralelki smo izmerili najmanj dvakrat. Za končni izračun količine elementa v vzorcu smo uporabljali povprečje podatkov za vsako paralelko oziroma povprečje koncentracij, ugotovljenih v vsakem posameznem vzorcu. Vsi končni rezultati predstavljajo srednje vrednosti količin analiziranega elementa v večih paralelkah in so podani kot povprečje med večimi meritvami posameznih razkrojnih raztopin vzorcev. Variacije med paralelkami istih analiznih vzorcev so običajno posledica nekoliko slabše homogenizacije tkiv.

### 3.4.5 Statistična obdelava podatkov

Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili programski paket Microsoft Office Excel 2003 z dodatnim paketom *Analyze It* in statistični programski paket SPSS.

S pomočjo SPSS programa smo si najprej ogledali porazdelitev koncentracij THg in MMHg. Krivulja normalne porazdelitve je tako pri koncentracijah MMHg kot pri koncentracijah THg pomaknjena nekoliko v levo, kar kaže na lognormalno porazdelitev podatkov, ki je najverjetenje posledica premajhnega vzorca. Dobljene podatke smo logaritmirali in se približali normalni porazdelitvi.

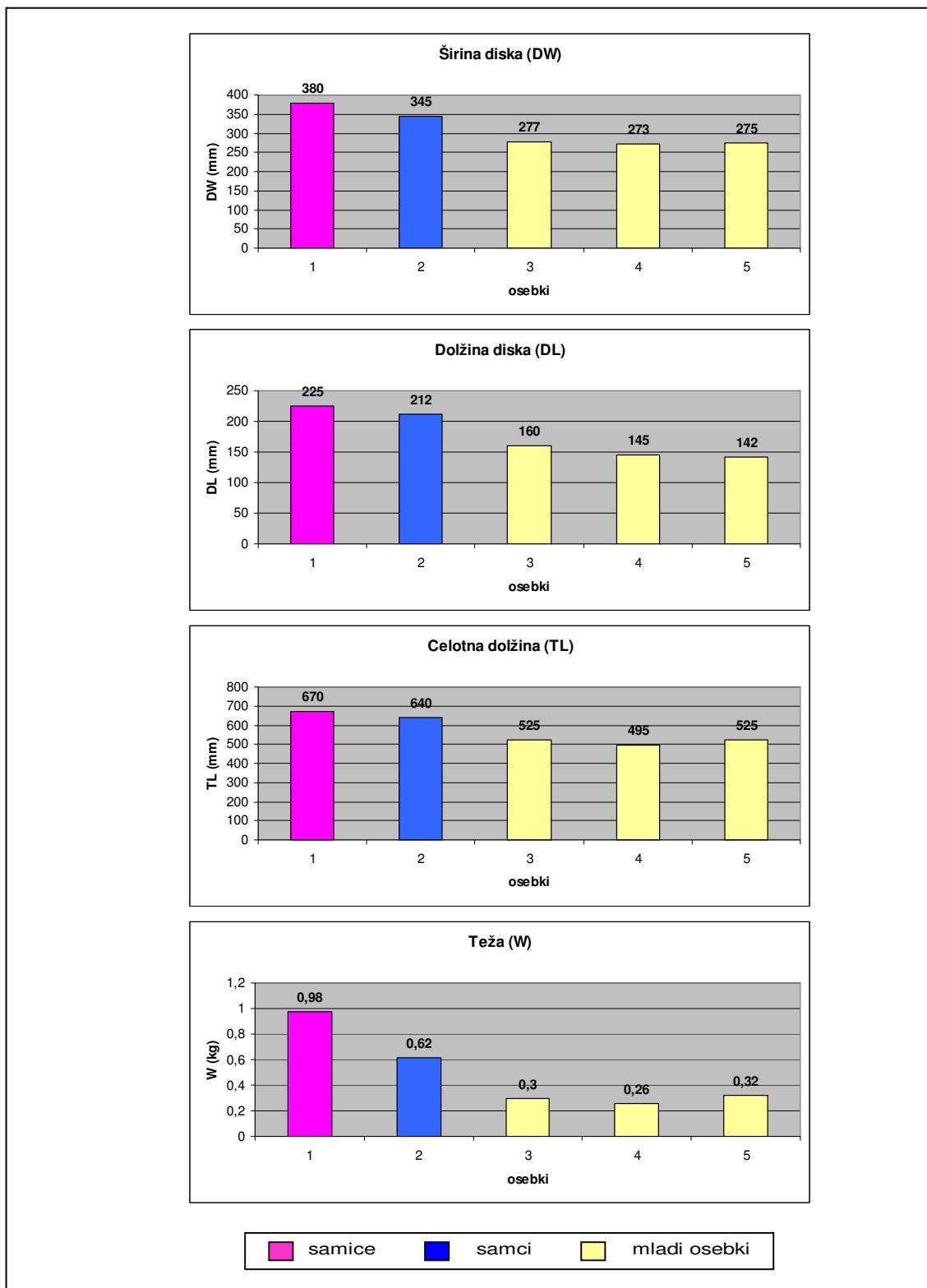
Koncentracije THg in MMHg smo primerjali z nekaterimi biometričnimi podatki, in sicer: širino diska, dolžino diska, celotno dolžino živali in težo. Med temi parametri smo s pomočjo Pearsonovega korelacijskega koeficiente preverili medsebojne korelacije in statistično značilnost ozziroma statistično neznačilnost med posameznimi spremenljivkami. Rezultate smo nato grafično ponazorili s pomočjo Excela. S pomočjo programskega paketa SPSS smo naredili tudi neodvisni T-test, s katerim smo ugotavljali statistično različne koncentracije THg in MMHg v tkivih pri samcih in samicah kljunatega morskega goloba.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Biometrija

#### 4.1.1 Navadni morski golob

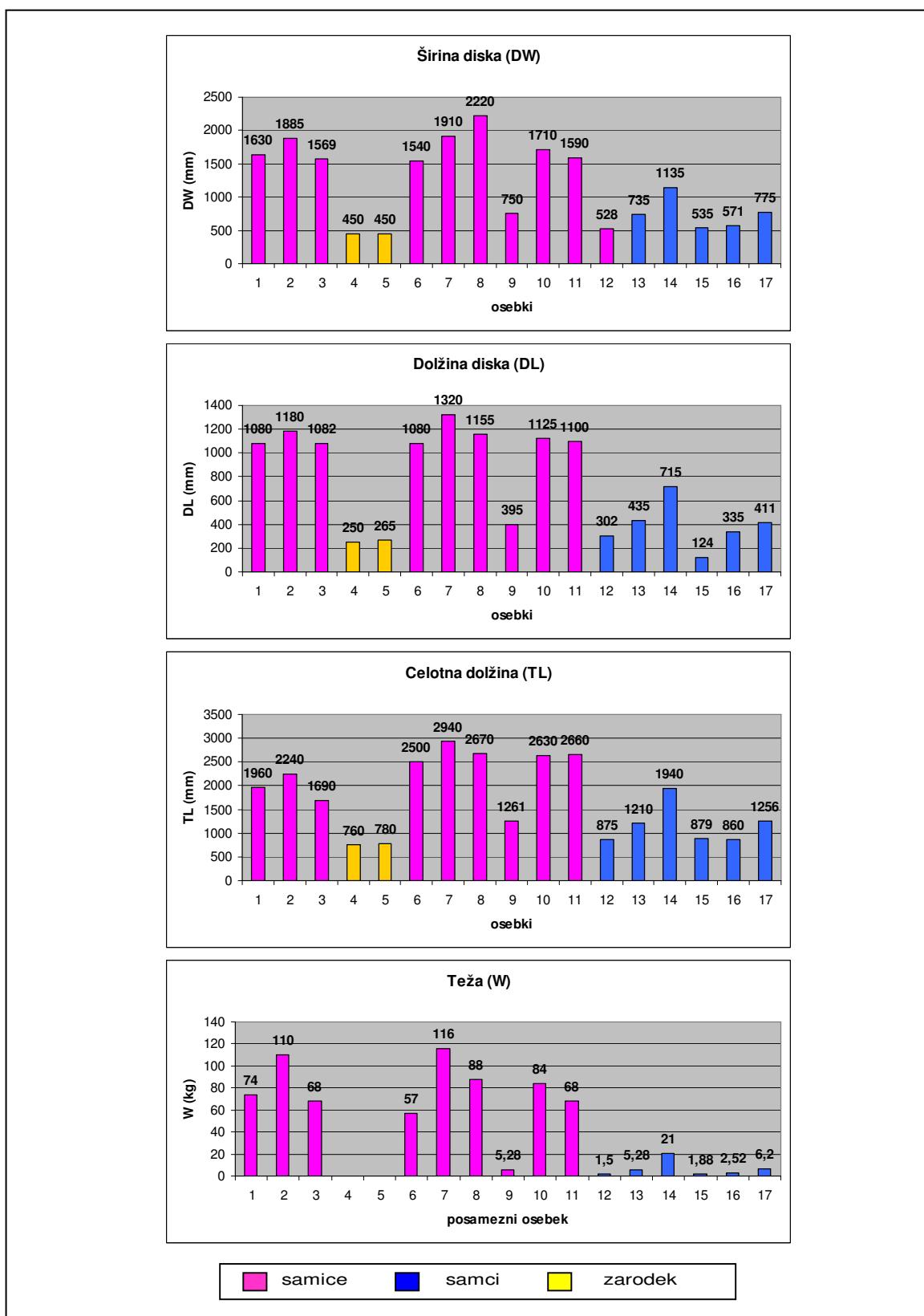
Na voljo smo imeli 5 osebkov, 1 samico, 1 samca in 3 mlade. Delež odraslih osebkov je bil 40%. Širina diska pri navadnih morskih golobih je merila od 273 mm do 380 mm (~ 310 mm  $\pm$  49,52 mm), dolžina diska je bila od 142 mm do 225 mm (~ 176 mm  $\pm$  38,94 mm), celotna dolžina pa od 495 mm do 670 mm (~ 571 mm  $\pm$  78,37 mm). Živali so tehtale od 0,26 kg do 0,98 kg (~ 0,50 kg  $\pm$  0,31 kg). Biometrični podatki, spol in lokacija ulova za posamezni osebek so natančno prikazani v tabeli 5. Biometrični podatki za posamezen osebek so grafično prikazani na sliki 11.



Slika 11: Biometrija navadnih morskih golobov

#### 4.1.2 Kljunati morski golob

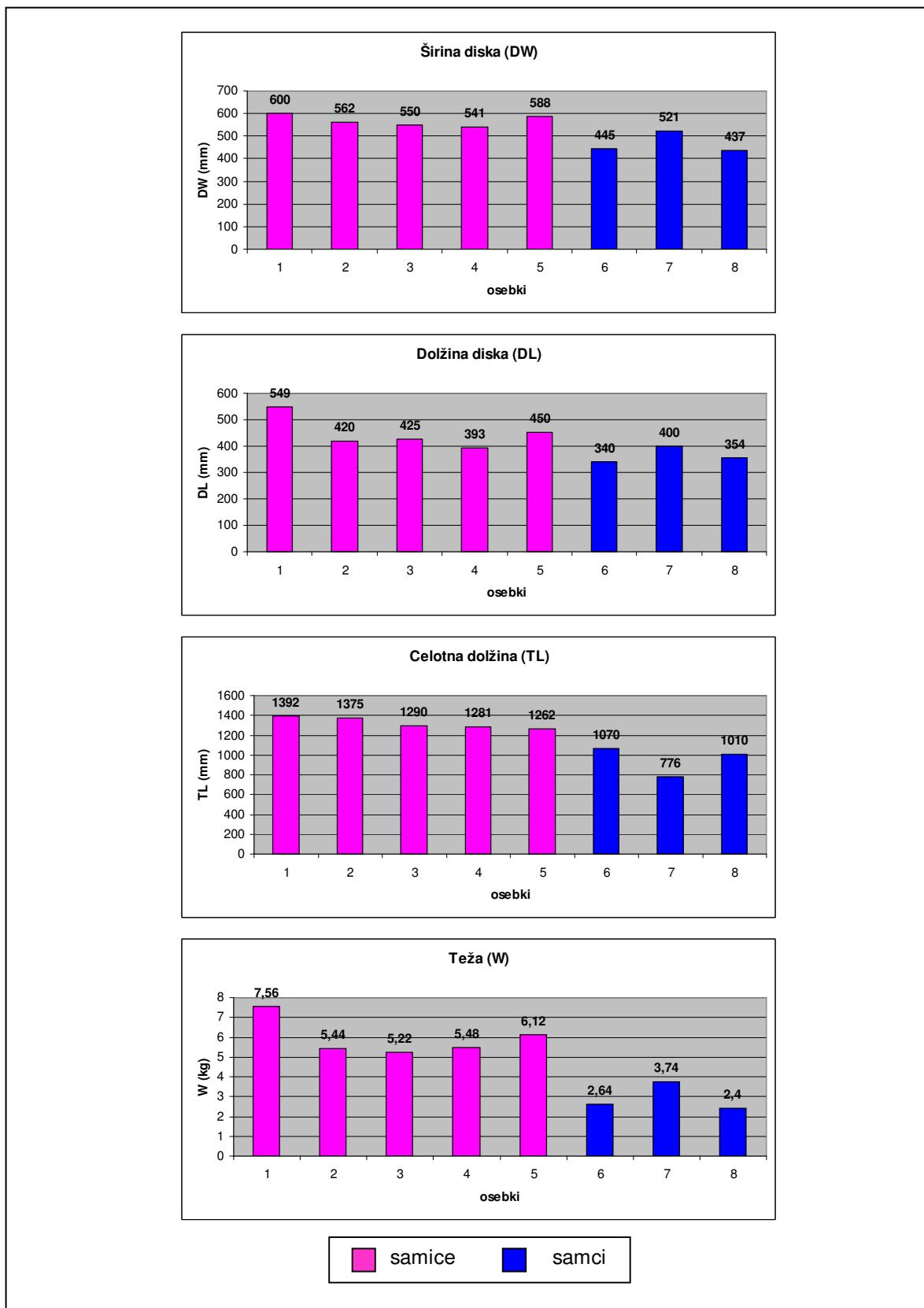
Na voljo smo imeli 17 osebkov kljunatega morskega goloba, med njimi 9 samic, 6 samcev (1 izmed njih je bil mlad) in 2 zarodka. Širina diska je bila od 450 mm do 2220 mm ( $\sim 1175 \text{ mm} \pm 606 \text{ mm}$ ), dolžina diska je bila od 124 mm do 1320 mm ( $\sim 727 \text{ mm} \pm 422 \text{ mm}$ ), celotna dolžina pa od 760 mm do 2940 mm ( $\sim 1714 \text{ mm} \pm 806 \text{ mm}$ ). Živali so tehtale od 1,5 kg do 116 kg ( $\sim 47 \text{ kg} \pm 43 \text{ kg}$ ). Biometrični podatki, spol in lokacija ulova za posamezen osebek so natančno prikazani v tabeli 6 in tabeli 7. Na sliki 12 so biometrični podatki za vsak osebek predstavljeni tudi grafično.



Slika 12: Biometrija kljunatih morskih golbov

#### 4.1.3 Vijoličasti morski bič

Na voljo smo imeli 8 osebkov vijoličastih morskih bičev, 5 odraslih samic in 3 odrasle samce. Širina diska pri vijoličastem morskem biču je merila od 437 mm do 600 mm ( $\sim 530,5 \text{ mm} \pm 60,67 \text{ mm}$ ), dolžina diska je bila od 340 mm do 549 mm ( $\sim 416,38 \text{ mm} \pm 64,75 \text{ mm}$ ), celotna dolžina pa od 1010 mm do 1392 mm ( $\sim 1240 \text{ mm} \pm 145,94 \text{ mm}$ ). Živali so tehtale od 2,40 kg do 7,56 kg ( $\sim 4,83 \text{ kg} \pm 1,77 \text{ kg}$ ). Biometrični podatki, spol in lokacija ulova za posamezen osebek so natančno prikazani v tabeli 8. Na sliki 13 so biometrični podatki predstavljeni tudi grafično.



Slika 13: Biometrija vijoličastih morskih bičev

#### 4.1.4 Navadni morski bič

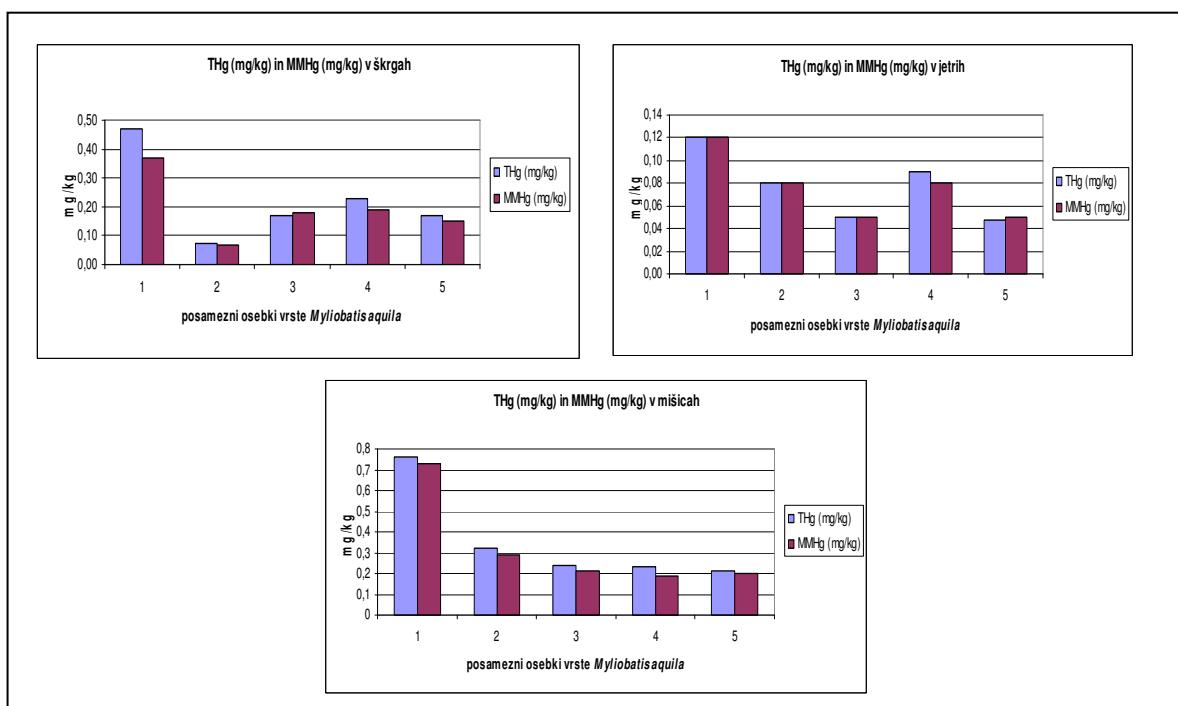
Imeli smo le en osebek odraslega navadnega morskega biča. Širina diska je merila 455 mm, dolžina diska je bila 367 mm, celotna dolžina pa 788 mm. Tehtal je 4 kg.

## 4.2 Vsebnosti THg in MMHg

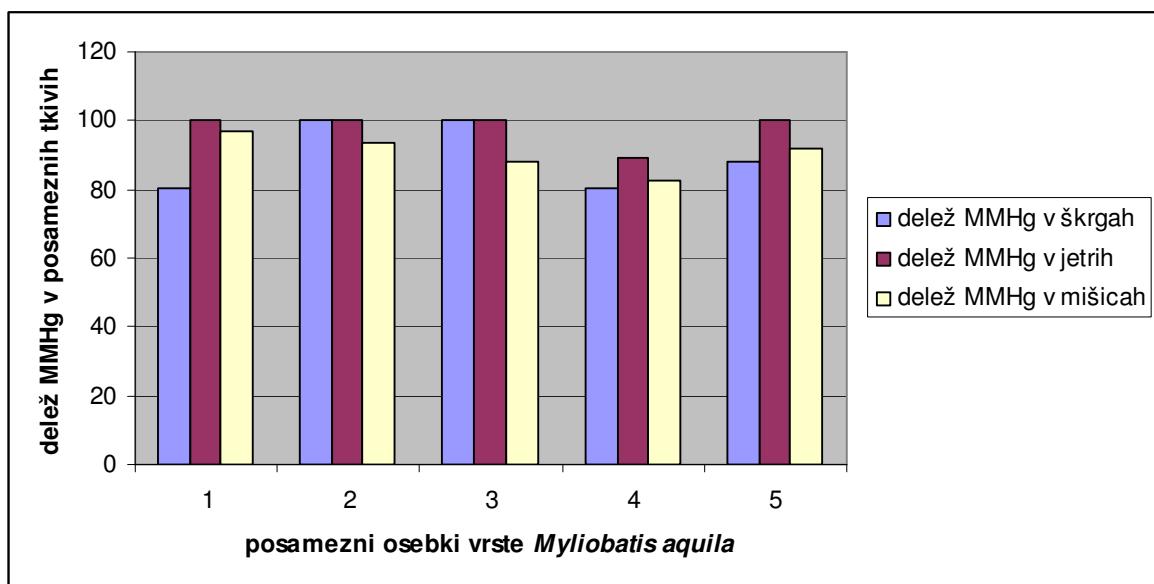
### 4.2.1 Navadni morski golob

Pri 5 osebkih navadnega morskega goloba smo izmerili koncentracije THg in MMHg v škrghah, jetrih in mišicah. Koncentracije THg so v škrghah znašale od 0,032 do 0,151 mg/kg mt (0,083 mg/kg mt  $\pm$  0,045), v jetrih od 0,026 do 0,075 mg/kg mt (0,045 mg/kg mt  $\pm$  0,020) in v mišicah od 0,051 do 0,183 mg/kg mt (0,086 mg/kg mt  $\pm$  0,056). Koncentracije MMHg so v škrghah znašale od 0,051 do 0,121 mg/kg mt (0,077 mg/kg mt  $\pm$  0,028), v jetrih od 0,032 do 0,082 mg/kg mt (0,056 mg/kg mt  $\pm$  0,021) in v mišicah od 0,046 do 0,178 mg/kg mt (0,080 mg/kg mt  $\pm$  0,056).

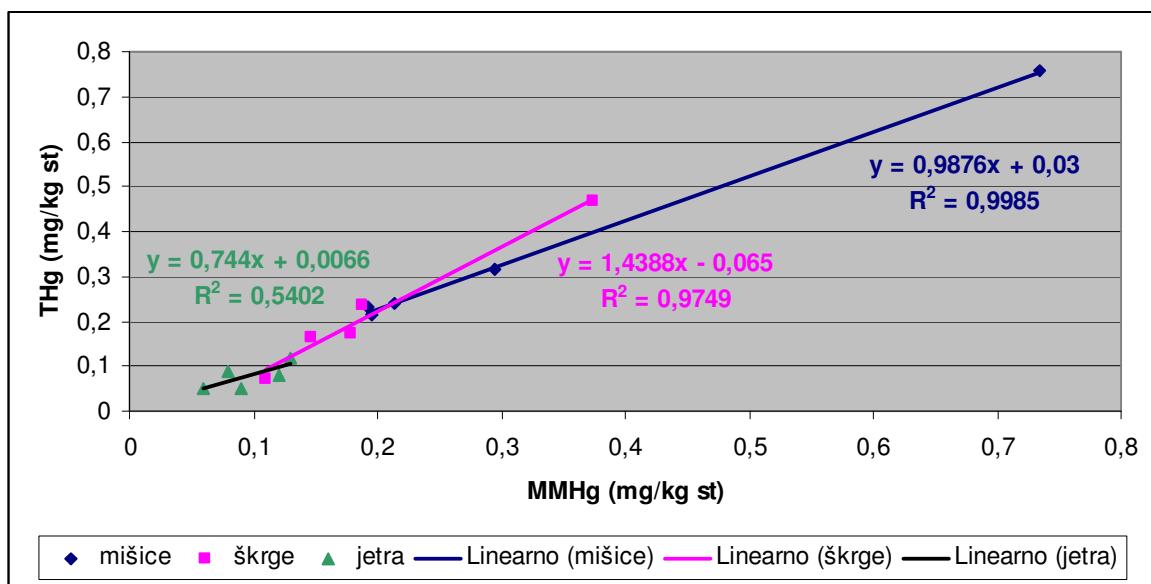
Vsi rezultati so prikazani v tabeli 11. Podani so glede na mg/kg suhe teže in na mg/kg mokre teže. V tabeli 15 so prikazani deleži MMHg za posamezno tkivo. Koncentracije v posameznih osebkih so grafično predstavljene na sliki 14. Na sliki 15 so grafično prikazani tudi deleži MMHg v vseh treh tkivih. Vrednosti maksimalnih in minimalnih koncentracij THg in MMHg, povprečne vrednosti in standardni odkloni so prikazani v tabeli 18 na koncu tega poglavja. S pomočjo tabele 18 lahko primerjamo vse vrste med seboj.



Slika 14: Prikaz grafov, kjer so predstavljene koncentracije THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kgst) v posameznih tkivih navadnega morskega goloba (n=5)



Slika 15: Deleži MMHg [MMHg (mg/kg)/THg (mg/kg)] v škrghah, jetrih in mišicah navadnega morskega goloba, ki so predstavljeni za vsak osebek posebej (n=5)



Slika 16: Odnos med THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v škrghah, jetrih in mišicah pri navadnem morskem golobu. (n=5)

Na sliki 16 so prikazani odnosi med THg in MMHg v posameznih tkivih. Vidimo tri linearne premice za mišice, škrge in jetra. V mišicah in škrghah je odnos med THg in MMHg zelo dober,  $R^2$  je skoraj 1, medtem ko je v jetrih odnos med THg in MMHg slabši.

Tabela 11: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih navadnih morskih golobov (*Myliobatis aquila*), delež MMHg v vzorcih ter podatki o širini diska (DW) (mm), dolžini diska (DL) (mm), celotni dolžini (TL) (mm), teži (W) (kg) in spolu

| zap.št.               | vzorec | ŠKRGE      |            |            |           |      |                      | JETRA                |                       |                       |           |                      |                      | MIŠICE                |                       |           |                      |                      |                       |                       |           |
|-----------------------|--------|------------|------------|------------|-----------|------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|
|                       |        | DW<br>(mm) | DL<br>(mm) | TL<br>(mm) | W<br>(kg) | spol | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg |
| 1                     | 025 MA | 380        | 225        | 670        | 0,98      | f    | 0,467                | 0,151                | 0,374                 | 0,121                 | 80,18     | 0,12                 | 0,075                | 0,13                  | 0,082                 | 108,33    | 0,756                | 0,183                | 0,734                 | 0,178                 | 97,14     |
| 2                     | 028 MA | 345        | 212        | 640        | 0,62      | m    | 0,07                 | 0,032                | 0,11                  | 0,051                 | 100       | 0,08                 | 0,05                 | 0,12                  | 0,075                 | 100       | 0,316                | 0,082                | 0,295                 | 0,076                 | 93,47     |
| 3                     | 035 MA | 277        | 160        | 525        | 0,3       | j    | 0,171                | 0,087                | 0,178                 | 0,09                  | 104,36    | 0,051                | 0,029                | 0,09                  | 0,052                 | 100       | 0,242                | 0,057                | 0,213                 | 0,051                 | 87,9      |
| 4                     | 044 MA | 273        | 145        | 495        | 0,26      | j    | 0,234                | 0,077                | 0,188                 | 0,062                 | 80,48     | 0,089                | 0,043                | 0,08                  | 0,038                 | 88,98     | 0,233                | 0,055                | 0,192                 | 0,046                 | 82,3      |
| 5                     | 061 MA | 275        | 142        | 525        | 0,32      | j    | 0,166                | 0,069                | 0,146                 | 0,061                 | 88,26     | 0,05                 | 0,026                | 0,06                  | 0,032                 | 100       | 0,213                | 0,051                | 0,196                 | 0,047                 | 92,11     |
| povprečna<br>vrednost |        | 310,00     | 176,80     | 571,00     | 0,50      |      | 0,22                 | 0,08                 | 0,20                  | 0,08                  | 90,66     | 0,08                 | 0,04                 | 0,10                  | 0,06                  | 99,46     | 0,35                 | 0,09                 | 0,33                  | 0,08                  | 90,58     |
|                       |        | 49,52      | 38,94      | 78,37      | 0,31      |      | 0,15                 | 0,04                 | 0,10                  | 0,03                  | 11,11     | 0,03                 | 0,02                 | 0,03                  | 0,02                  | 6,88      | 0,23                 | 0,06                 | 0,23                  | 0,06                  | 5,69      |

#### 4.2.2 Kljunati morski golob

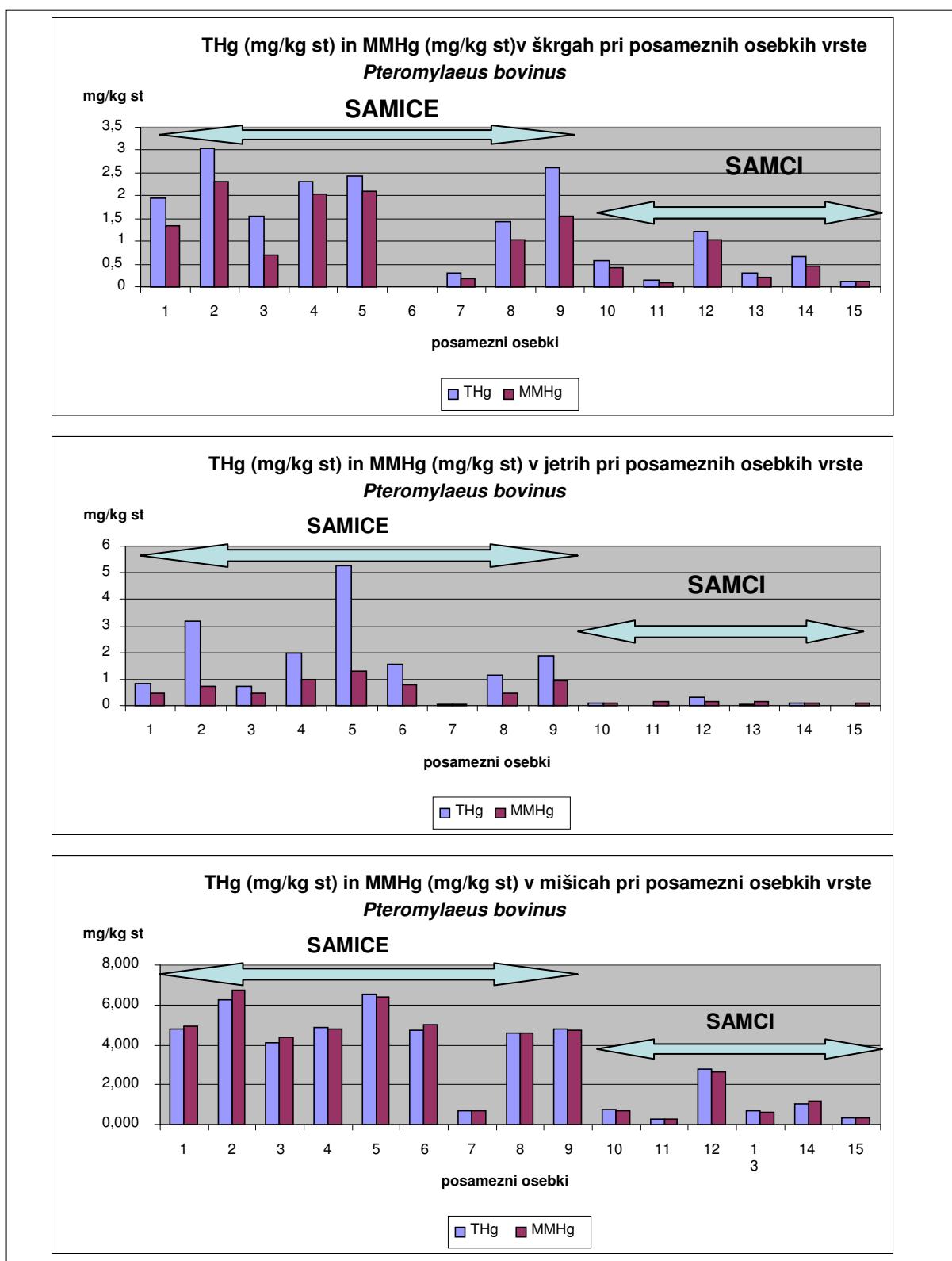
Pri 17 primerkih kljunatega morskega goloba smo izmerili koncentracije THg in MMHg v škrgah, jetrih in mišicah. V škrgah so koncentracije THg znašale od 0,031 do 0,669 mg/kg mt (0,265 mg/kg mt  $\pm$  0,207), v jetrih od 0,015 do 3,297 mg/kg mt (0,657 mg/kg mt  $\pm$  0,906) in v mišicah od 0,061 do 1,788 mg/kg mt (0,770 mg/kg  $\pm$  0,645). Koncentracije THg so pri samcih v škrgah znašale od 0,031 do 0,274 mg/kg mt (0,131 mg/kg mt  $\pm$  0,092), v jetrih od 0,015 do 0,198 mg/kg mt (0,072 mg/kg mt  $\pm$  0,068) in v mišicah od 0,084 do 0,781 mg/kg mt (0,272 mg/kg mt  $\pm$  0,261), pri samicah pa v škrgah od 0,067 do 0,669 mg/kg mt (0,415 mg/kg mt  $\pm$  0,184), v jetrih od 0,039 do 3,297 mg/kg mt (1,188 mg/kg mt  $\pm$  0,982) in v mišicah od 0,188 do 1,788 mg/kg mt (1,259 mg/kg mt  $\pm$  0,459). Analize THg pri dveh zarodkih so v škrgah znašale 0,062 in 0,077 mg/kg mt, v jetrih 0,025 in 0,020 mg/kg mt, v mišicah pa 0,061 in 0,065 mg/kg mt.

Pri vseh 17 osebkih smo izmerili tudi koncentracije MMHg, ki so v škrgah znašale od 0,017 do 0,512 mg/kg mt (0,192 mg/kg mt  $\pm$  0,157), v jetrih od 0,015 do 0,826 mg/kg mt (0,267 mg/kg mt  $\pm$  0,253) in v mišicah od 0,053 do 1,856 mg/kg mt (0,778 mg/kg mt  $\pm$  0,661). Koncentracije MMHg so pri samcih v škrgah znašale od 0,017 do 0,23 mg/kg mt (0,099 mg/kg mt  $\pm$  0,076), v jetrih od 0,055 do 0,118 mg/kg mt (0,0845 mg/kg mt  $\pm$  0,025) in v mišicah od 0,08 do 0,747 mg/kg mt (0,265 mg/kg mt  $\pm$  0,252), pri samicah pa v škrgah od 0,038 do 0,51 mg/kg mt (0,296 mg/kg mt  $\pm$  0,156), v jetrih od 0,046 do 0,826 mg/kg mt (0,445 mg/kg mt  $\pm$  0,226) in v mišicah od 0,187 do 1,856 mg/kg mt (1,281 mg/kg mt  $\pm$  0,470).

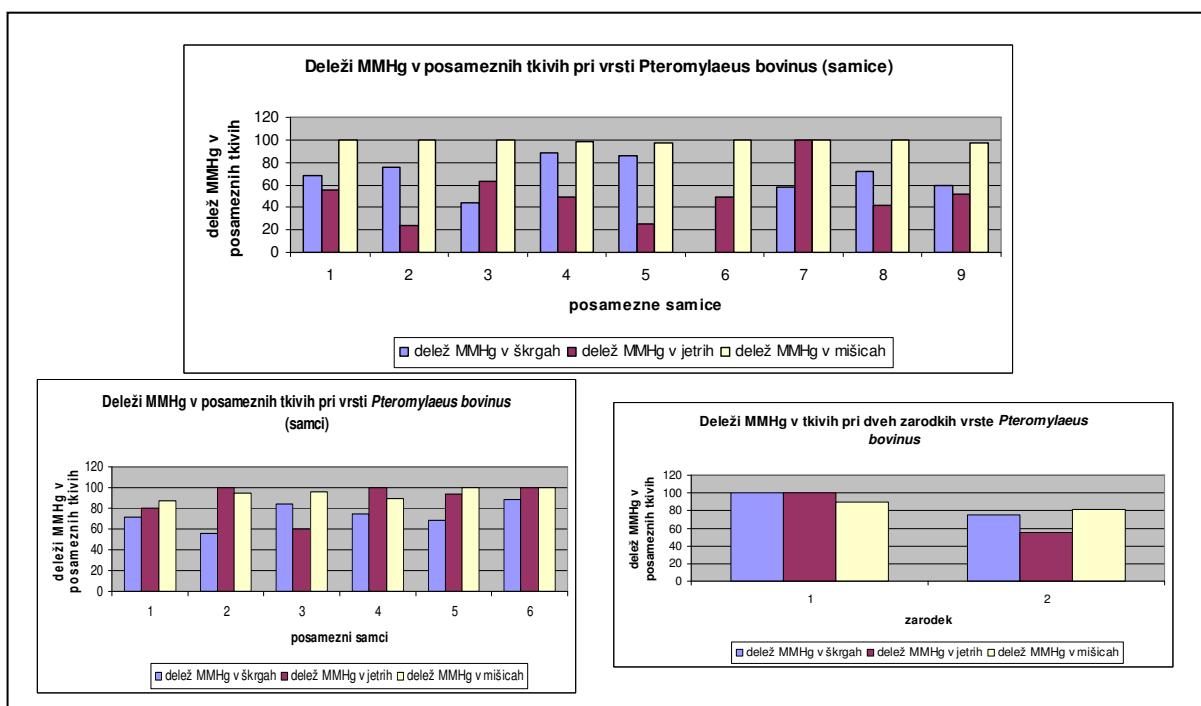
Analize MMHg v dveh zarodkih so znašale 0,062 in 0,057 mg/kg mt v škrgah, 0,019 in 0,014 mg/kg mt v jetrih ter 0,055 in 0,053 mg/kg mt v mišicah.

Kljunate morske golobe smo razdelili na tri skupine: samice, samci in zarodka. V tabeli 12a so prikazani vsi rezultati THg in MMHg za posamezne samice, v tabeli 12b za posamezne samce in v tabeli 12c za oba zarodka. Vsi rezultati so podani na suho in mokro težo. V tabeli 16a so izračunani deleži v posameznih tkivih pri samicah in samcih, v tabeli 16b pa v obeh zarodkih. Koncentracije THg in MMHg pri posameznih osebkih so

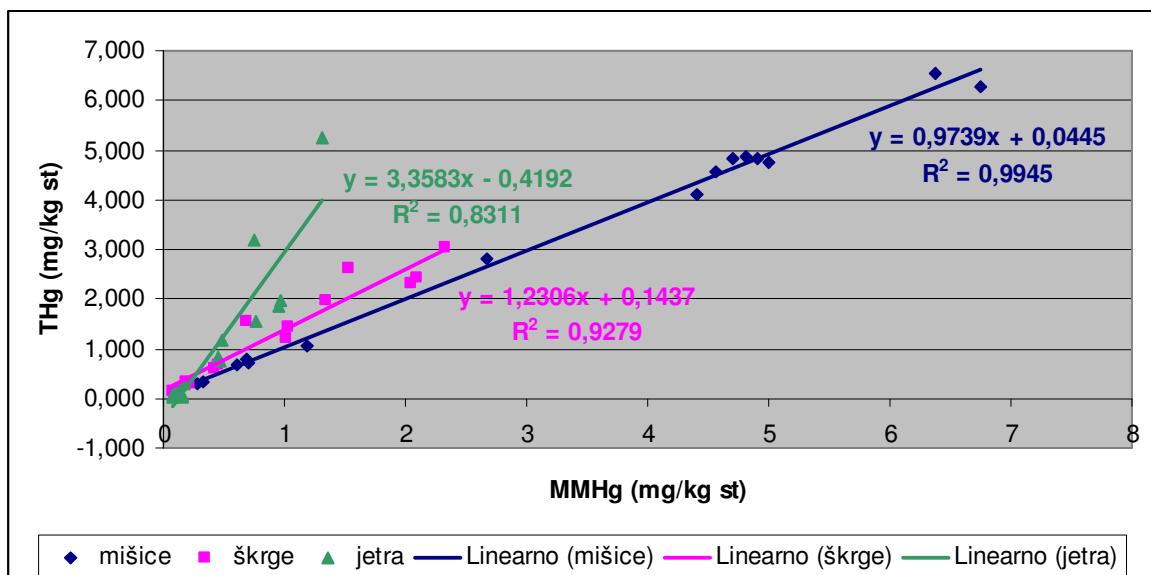
predstavljene v obliki histogramov na sliki 17. Iz te slike so razvidne očitne razlike v koncentracijah med samci in samicami. Deleži MMHg za posamezne osebke v vseh treh tkivih so vidni na sliki 18. Na slikah 20, 21, 22 in 23 so prikazani grafi koncentracij THg in MMHg v vseh treh tkivih glede na DW, DL, TL in W pri kljunatem morskem golobu. Iz grafov je razvidno, da koncentracije THg in MMHg v škrghah in mišicah linearno naraščajo z DW, DL, TL in W. Zanimiv je odnos THg in MMHg v jetrih. Pri določeni koncentraciji THg narašča hitreje kot MMHg, kar je lepo razvidno iz grafov na naslednjih straneh. Vrednosti maksimalnih in minimalnih koncentracij THg in MMHg, povprečne vrednosti in standardni odkloni so prikazani v tabeli 18 na koncu tega poglavja. Z njeno pomočjo lahko zelo enostavno primerjamo vse vrste med seboj.



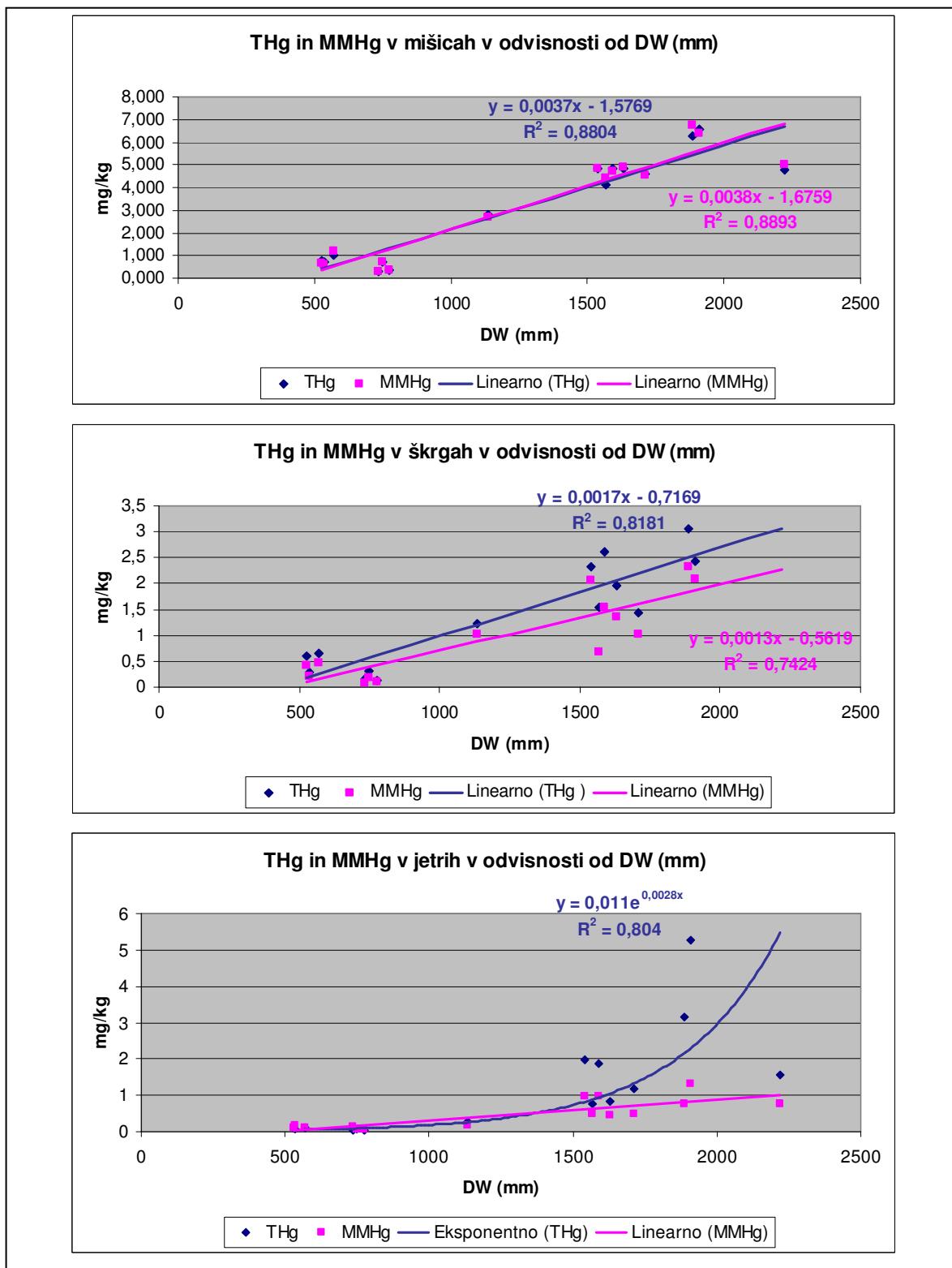
Slika 17: Prikaz grafov s koncentracijami THg (mg/kg st.) in MMHg (mg/kg st.) v posameznih tkivih kljunatega morskega goloba (n=17)



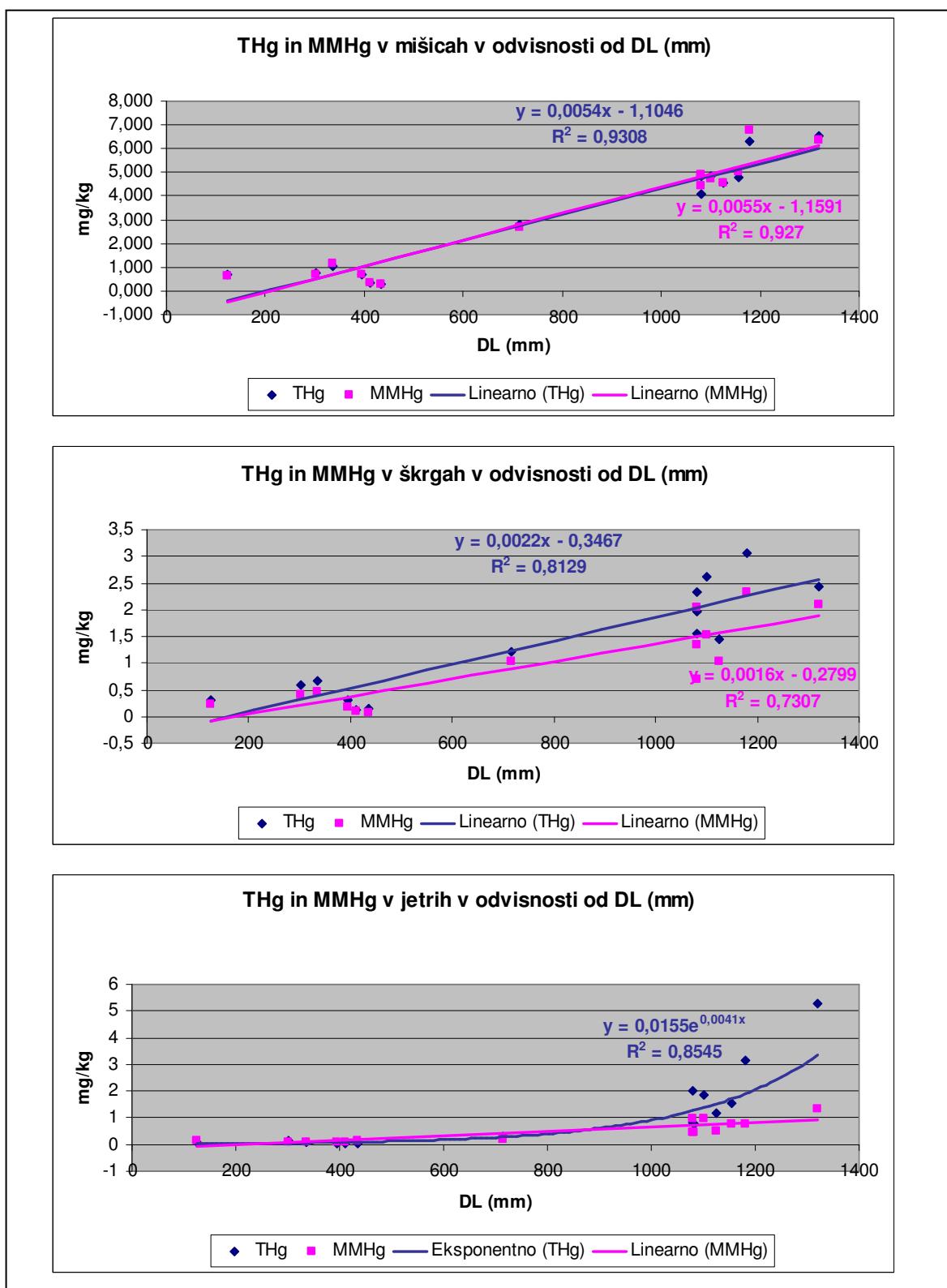
Slika 18: Deleži MMHg [MMHg (mg/kg)/THg (mg/kg)] v škrghah, jetrih in mišicah kljunatega morskega goloba, ki so predstavljeni za vsak osebek posebej; za lažjo predstavo so grafi za samice, samce in dva zarodka prikazani ločeno (n=17)



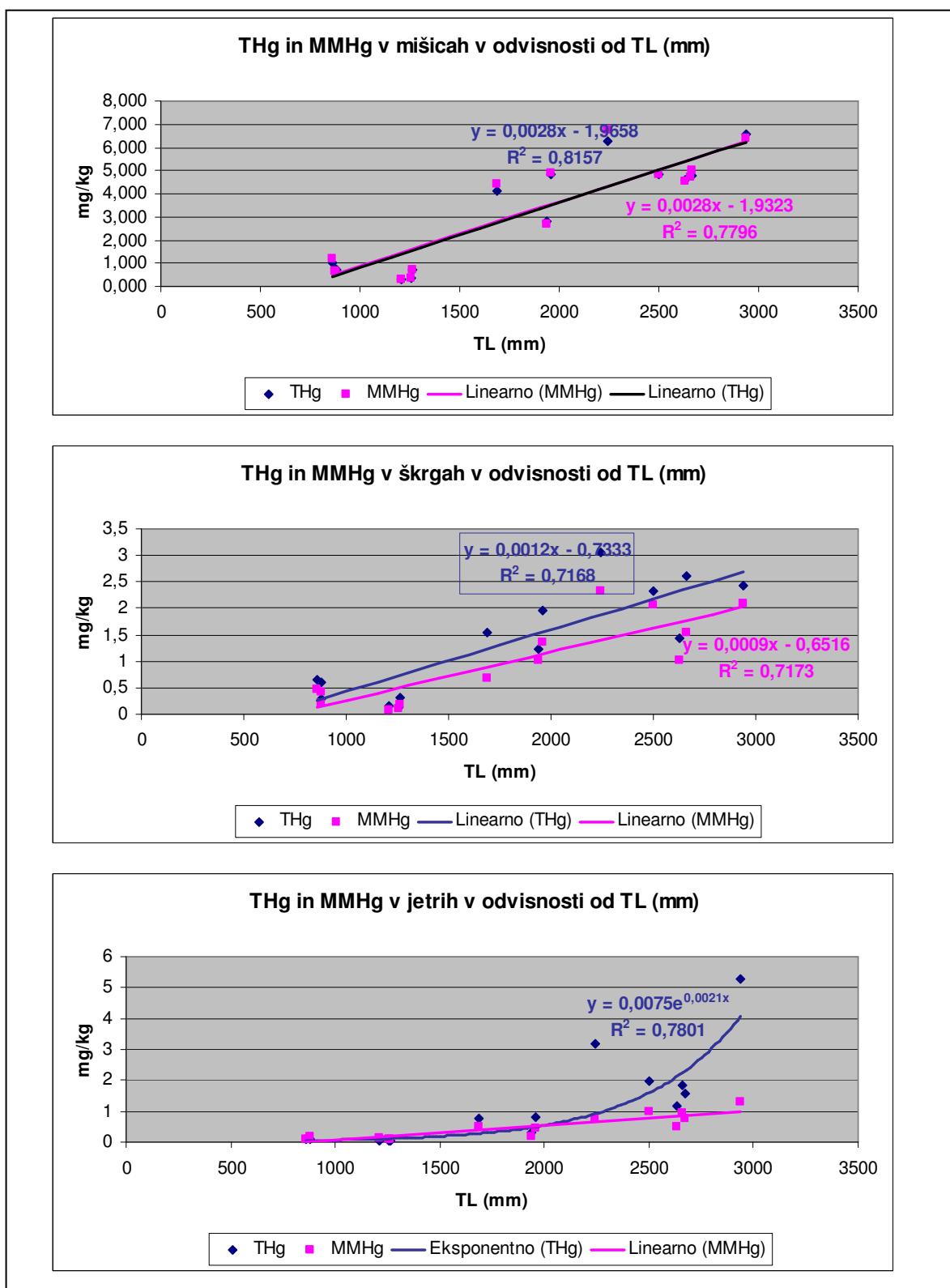
Slika 19: Odnos med THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v škrghah, jetrih in mišicah pri kljunatem morskem golobu (n=15 za škrge in n=16 za jetra in škrge)



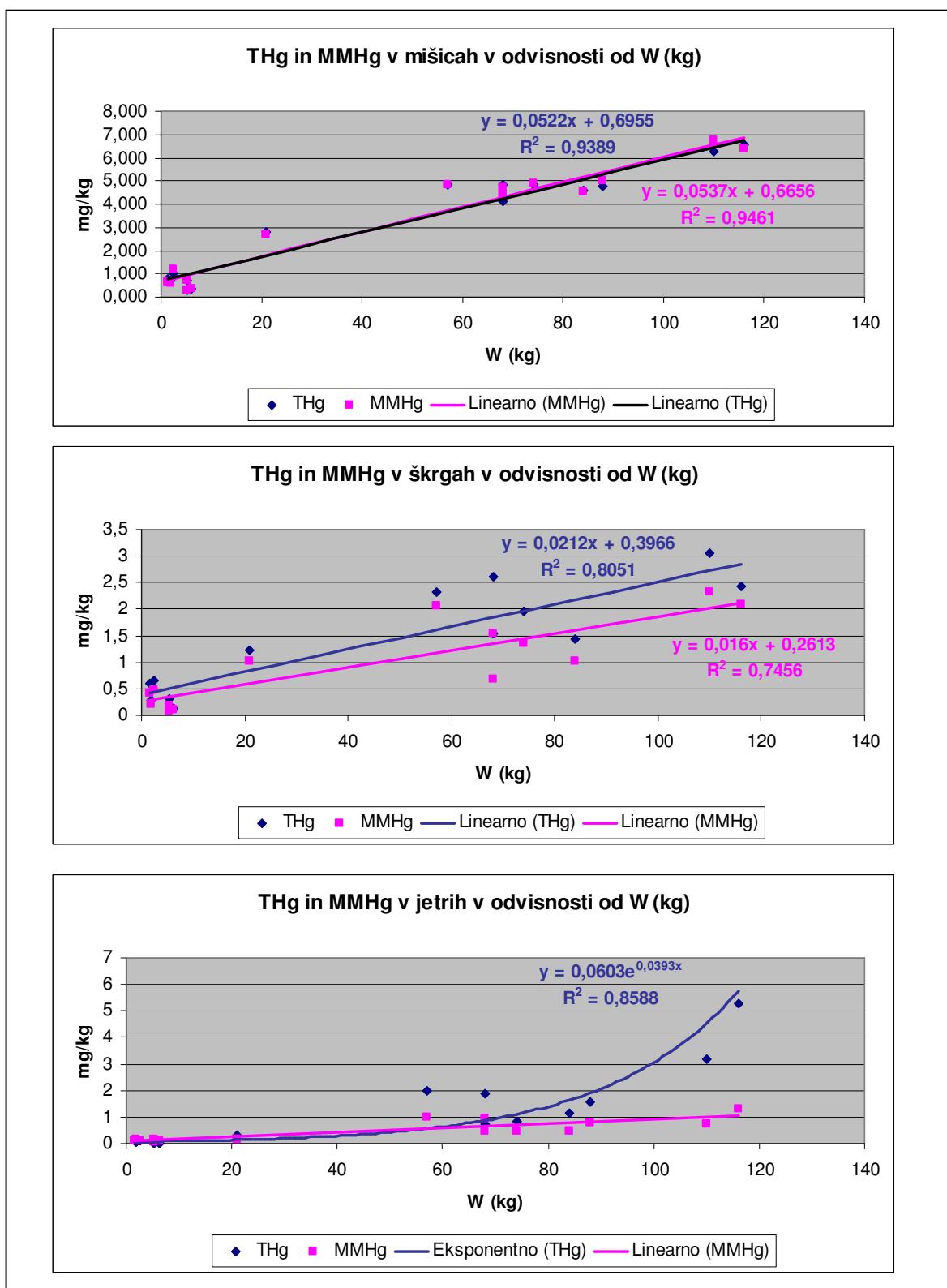
Slika 20: Grafi THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v škrgah, jetrih in mišicah glede na širino diska (mm) pri kljunatem morskem golobu



Slika 21: Grafi THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v škrgah, jetrih in mišicah glede na dolžino diska (mm) pri kljunatem morskem golobu



Slika 22: Grafi THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v škrghah, jetrih in mišicah glede na celotno dolžino (mm) pri kljunatem morskem golobu



Slika 23: Grafi THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v škrghah, jetrih in mišicah glede na težo (kg) pri kljunatem morskem golbu

Tabela 12a: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih kljunatih morskih golobov (*Pteromylaeus bovinus*), delež MMHg v vzorcih ter podatki o širini diska (DW) (mm), dolžini diska (DL) (mm), celotni dolžini (TL) (mm), teži (W) (kg) in spolu (SAMICE)

| zap.št.            | vzorec | DW<br>(mm) | DL<br>(mm) | TL<br>(mm) | W<br>(kg) | spol      | ŠKRGE                |                      |                       |                       |           | JETRA                |                      |                       |                       |           | MIŠICE               |                      |                       |                       |           |
|--------------------|--------|------------|------------|------------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|
|                    |        |            |            |            |           |           | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg |
| 1                  | 053 PB | 1630       | 1080       | 1960       | 74        | f         | 1,962                | 0,439                | 1,349                 | 0,302                 | 68,8      | 0,822                | 0,619                | 0,457                 | 0,344                 | 55,6      | 4,831                | 1,282                | 4,909                 | 1,303                 | 101,6     |
| 2                  | 054 PB | 1885       | 1180       | 2240       | 110       | f         | 3,047                | 0,669                | 2,322                 | 0,510                 | 76,2      | 3,172                | 2,106                | 0,750                 | 0,498                 | 23,6      | 6,287                | 1,727                | 6,755                 | 1,856                 | 107,5     |
| 3                  | 055 PB | 1569       | 1082       | 1690       | 68        | f         | 1,545                | 0,346                | 0,692                 | 0,155                 | 44,8      | 0,751                | 0,42                 | 0,474                 | 0,265                 | 63,1      | 4,093                | 1,122                | 4,412                 | 1,209                 | 107,8     |
| 6                  | 056 PB | 1540       | 1080       | 2500       | 57        | f         | 2,319                | 0,516                | 2,053                 | 0,457                 | 88,5      | 1,988                | 1,288                | 0,972                 | 0,629                 | 48,9      | 4,862                | 1,377                | 4,819                 | 1,365                 | 99,1      |
| 7                  | 057 PB | 1910       | 1320       | 2940       | 116       | f         | 2,442                | 0,417                | 2,098                 | 0,358                 | 85,9      | 5,263                | 3,297                | 1,318                 | 0,826                 | 25,0      | 6,543                | 1,788                | 6,373                 | 1,741                 | 97,4      |
| 8                  | 058 PB | 2220       | 1155       | 2670       | 88        | f         |                      |                      |                       |                       |           | 1,546                | 1,094                | 0,759                 | 0,537                 | 49,1      | 4,760                | 1,331                | 4,993                 | 1,396                 | 104,9     |
| 9                  | 063 PB | 750        | 395        | 1261       | 5,28      | f         | 0,318                | 0,067                | 0,183                 | 0,038                 | 57,5      | 0,056                | 0,039                | 0,072                 | 0,046                 | 117,0     | 0,710                | 0,188                | 0,707                 | 0,187                 | 99,5      |
| 10                 | 066 PB | 1710       | 1125       | 2630       | 84        | f (breja) | 1,439                | 0,301                | 1,03                  | 0,215                 | 71,6      | 1,170                | 0,817                | 0,492                 | 0,343                 | 42,0      | 4,578                | 1,229                | 4,558                 | 1,223                 | 99,6      |
| 11                 | 067 PB | 1590       | 1100       | 2660       | 68        | f         | 2,608                | 0,565                | 1,537                 | 0,333                 | 58,9      | 1,858                | 1,012                | 0,956                 | 0,521                 | 51,5      | 4,825                | 1,283                | 4,699                 | 1,249                 | 97,4      |
| povprečna vrednost |        | 1644,89    | 1057,44    | 2357,63    | 74,48     |           | 1,96                 | 0,42                 | 1,48                  | 0,30                  | 69,0      | 1,85                 | 1,19                 | 0,69                  | 0,45                  | 52,9      | 4,61                 | 1,26                 | 4,69                  | 1,28                  | 101,6     |
| SD                 |        | 400,59     | 259,88     | 534,14     | 32,48     |           | 0,85                 | 0,18                 | 0,75                  | 0,16                  | 14,9      | 1,56                 | 0,98                 | 0,37                  | 0,23                  | 27,4      | 1,67                 | 0,46                 | 1,70                  | 0,47                  | 4,1       |

Tabela 12b: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih kljunatih morskih golobov (*Pteromylaeus bovinus*), delež MMHg v vzorcih ter podatki o širini diska (DW) (mm), dolžini diska (DL) (mm), celotni dolžini (TL) (mm), teži (W) (kg) in spolu (SAMCI)

| zap.št.               | vzorec | DW<br>(mm) | DL<br>(mm) | TL<br>(mm) | W<br>(kg) | spol | ŠKRGE                |                      |                       |                       |           | JETRA                |                      |                       |                       |           | MIŠICE               |                      |                       |                       |           |
|-----------------------|--------|------------|------------|------------|-----------|------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|
|                       |        |            |            |            |           |      | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg |
| 12                    | 029 PB | 528        | 302        | 875        | 1,5       | m    | 0,59                 | 0,149                | 0,422                 | 0,107                 | 71,6      | 0,119                | 0,079                | 0,095                 | 0,064                 | 79,7      | 0,782                | 0,200                | 0,686                 | 0,176                 | 87,7      |
| 13                    | 034 PB | 735        | 435        | 1210       | 5,28      | m    | 0,145                | 0,031                | 0,081                 | 0,017                 | 55,7      | 0,024                | 0,015                | 0,149                 | 0,091                 | 100,0     | 0,296                | 0,084                | 0,281                 | 0,080                 | 95,2      |
| 14                    | 052 PB | 1135       | 715        | 1940       | 21        | m    | 1,220                | 0,274                | 1,020                 | 0,230                 | 83,6      | 0,293                | 0,198                | 0,175                 | 0,118                 | 59,8      | 2,794                | 0,781                | 2,673                 | 0,747                 | 95,7      |
| 15                    | 060 PB | 535        | 124        | 879        | 1,88      | m    | 0,296                | 0,093                | 0,222                 | 0,070                 | 75,1      | 0,068                | 0,045                | 0,164                 | 0,107                 | 100,0     | 0,689                | 0,190                | 0,616                 | 0,170                 | 89,5      |
| 16                    | 062 PB | 571        | 335        | 860        | 2,52      | m    | 0,666                | 0,193                | 0,459                 | 0,133                 | 68,9      | 0,109                | 0,077                | 0,102                 | 0,072                 | 93,9      | 1,041                | 0,287                | 1,191                 | 0,328                 | 114,4     |
| 17                    | 064 PB | 775        | 411        | 1256       | 6,2       | m    | 0,124                | 0,047                | 0,11                  | 0,042                 | 88,8      | 0,024                | 0,017                | 0,079                 | 0,055                 | 100,0     | 0,333                | 0,091                | 0,335                 | 0,091                 | 100,7     |
| povprečna<br>vrednost |        | 713,17     | 387        | 1170       | 6,40      |      | 0,51                 | 0,13                 | 0,39                  | 0,09                  | 73,9      | 0,11                 | 0,07                 | 0,13                  | 0,08                  | 88,9      | 0,99                 | 0,27                 | 0,96                  | 0,27                  | 97,2      |
| SD                    |        | 231,73     | 194,71     | 417,06     | 7,40      |      | 0,42                 | 0,09                 | 0,35                  | 0,08                  | 11,7      | 0,10                 | 0,07                 | 0,04                  | 0,02                  | 16,3      | 0,93                 | 0,26                 | 0,89                  | 0,25                  | 9,6       |

Tabela 12c: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih kljunatih morskih golobov (*Pteromylaeus bovinus*), delež MMHg v vzorcih ter podatki o širini diska (DW) (mm), dolžini diska (DL) (mm), celotni dolžini (TL) (mm), teži (W) (kg) in spolu (ZARODKA)

| zap.št.               | vzorec    |            |            |            |           |         | špol  | ŠKRGE                |                      |                       |                       | JETRA     |                      |                      |                       | MIŠICE                |           |                      |                      |                       |                       |
|-----------------------|-----------|------------|------------|------------|-----------|---------|-------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                       |           | DW<br>(mm) | DL<br>(mm) | TL<br>(mm) | W<br>(kg) |         |       | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) |
| 4                     | 055 PB(B) | 450        | 250        | 760        |           | zarodek | 0,186 | 0,062                | 0,186                | 0,062                 | 99,9                  | 0,039     | 0,025                | 0,030                | 0,019                 | 118,5                 | 0,235     | 0,061                | 0,212                | 0,055                 | 90,1                  |
| 5                     | 055 PB(D) | 450        | 265        | 780        |           | zarodek | 0,253 | 0,077                | 0,189                | 0,057                 | 74,7                  | 0,032     | 0,020                | 0,024                | 0,015                 | 55,3                  | 0,247     | 0,066                | 0,199                | 0,053                 | 80,9                  |
| povprečna<br>vrednost |           | 450,00     | 257,50     | 770,00     |           |         | 0,22  | 0,07                 | 0,19                 | 0,06                  | 87,3                  | 0,04      | 0,02                 | 0,03                 | 0,02                  | 86,9                  | 0,24      | 0,06                 | 0,21                 | 0,05                  | 85,5                  |
| SD                    |           | 0,00       | 10,61      | 14,14      |           |         | 0,05  | 0,01                 | 0,00                 | 0,00                  | 17,9                  | 0,00      | 0,00                 | 0,00                 | 0,00                  | 44,7                  | 0,01      | 0,00                 | 0,01                 | 0,00                  | 6,5                   |

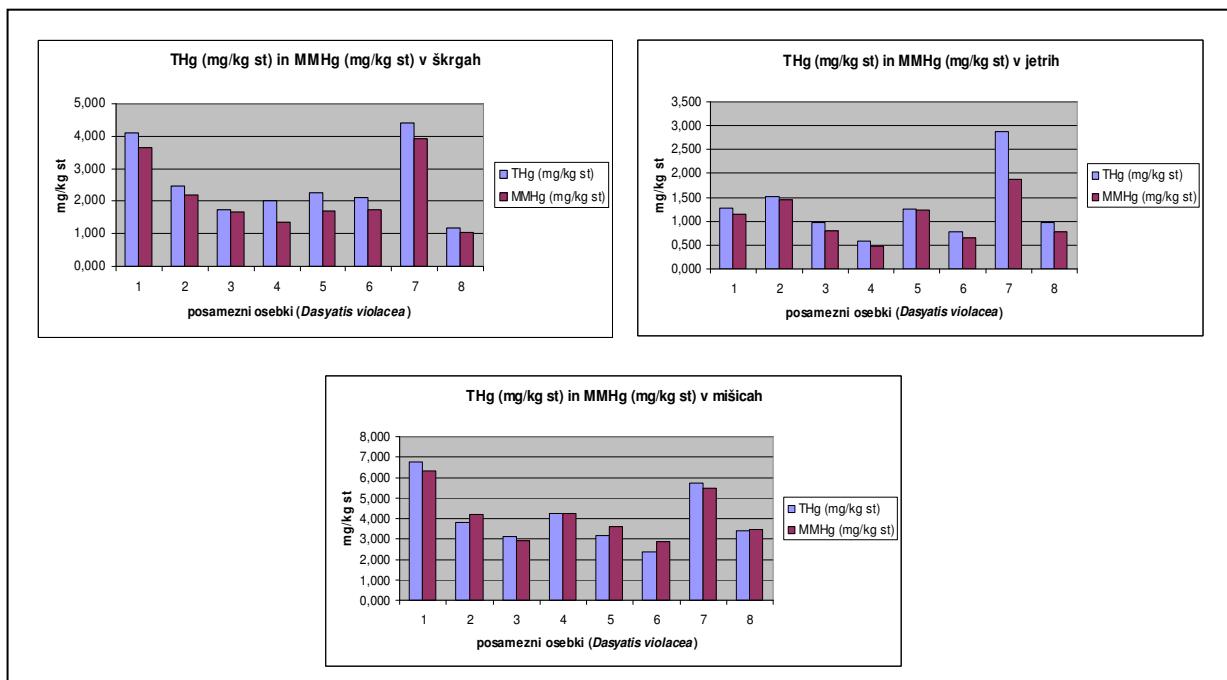
#### 4.2.3 Vijoličasti morski bič

Pri 8 osebkih vijoličastega morskega biča smo izmerili koncentracije THg in MMHg v škrghah, jetrih in mišicah. Koncentracije THg so v škrghah znašale od 0,375 do 1,012 mg/kg mt (0,683 mg/kg mt ± 0,291), v jetrih od 0,394 do 1,642 mg/kg mt (0,751 mg/kg mt ± 0,393) in v mišicah od 0,499 do 1,344 mg/kg mt (0,881 mg/kg mt ± 0,393).

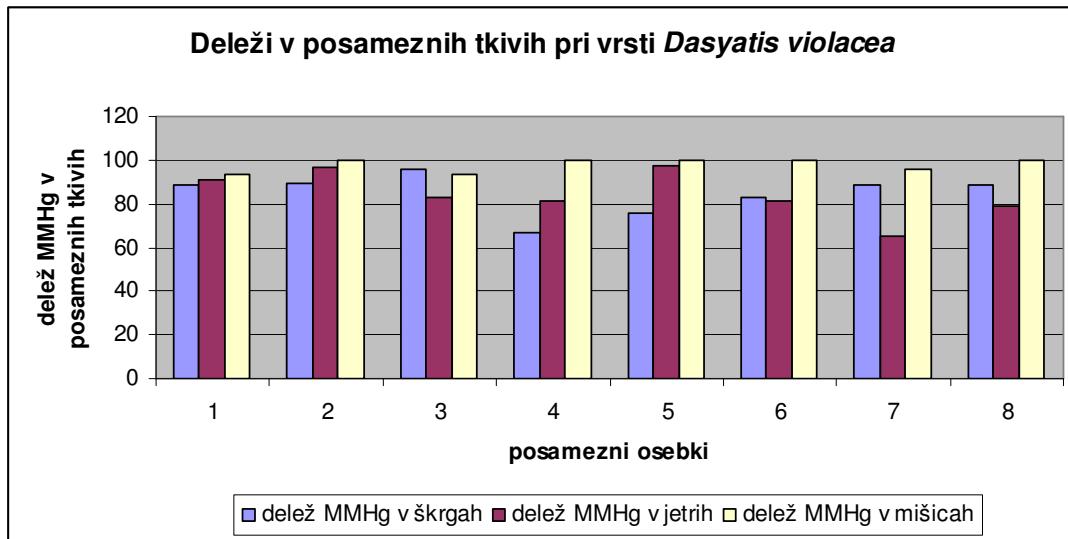
Izmerili smo tudi koncentracije MMHg, ki so v škrghah znašale od 0,252 do 0,899 mg/kg mt (0,586 mg/kg mt ± 0,265), v jetrih od 0,321 do 1,073 mg/kg mt (0,618 mg/kg mt ± 0,256) in v mišicah od 0,600 do 1,285 mg/kg mt (0,871 mg/kg mt ± 0,272).

Vsi rezultati za posamezne osebke so prikazani v tabeli 13. Podani so na suho in mokro težo. V tabeli 17 so izračunani deleži MMHg za posamezno tkivo v posameznih osebkih. Vrednosti maksimalnih in minimalnih koncentracij THg in MMHg, povprečne vrednosti in standardni odkloni so prikazani v tabeli 18 na koncu poglavja Rezultati.

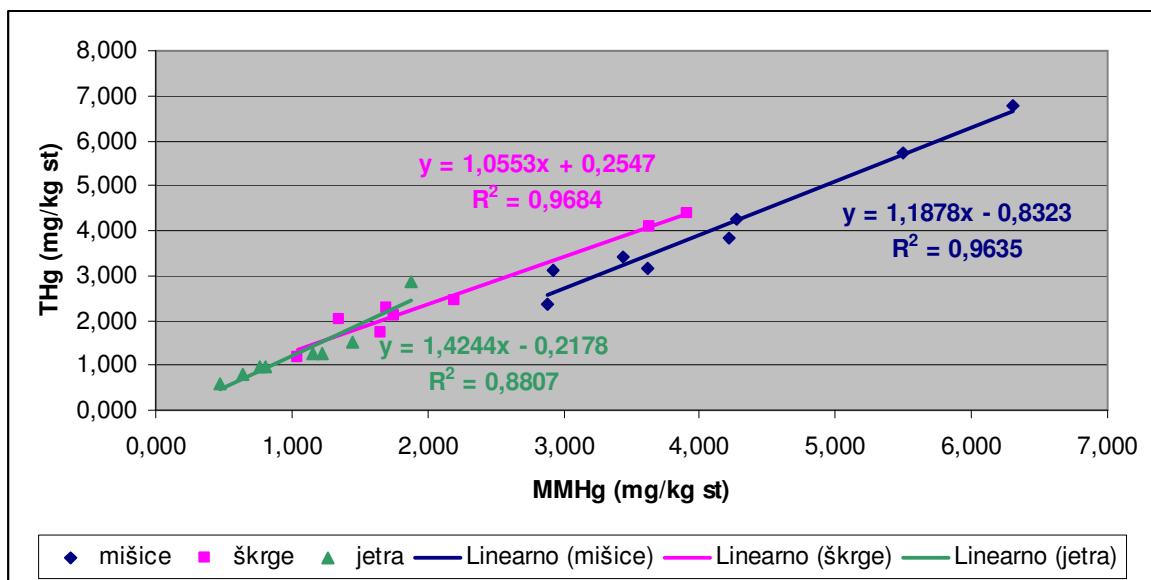
Na sliki 24 so koncentracije THg in MMHg prikazane tudi grafično. Iz grafov je razvidno, da so koncentracije THg in MMHg v mišicah najvišje, prav tako pa tudi deleži MMHg. Koncentracije THg in MMHg so najnižje v jetrih. Izstopa osebek pod zaporedno številko 7. Njegove koncentracije THg znašajo kar 2,872 mg/kg st (1,642 mg/kg st), koncentracije MMHg pa 1,877 mg/kg st (1,073 mg/kg mt). Na sliki 25 so grafično predstavljeni tudi deleži za posamezen osebek v vseh treh tkivih.



Slika 24: Prikaz grafov s koncentracijami THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) v posameznih tkivih vijoličastega morskega biča (n=8)



Slika 25: Deleži MMHg [MMHg (mg/kg)/THg (mg/kg)] v škrgah, jetrih in mišicah vijoličastega morskega biča, ki so predstavljeni za vsak osebek posebej (n=8)



Slika 26: Odnos med THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v škrgah, jetrih in mišicah pri vijoličastem morskem biču (n=8)

Tabela 13: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih vijoličastih morskih bičev (*Dasyatis violacea*), delež MMHg v vzorcih ter podatki o širini diska (DW) (mm), dolžini diska (DL) (mm), celotni dolžini (TL) (mm), teži (W) (kg) in spolu

| zap.št.               | vzorec |            |            |            |           |      |  | ŠKRGE                |                      |                       |                       | JETRA     |                      |                     |                       | MIŠICE               |           |                      |                      |                       |                       |           |
|-----------------------|--------|------------|------------|------------|-----------|------|--|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|----------------------|---------------------|-----------------------|----------------------|-----------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|
|                       |        | DW<br>(mm) | DL<br>(mm) | TL<br>(mm) | W<br>(kg) | spol |  | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/g<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(ng/g<br>mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg<br>st) | THg<br>(mg/kg<br>mt) | MMHg<br>(mg/kg<br>st) | MMHg<br>(mg/kg<br>mt) | %<br>MMHg |
| 1                     | 006 PV | 600        | 549        | 1392       | 7,56      | f    |  | 4,09                 | 0,997                | 3,632                 | 0,885                 | 88,8      | 1,266                | 0,831               | 1,153                 | 0,757                | 91,1      | 6,772                | 1,327                | 6,305                 | 1,235                 | 93,1      |
| 2                     | 007 PV | 562        | 420        | 1375       | 5,44      | f    |  | 2,449                | 0,745                | 2,197                 | 0,669                 | 89,7      | 1,509                | 0,778               | 1,452                 | 0,75                 | 96,3      | 3,824                | 0,794                | 4,221                 | 0,877                 | 110,3     |
| 3                     | 010 PV | 550        | 425        | 1290       | 5,22      | f    |  | 1,730                | 0,396                | 1,660                 | 0,381                 | 96,2      | 0,971                | 0,493               | 0,808                 | 0,41                 | 83,2      | 3,131                | 0,644                | 2,919                 | 0,6                   | 93,2      |
| 4                     | 038 PV | 541        | 393        | 1281       | 5,48      | f    |  | 2,014                | 0,376                | 1,349                 | 0,252                 | 67,0      | 0,581                | 0,394               | 0,473                 | 0,321                | 81,5      | 4,26                 | 1,012                | 4,266                 | 1,013                 | 100,1     |
| 5                     | 050 PV | 588        | 450        | 1262       | 6,12      | f    |  | 2,257                | 0,58                 | 1,700                 | 0,437                 | 75,3      | 1,26                 | 0,782               | 1,223                 | 0,759                | 97,1      | 3,165                | 0,598                | 3,613                 | 0,683                 | 114,1     |
| 6                     | 039 PV | 445        | 340        | 1070       | 2,64      | m    |  | 2,115                | 1,004                | 1,748                 | 0,830                 | 82,7      | 0,784                | 0,55                | 0,641                 | 0,449                | 81,7      | 2,364                | 0,499                | 2,874                 | 0,607                 | 121,6     |
| 7                     | 049 PV | 521        | 400        | 776*       | 3,74      | m    |  | 4,398                | 1,012                | 3,907                 | 0,899                 | 88,8      | 2,872                | 1,642               | 1,877                 | 1,073                | 65,4      | 5,746                | 1,344                | 5,491                 | 1,285                 | 95,6      |
| 8                     | 051 PV | 437        | 354        | 1010       | 2,4       | m    |  | 1,179                | 0,375                | 1,048                 | 0,333                 | 88,9      | 0,971                | 0,542               | 0,767                 | 0,428                | 79,0      | 3,424                | 0,747                | 3,435                 | 0,75                  | 100,3     |
| povprečna<br>vrednost |        | 530,50     | 416,38     | 1240,00    | 4,83      |      |  | 2,53                 | 0,69                 | 2,16                  | 0,59                  | 84,7      | 1,28                 | 0,75                | 1,05                  | 0,62                 | 84,4      | 4,09                 | 0,87                 | 4,14                  | 0,88                  | 103,6     |
| SD                    |        | 60,67      | 64,75      | 145,94     | 1,77      |      |  | 1,13                 | 0,29                 | 1,05                  | 0,27                  | 9,4       | 0,71                 | 0,39                | 0,47                  | 0,26                 | 10,4      | 1,48                 | 0,32                 | 1,22                  | 0,27                  | 10,6      |

#### 4.2.4 Navadni morski bič

Koncentracije THg in MMHg smo izmerili tudi pri enem osebku navadnega morskega biča. Koncentracije THg so bile v škrgah 0,266 mg/kg mt, v jetrih 0,140 mg/kg mt in v mišicah 0,391 mg/kg mt, koncentracije MMHg pa v škrgah 0,243 mg/kg mt, v jetrih 0,146 mg/kg mt in v mišicah 0,397 mg/kg mt.

Tabela 14: Rezultati vsebnosti THg in MMHg (mg/kg) (podani glede na kilogram suhe in mokre teže) v tkivih navadnega morskega biča (*Dasyatis pastinaca*), delež MMHg v vzorcih ter podatki o širini diska (DW) (mm), dolžini diska (DL) (mm), celotni dolžini (TL) (mm), teži (W) (kg) in spolu

| vzorec | ŠKRGE             |                   |                    |                    |           | JETRA             |                   |                    |                    |           | MIŠICE            |                   |                    |                    |           |
|--------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-----------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-----------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-----------|
|        | THg<br>(mg/kg st) | THg<br>(mg/kg mt) | MMHg<br>(mg/kg st) | MMHg<br>(mg/kg mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg st) | THg<br>(mg/kg mt) | MMHg<br>(mg/kg st) | MMHg<br>(mg/kg mt) | %<br>MMHg | THg<br>(mg/kg st) | THg<br>(mg/kg mt) | MMHg<br>(mg/kg st) | MMHg<br>(mg/kg mt) | %<br>MMHg |
| 040 DP | 0,958             | 0,266             | 0,877              | 0,244              | 91,6      | 0,183             | 0,143             | 0,187              | 0,147              | 102,6     | 1,572             | 0,391             | 1,597              | 0,397              | 101,6     |

#### 4.3 Deleži MMHg pri posameznih vrstah

Deleži MMHg v škrgah, jetrih in mišicah vseh vrst so prikazani v tabelah 14, 15(a,b) in 16.

Na dnu vsake tabele sta podana še povprečna vrednost in standardni odklon.

Pri navadnem morskem golobu so deleži MMHg v škrgah znašali od 80,2 do 100 % (89,8 %  $\pm$  9,9), v jetrih od 89,0 do 100 % (97,8 %  $\pm$  4,9) in v mišicah od 82,3 do 97,6 % (90,6 %  $\pm$  5,7).

Pri kljunatem morskem golobu so deleži MMHg v škrgah znašali od 44,8 do 99,9 % (73,2 %  $\pm$  14,4), v jetrih od 23,6 do 100 % (67,5 %  $\pm$  27,2) in v mišicah od 80,9 do 100 % (96,0 %  $\pm$  5,7). Deleži MMHg pri samcih so v škrgah znašali od 55,7 do 88,8 % (74,0 %  $\pm$  11,7), v jetrih od 59,8 do 100 % (88,9 %  $\pm$  16,3) in v mišicah od 87,7 do 100 % (94,7 %  $\pm$  5,2), pri samicah pa v škrgah od 44,8 do 99,9 % (72,7 %  $\pm$  16,3), v jetrih od 23,6 do 100 % (55,8 %  $\pm$  24,9) in v mišicah od 80,9 do 100 % (96,7 %  $\pm$  5,9). Pri dveh zarodkih je delež MMHg v škrgah znašal 99,9 % in 74,7 %, v jetrih 100 in 55,8 %, v mišicah pa 87,6 in 80,9 %.

Pri vijoličastem morskem biču so deleži MMHg v škrgah znašali od 67,0 do 95,9 % (84,7 %  $\pm$  9,3), v jetrih od 95,4 do 97,1 % (94,4 %  $\pm$  10,4) in v mišicah od 93,1 do 100 % (99,0 %  $\pm$  5,5).

Pri enem osebku navadnega morskega biča je delež MMHg v škrgah znašal 91,6 %, v jetrih 100 % in v mišicah 100%.

Tabela 15: Rezultati deležev MMHg v posameznih vzorcih navadnega morskega goloba

| zap.št.            | vzorec   | škrge  | jetra  | mišice |
|--------------------|----------|--------|--------|--------|
|                    |          | % MMHg | % MMHg | % MMHg |
| 1                  | 025 - MA | 80,2   | 100,0  | 97,1   |
| 2                  | 028 - MA | 100,0  | 100,0  | 93,5   |
| 3                  | 035 - MA | 100,0  | 100,0  | 87,9   |
| 4                  | 044 - MA | 80,5   | 89,0   | 82,3   |
| 5                  | 061 - MA | 88,3   | 100,0  | 92,1   |
| povprečna vrednost |          | 89,8   | 97,8   | 90,6   |
| SD                 |          | 9,9    | 4,9    | 5,7    |

Tabela 16a: Rezultati deležev MMHg v posameznih tkivih kljunatega morskega biča

| zap.št.            | vzorec   | škrge  | jetra  | mišice |
|--------------------|----------|--------|--------|--------|
|                    |          | % MMHg | % MMHg | % MMHg |
| 1                  | 053 - PB | 68,8   | 55,6   | 100,0  |
| 2                  | 054 - PB | 76,2   | 23,6   | 100,0  |
| 3                  | 055 - PB | 44,8   | 63,1   | 100,0  |
| 6                  | 056 - PB | 88,5   | 48,9   | 99,1   |
| 7                  | 057 - PB | 85,9   | 25,0   | 97,4   |
| 8                  | 058 - PB |        | 49,1   | 100,0  |
| 9                  | 063 - PB | 57,5   | 100,0  | 99,5   |
| 10                 | 066 - PB | 71,6   | 42,0   | 99,6   |
| 11                 | 067 - PB | 58,9   | 51,5   | 97,4   |
| 12                 | 029 - PB | 71,6   | 79,7   | 87,7   |
| 13                 | 034 - PB | 55,7   | 100,0  | 95,2   |
| 14                 | 052 - PB | 84,0   | 59,8   | 95,7   |
| 15                 | 060 - PB | 75,1   | 100,0  | 89,5   |
| 16                 | 062 - PB | 68,9   | 93,9   | 100,0  |
| 17                 | 064 - PB | 88,8   | 100,0  | 100,0  |
| povprečna vrednost |          | 71,2   | 66,2   | 97,4   |
| SD                 |          | 13,4   | 27,5   | 3,9    |

Tabela 16b: Rezultati deležev MMHg v posameznih tkivih kljunatega morskega biča (zarodka)

| zap.št.            | vzorec       | škrge  | jetra  | mišice |
|--------------------|--------------|--------|--------|--------|
|                    |              | % MMHg | % MMHg | % MMHg |
| 4                  | 055 - PB (B) | 94,7   | 100,0  | 87,6   |
| 5                  | 055 - PB (D) | 76,0   | 55,8   | 80,9   |
| povprečna vrednost |              | 85,4   | 77,9   | 84,2   |
| SD                 |              | 13,3   | 31,3   | 4,7    |

Tabela 17: Rezultati deležev MMHg v posameznih tkivih vijoličastega morskega biča

| zap.št.            | vzorec   | škrge  | jetra  | mišice |
|--------------------|----------|--------|--------|--------|
|                    |          | % MMHg | % MMHg | % MMHg |
| 1                  | 006 - PV | 88,8   | 91,1   | 93,1   |
| 2                  | 007 - PV | 89,7   | 96,3   | 110,4  |
| 3                  | 010 - PV | 95,9   | 83,2   | 93,2   |
| 4                  | 038 - PV | 67,0   | 81,5   | 100,0  |
| 5                  | 050 - PV | 75,3   | 97,1   | 100,0  |
| 6                  | 039 - PV | 82,7   | 81,7   | 100,0  |
| 7                  | 049 - PV | 88,8   | 65,4   | 95,6   |
| 8                  | 051 - PV | 88,9   | 79,0   | 100,0  |
| povprečna vrednost |          | 84,7   | 84,4   | 99,0   |
| SD                 |          | 9,3    | 10,4   | 5,5    |

Pri enem osebku navadnega morskega biča je delež MMHg v škrgh znašal 91,6 %, v jetrih 100 % in v mišicah 100 %.

Pri analizi rezultatov sem deleže MMHg, ki so presegali 100%, označila kar s 100. Deleži, ki so presegli 100 %, so posledica negotovosti metode, ko je delež blizu 100 %, in nepopolne homogenizacije tkiva.

Tabela 18: Povprečne vrednosti, standardna deviacija in območje vrednosti v treh različnih tkivih pri štirih različnih vrstah hrustančnic (Legenda: DW – širina diska v mm, DL – dolžina diska v mm, TL – celotna dolžina v mm, W – teža v kg, SD – standardni odklon, mt – mokra teža)

#### 4.4 Rezultati THg in MMHg v plenu

Določili smo tudi THg in MMHg v nekaterih vrstah (tabela 19), s katerimi se hranijo raziskovane vrste hrustančnic. Koncentracija THg je v voleku znašala 0,276 mg/kg mt, koncentracija MMHg pa 0,143 mg/kg mt. Delež MMHg je znašal 51,79 %.

V rdečem mečaku je THg znašala 0,039 mg/kg mt, MMHg pa 0,015 mg/kg mt. Delež MMHg je znašal 38,79 %.

V inčunu je bila THg 0,159 mg/kg mt, MMHg pa 0,113 mg/kg mt. Delež MMHg je znašal 71,07 %.

Tabela 19: Podatki o koncentracijah THg (mg/kg mt), MeHg (mg/kg mt) in deležu MMHg pri nekaterih vrstah, s katerimi se prehranjujejo navadni morski golob, kljunati morski golob in vijoličasti morski bič

| vrsta  | THg (mg/kg mt) | St.Dev. | MMHg (mg/kg mt) | St.Dev. | % MMHg |
|--|----------------|---------|-----------------|---------|--------|
| <b>VOLEK</b><br><i>(Murex truncatus)</i>         | 0,276          | 0,032   | 0,143           | 0,025   | 51,8   |
| <b>RDEČI MEČAK</b><br><i>(Cepola rubescens)</i>  | 0,039          | 0,002   | 0,015           | 0,001   | 38,2   |
| <b>INČUN</b><br><i>(Engraulis encrasicholus)</i> | 0,159          | 0,062   | 0,113           | 0,016   | 71,1   |

## 5. RAZPRAVA

### 5.1. Primernost uporabljene metodike

Tako metoda za določevanje THg kot metoda za določevanje MMHg sta primerni za hitro določevanje THg in MMHg v vzorcih tkiv hrustančnic. Izkoristke obeh metod smo preračunali glede na vrednost certificiranega referenčnega materiala. Izkoristke pri metodi za določevanje MMHg smo preračunali glede na srednjo vrednost referenčnega materiala, ki je bila 72 %.

Menimo, da je razvoj metode za rutinsko merjenje prisotnosti MMHg v bioloških vzorcih, kot so ribja tkiva, potreben. Ribe so pomemben člen v prehranjevalni verigi. Kot pretežni vir hrane zlasti v obmorskih krajih seveda vplivajo tudi na zdravje človeka. Rizična skupina so predvsem nosečnice, ki s svojim načinom prehranjevanja močno vplivajo na otrokov razvoj. Metoda za določevanje MMHg, po kateri smo delali, je primerna za rutinsko delo, ker je hitra in enostavna. Edini problem je, da so izkoristki metode nekoliko nizki, kar lahko preverjamo z različnimi certificiranimi referenčnimi materiali. Izkoristek metode nato preračunamo glede na vsebnost MMHg v referenčnih materialih.

Na razpolago smo imeli 4 vrste hrustančnic. Težava je bila v tem, da populacije posameznih vrst niso bile enakomerno velikostno in starostno razporejene. Navadne morske golobe so zastopali predvsem mladi osebki, kljunati morski golobi so bili mladi in stari, primanjkovalo pa je osebkov srednje starosti. Pri vijoličastih morskih bičih je bila populacija starostno enotna. Na razpolago smo imeli pretežno odrasle osebke. Pri navadnem morskem biču smo imeli en osebek, kar je premalo za kakršnakoli sklepanja.

### 5.2 Primerjava z drugimi metodikami

Za primerjavo pravilnosti rezultatov, ki smo jih dobili s pomočjo prej omenjenih metod, bi lahko uporabili direktno analizo Hg na inštrumentu DMA in ekstrakcijo MMHg v vodno fazo ter detekcijo na absorpcijskem fluorescenčnem spektrofotometru AFS. Vzorcev nismo ponovno določevali zaradi pomanjkanja časa in zasedenosti inštrumentov.

### 5.3 Razprava o posameznih vrstah

Hg vstopa v organizem preko dveh kontaminacijskih poti: direktno iz vode, ki je kontaminirana z Hg, in indirektno preko trofičnega prenosa z zaužitjem kontaminiranega plena. Glede na navedeno se nam je zdeleno primerno določiti Hg pri štirih vrstah hrustančnic, in sicer:

- v škrghah, v katerih naj bi koncentracije Hg pričale o direktni kontaminaciji organizma;
- v mišicah, kjer koncentracije pričajo o bioakumulaciji preko prehranjevalne verige, torej indirektni kontaminaciji;
- v jetrih, kjer naj bi koncentracije potrjevale sposobnost detoksifikacije organizma in izločanja Hg

Na začetku bomo obravnavali vsako vrsto posebej, nato pa skušali primerjati še vse vrste med seboj.

#### Navadni morski golob

Osebki navadnega morskega goloba niso bili najbolj primerni za primerjavo z drugimi vrstami. Pri njih je bilo prav tako težko sklepati o kakršnihkoli odnosih med THg in MMHg in biometričnimi podatki, ker so jih zastopali pretežno mladi osebki. Koncentracije Hg v mišicah, škrghah in jetrih so pri njih precej nižje kakor pri drugih treh vrstah. Ker smo koncentracije THg in MMHg v navadnih morskih golobih s težavo primerjali z drugimi vrstami, sem jih primerjala s podatki o koncentracijah Hg v mišicah navadnih morskih golobov po Storelliju in sodelavcih (2002). Osebki navadnih morskih golobov iz Severnega Jadrana so bili večinoma mladi, s širino diska 273-380 mm in težo 0,26-0,98 kg. Dokumentirani podatek za največjo širino diska pri tej vrsti je 1830 mm (McEachran & Seret, 1990), največja objavljena teža pa 14,5 kg (IGFA, 2001) (največja objavljena teža ne povpada z omenjeno širino diska, saj ne gre za isti osebek).

Storelli in sodelavci (2002) so merili THg in MMHg pri navadnem morskem golobu iz Južnega Jadrana. Rezultate so dobili z raziskavo na 15 osebkih morskih golbov, ki so tehtali od 0,74 do 1 kg (tabela 20). Koncentracije THg so bile v razponu od 0,67 do 1,01 mg/kg mt (~0,83 mg/kg mt), koncentracije MMHg pa od 0,40 do 0,84 mg/kg mt (~0,63 mg/kg mt). Koncentracije THg v mišičnem tkivu so bile pri naših osebkih navadnih morskih golbov med 0,051 in 0,183 mg/kg mt (~0,086 mg/kg mt), koncentracije MMHg pa med 0,046 in 0,178 mg/kg mt (~0,079 mg/kg mt). Osebki iz Južnega Jadrana (Storelli in sod., 2002) vsebujejo do 10-krat višje koncentracije Hg v mišičnem tkivu kakor naši osebki iz Severnega Jadrana. Tega nisem pričakovala, saj severni del Jadrana velja za bolj kontaminirano območje s Hg. Morda so se osebki iz Severnega Jadrana nekako prilagodili okolju s povišanimi koncentracijami Hg. Vseeno pa ostaja vprašanje točne lokacije ulova osebkov iz Južnega Jadrana in koncentracij THg in MMHg v njihovih jetrih.

Tabela 20: Primerjava THg in MMHg v mišicah pri navadnem morskem golobu iz dveh različnih lokacij

| Navadni morski golob ( <i>Myliobatis aquila</i> ) |                        |                      |
|---|------------------------|----------------------|
|   | Storelli in sod., 2002 | to delo              |
| <b>lokacija</b>                                   | Južno Jadransko morje  | Tržaški zaliv        |
| <b>teža (kg)</b>                                  | 0,74 - 1               | 0,26 - 0,98 (~ 0,50) |
| <b>THg (mg/kg mt)</b>                             | 0,67 - 1,01            | 0,051 - 0,183        |
| <b>povprečje cTHg</b>                             | ~ 0,83                 | ~ 0,086              |
| <b>MMHg (mg/kg mt)</b>                            | 0,40 - 0,84            | 0,046 - 0,178        |
| <b>povprečje MMHg</b>                             | ~ 0,63                 | ~ 0,080              |
| <b>delež MMHg (%)</b>                             | 71,6 ± 10,5            | 90,58 ± 5,69         |

V tabeli 21 (stran 79) so prikazani korelacijski Pearsonovi koeficienti za navadnega morskega goloba. V primerjavi s kljunatim morskim golobom (tabela 23, str. 85) je v tabeli 21 precej manj korelacij statistično značilnih. To bi pripisali zelo majhnemu številu vzorcev in neenakomerni porazdelitvi starosti med osebki. Kot smo že omenili, je bila večina osebkov v tej skupini mladih, s podobnimi biometričnimi karakteristikami, zato je težko sklepati o kakršnihkoli odnosih.

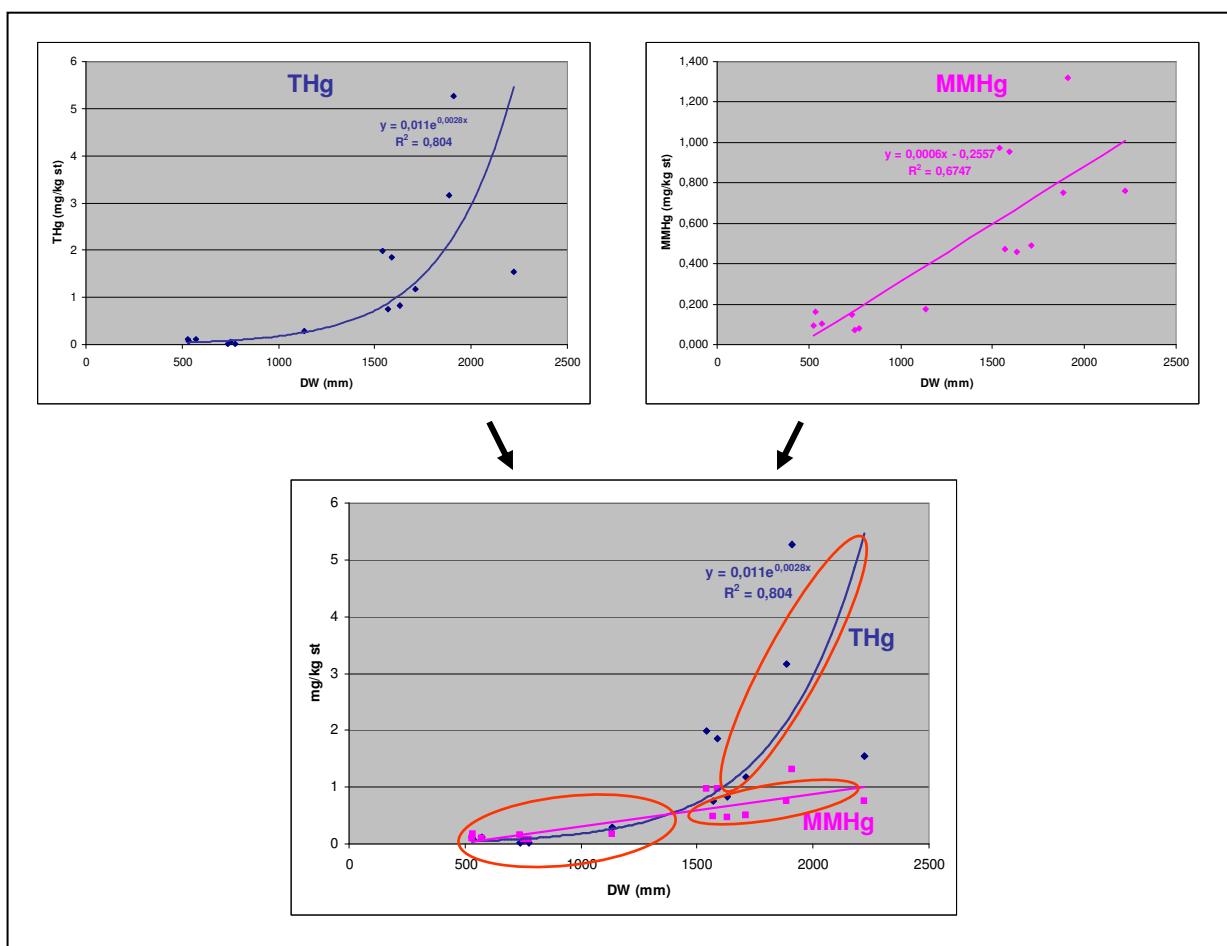
Tabela 21: Koreacijski koeficienti za navadnega morskega goloba (n=5) (Legenda: \*\* - korelacija je signifikantna pri stopnji tveganja 0,01, \* - korelacija je signifikantna pri stopnji tveganja 0,05, DW – širina diska v mm, DL – dolžina diska v mm, TL – celotna dolžina v mm, W – teža v kg)

|         |       | koreacijski koeficient rp |           |        |           |          |        |           |           |       |           |           |           |           |
|---------|-------|---------------------------|-----------|--------|-----------|----------|--------|-----------|-----------|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|         |       | ŠKRGE                     |           |        | JETRA     |          |        | MIŠICE    |           |       | DW (mm)   | DL (mm)   | TL (mm)   | W (mm)    |
|         |       | THg                       | MMHg      | %MMHg  | THg       | MMHg     | %MMHg  | THg       | MMHg      | %MMHg |           |           |           |           |
| ŠKRGE   | THg   |                           | 0,983(**) | -0,695 | 0,987(*)  | 0,741    | -0,192 | 0,841     | 0,828     | 0,330 | 0,491     | 0,363     | 0,362     | 0,624     |
|         | MMHg  | 0,983(**)                 |           | -0,593 | 0,999(**) | 0,844    | -0,222 | 0,912(*)  | 0,902(*)  | 0,411 | 0,611     | 0,508     | 0,496     | 0,728     |
|         | %MMHg | -0,695                    | -0,593    |        | -0,199    | 0,479    | -0,061 | -0,226    | -0,211    | 0,225 | 0,245     | 0,396     | 0,371     | 0,079     |
| JETRA   | THg   | 0,987(*)                  | 0,999(**) | -0,199 |           | 0,988(*) | -0,529 | 0,983(*)  | 0,976(*)  | 0,331 | 0,974(*)  | 0,975(*)  | 0,933     | 0,959(*)  |
|         | MMHg  | 0,741                     | 0,844     | 0,479  | 0,988(*)  |          | -0,502 | 0,955(*)  | 0,949(*)  | 0,540 | 0,894(*)  | 0,871     | 0,825     | 0,922(*)  |
|         | %MMHg | -0,192                    | -0,222    | -0,061 | -0,529    | -0,502   |        | -0,177    | -0,144    | 0,428 | -0,177    | -0,251    | -0,075    | -0,111    |
| MIŠICE  | THg   | 0,841                     | 0,912(*)  | -0,226 | 0,983(*)  | 0,955(*) | -0,177 |           | 0,999(**) | 0,693 | 0,879(*)  | 0,803     | 0,807     | 0,945(*)  |
|         | MMHg  | 0,828                     | 0,902(*)  | -0,211 | 0,976(*)  | 0,949(*) | -0,144 | 0,999(**) |           | 0,720 | 0,887(*)  | 0,81      | 0,82      | 0,952(*)  |
|         | %MMHg | 0,330                     | 0,411     | 0,225  | 0,331     | 0,54     | 0,428  | 0,693     | 0,72      |       | 0,800     | 0,759     | 0,858     | 0,225     |
| DW (mm) |       | 0,491                     | 0,611     | 0,245  | 0,974(*)  | 0,894(*) | -0,177 | 0,879(*)  | 0,887(*)  | 0,800 |           | 0,979(**) | 0,985(**) | 0,983(**) |
| DL (mm) |       | 0,363                     | 0,508     | 0,396  | 0,975(*)  | 0,871    | -0,251 | 0,803     | 0,81      | 0,759 | 0,979(**) |           | 0,982(**) | 0,936(*)  |
| TL (mm) |       | 0,362                     | 0,496     | 0,371  | 0,933     | 0,825    | -0,075 | 0,807     | 0,82      | 0,858 | 0,985(**) | 0,982(**) |           | 0,954(*)  |
| W (mm)  |       | 0,624                     | 0,728     | 0,079  | 0,959(*)  | 0,922(*) | -0,111 | 0,945(*)  | 0,952(*)  | 0,252 | 0,983(**) | 0,936(*)  | 0,954(*)  |           |

## Kljunati morski golob

Osebki kljunatega morskega goloba so bili zastopani od najmlajših (tudi zarodki) do najstarejših, zato so bili najbolj primerni za opazovanje najrazličnejših razmerij med THg in MMHg ter drugimi parametri, kot so širina diska, dolžina diska, celotna dolžina in teža. Opazili smo tudi razlike v koncentracijah Hg med samci in samicami.

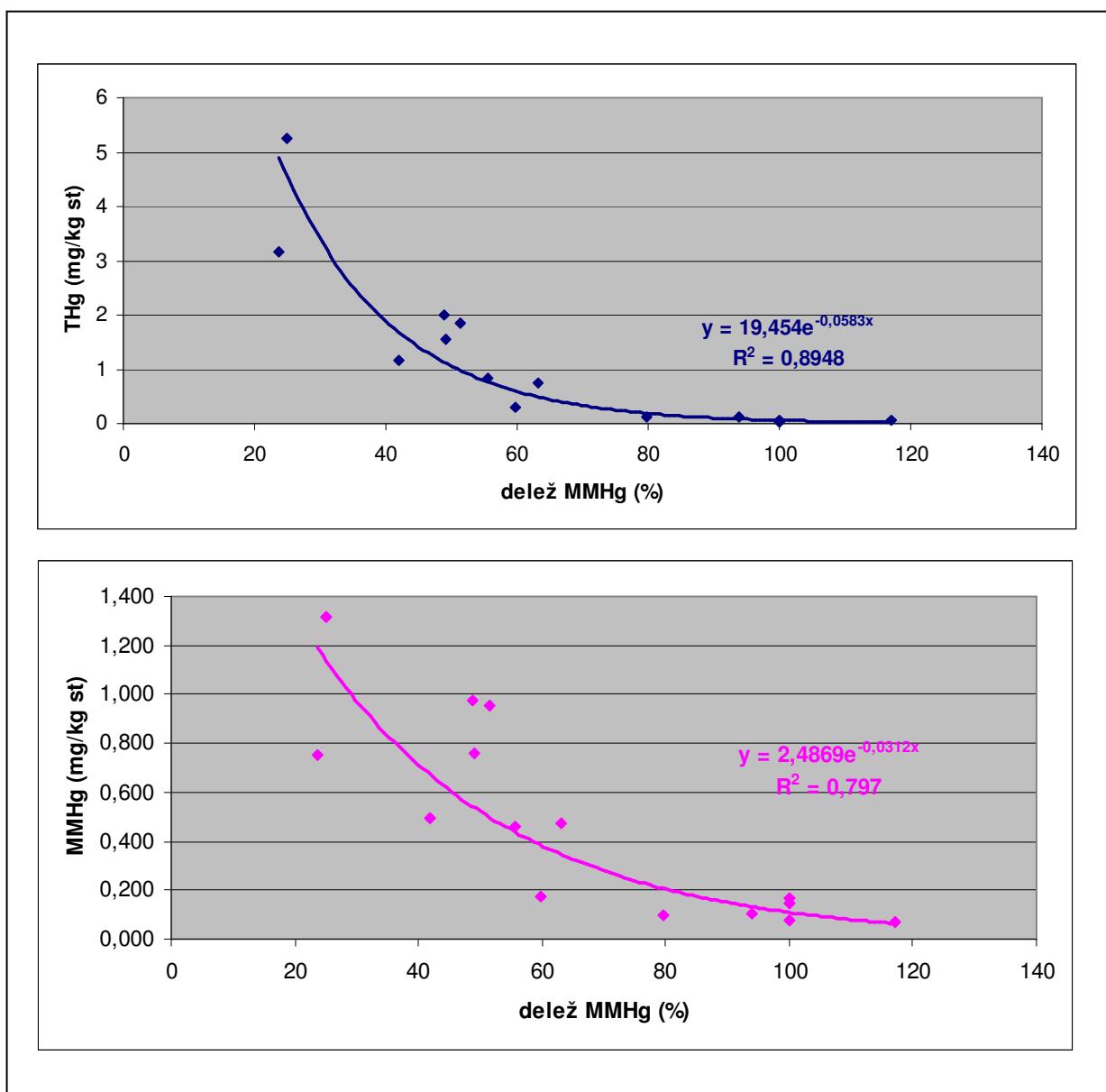
V tabeli 23 (stran 85) so vidne pozitivne statistično značilne korelacije pri stopnji tveganja 0,01 (1%) v vseh primerih. Odnosi med THg in MMHg v vseh treh tkivih ter različnimi biometričnimi podatki so vidni tudi iz slik 20, 21, 22 in 23 (strani 58-61). Iz teh slik je pri jetrih opaziti zanimiv odnos med THg in MMHg, ki je razviden tudi iz slike 27 (stran 81). Z naraščanjem širine diska naraščata tudi THg in MMHg v jetrih, vendar le do neke točke. Pri določeni koncentraciji THg v jetrih očitno začne potekati nek mehanizem odstranjevanja MMHg. Od te točke naprej je iz slike 27 opazno le še naraščanje THg, medtem ko MMHg ves čas ostaja v približno enaki koncentraciji. Podobno so opazili Cardelluccio in sodelavci (2002), ki so naredili primerjave med THg in deležem MMHg v jetrih progastih delfinov: razmerja MMHg pri koncentracijah THg, ki nad 100 µg/g, so relativno neodvisna od vsebnosti Hg. Ko je stopnja Hg v jetrih relativno visoka, prične potekati demetilacija MMHg. Mehanizem demetilacije še ni povsem znan. Demetilacija MMHg najverjetneje nastopi, ko koncentracije MMHg presežejo koncentracijo THg = 100µg/g (Palmisano in sod., 1995). Pri visokih koncentracijah MMHg začnejo jetra akumulirati selen, ki naj bi bil vključen v proces detoksifikacije. Odkritje zaščitnih učinkov selena na toksičnost Hg pripisujejo Parizeku in Ostadalovi (1967). Podoben proces se verjetno dogaja tudi pri kljunatih morskih golobih, zato bi bilo smiselno izmeriti tudi selen v njihovih jetrih.



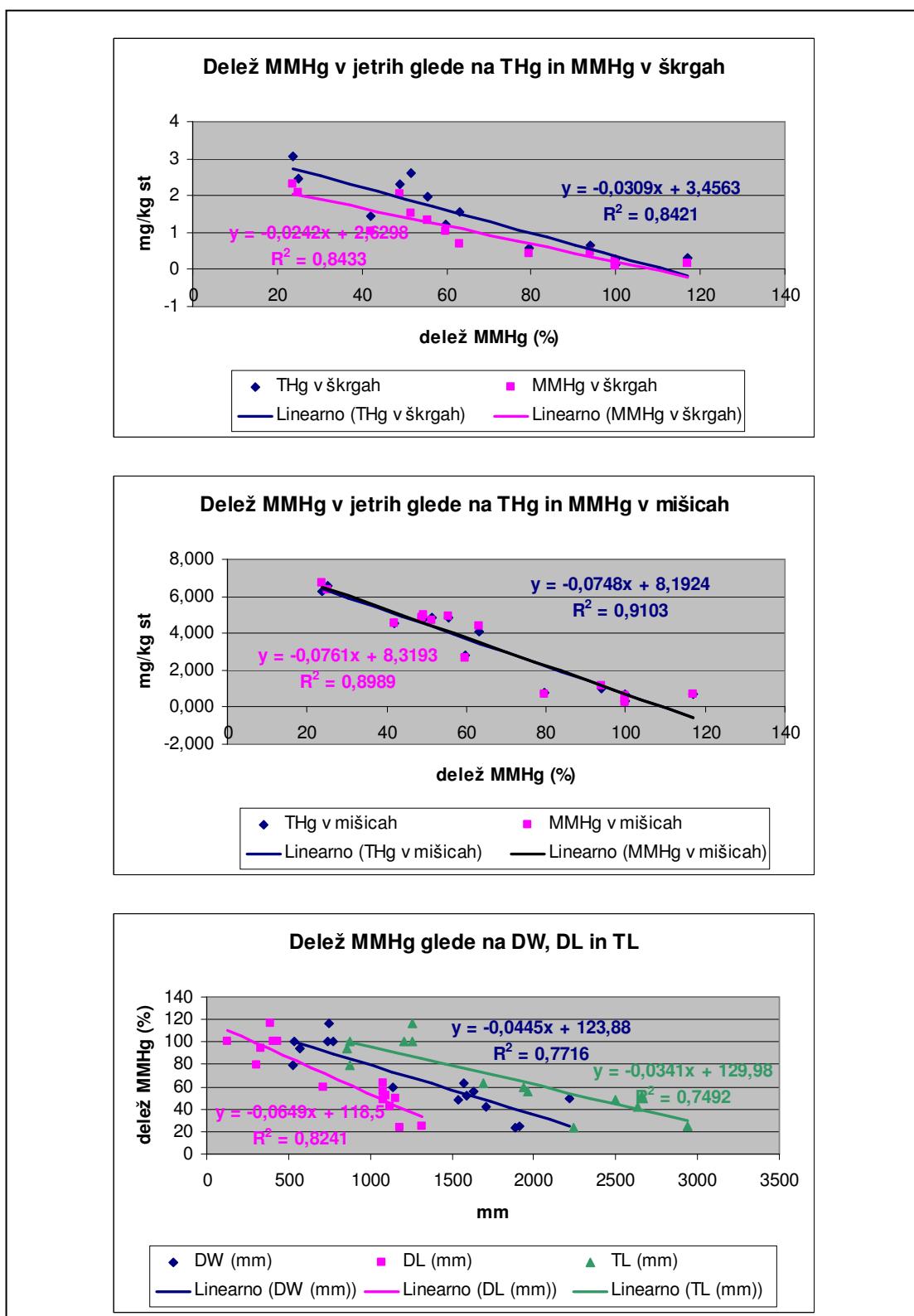
Slika 27: Prikaz THg in MMHg v jetrih glede na širino diska (mm)

Iz slike 28 je vidno upadanje deleža MMHg (%) v jetrih z naraščanjem THg in MMHg. Delež MMHg v jetrih je torej višji pri nižjih koncentracijah THg in MMHg oz. nižji, ko so koncentracije THg in MMHg višje. Tudi ta slika priča o morebitnem mehanizmu detoksifikacije pri kljunatem morskom golobu.

V tabeli 23 (stran 85) so lepo vidne negativne statistično značilne korelacje pri stopnji tveganja 0,01 (1%) med deležem MMHg v jetrih in THg in MMHg v mišicah, THg in MMHg v škrgah in THg in MMHg v jetrih. Prav tako pa so vidne negativne statistično značilne korelacje pri DW, DL, TL in W. Ti odnosi so lepo razvidni tudi iz grafov na sliki 29 (stran 83).



Slika 28: Prikaz padanja deleža MMHg (%) v jetrih z naraščanjem THg (mg/kg st) in MMHg (mg/kg st) pri kljunatem morskom golobu



Slika 29: Grafi na sliki prikazujejo spremenjanje deleža MMHg v jetrih glede na THg in MMHg v škrgah, THg in MMHg v mišicah in DW, DL ter TL

Iz grafov na sliki 17 (stran 56) so razvidne razlike v THg in MMHg med samci in samicami v vseh treh tkivih. To smo preverili še z neodvisnim T-testom s pomočjo statističnega programa SPSS. Rezultati so predstavljeni v spodnji tabeli. T-test je potrdil statistično značilno razliko med povprečnimi vrednostmi THg in MMHg pri samcih in samicah v vseh treh tkivih.

Tabela 22: Rezultati T-testa ( $\alpha = 0,05$ )  $H_0 = [\text{THg}] (\text{[MMHg]})_{\text{samice}} = [\text{THg}] (\text{[MMHg]})_{\text{samci}}$  (THg in MMHg so podani v mg/kg st)

|                    | <b>spol</b> | <b>n</b> | <b>povp.vred.</b> | <b>SD</b> | <b>t</b> | <b>df</b> | <b>p</b> |
|--------------------|-------------|----------|-------------------|-----------|----------|-----------|----------|
| <b>THg škrge</b>   | f           | 8        | 1,960             | 0,854     | 3,816    | 12        | 0,002    |
|                    | m           | 6        | 0,509             | 0,415     |          |           |          |
| <b>MMHg škrge</b>  | f           | 8        | 1,408             | 0,747     | 3,088    | 12        | 0,009    |
|                    | m           | 6        | 0,386             | 0,348     |          |           |          |
| <b>THg jetra</b>   | f           | 9        | 1,848             | 1,559     | 2,699    | 13        | 0,018    |
|                    | m           | 6        | 0,106             | 0,100     |          |           |          |
| <b>MMHg jetra</b>  | f           | 9        | 0,694             | 0,367     | 3,73     | 13        | 0,003    |
|                    | m           | 6        | 0,127             | 0,040     |          |           |          |
| <b>THg mišice</b>  | f           | 9        | 4,609             | 1,666     | 4,811    | 13        | 0,000    |
|                    | m           | 6        | 0,989             | 0,928     |          |           |          |
| <b>MMHg mišice</b> | f           | 9        | 4,691             | 1,703     | 4,886    | 13        | 0,000    |
|                    | m           | 6        | 0,964             | 0,898     |          |           |          |

Izmerili smo tudi THg in MMHg v vseh treh tkivih pri dveh zarodkih. Zaskrbljujoče je dejstvo, da so koncentracije Hg v zarodkih kljunatih morskih golobov precej visoke. Koncentracija THg v enem zarodku je znašala 0,061 mg/kg mt, v drugem pa 0,065 mg/kg mt. Koncentracija MMHg je bila 0,055 mg/kg mt in 0,053 mg/kg mt.

Zarodki morskih golobov in morskih bičev se najprej prehranjujejo z rumenjakovo vrečko, kasneje pa so preko posebnih struktur še dodatno oskrbljeni z indirektno absorpcijo maternične tekočine, ki je bogata z mukusom, maščobami ali proteini. (Breder & Rosen, 1966). Morda predstavlja prav prehrana z maternično tekočino direkten vnos Hg v zarodek. Šele raziskave vsebnosti Se v teh zarodkih bi potrdile njihovo dejansko izpostavljenost živemu srebru.

Tabela 23: Korelacijski koeficienti za kljunatega morskega goloba (n=15) (Legenda: \*\* - korelacija je signifikantna pri stopnji tveganja 0,01, \* - korelacija je signifikantna pri stopnji tveganja 0,05, DW – širina diska v mm, DL – dolžina diska v mm, TL – celotna dolžina v mm, W – teža v kg) (nisem upoštevale dveh zarodkov)

|         |       | korelacijski koeficient rp |            |        |            |            |            |            |            |        |            |            |            |            |
|---------|-------|----------------------------|------------|--------|------------|------------|------------|------------|------------|--------|------------|------------|------------|------------|
|         |       | škrge                      |            |        | jetra      |            |            | mišice     |            |        | DW (mm)    | DL (mm)    | TL (mm)    | W (kg))    |
|         |       | THg                        | MMHg       | %MMHg  | THg        | MMHg       | %MMHg      | THg        | MMHg       | %MMHg  |            |            |            |            |
| škrge   | THg   |                            | 0,908(**)  | 0,149  | 0,771(**)  | 0,873(**)  | -0,918(**) | 0,964(**)  | 0,964(**)  | 0,269  | 0,916(**)  | 0,915(**)  | 0,876(**)  | 0,886(**)  |
|         | MMHg  | 0,908(**)                  |            | 0,363  | 0,685(*)   | 0,757(**)  | -0,918(**) | 0,862(**)  | 0,852(**)  | 0,198  | 0,803(**)  | 0,799(**)  | 0,828(**)  | 0,727(**)  |
|         | %MMHg | 0,149                      | 0,363      |        | 0,329      | 0,223      | -0,283     | 0,158      | 0,131      | -0,191 | 0,087      | 0,059      | 0,238      | 0,097      |
| jetra   | THg   | 0,771(**)                  | 0,685(*)   | 0,329  |            | 0,901(**)  | -0,808(**) | 0,816(**)  | 0,797(**)  | 0,127  | 0,688(**)  | 0,727(**)  | 0,742(**)  | 0,807(**)  |
|         | MMHg  | 0,873(**)                  | 0,757(**)  | 0,223  | 0,901(**)  |            | -0,847(**) | 0,898(**)  | 0,882(**)  | 0,159  | 0,844(**)  | 0,872(**)  | 0,899(**)  | 0,852(**)  |
|         | %MMHg | -0,918(**)                 | -0,918(**) | -0,283 | -0,808(**) | -0,847(**) |            | -0,954(**) | -0,948(**) | -0,187 | -0,878(**) | -0,908(**) | -0,866(**) | -0,920(**) |
| mišice  | THg   | 0,964(**)                  | 0,862(**)  | 0,158  | 0,816(**)  | 0,898(**)  | -0,954(**) |            | 0,998(**)  | 0,295  | 0,949(**)  | 0,971(**)  | 0,930(**)  | 0,969(**)  |
|         | MMHg  | 0,964(**)                  | 0,852(**)  | 0,131  | 0,797(**)  | 0,882(**)  | -0,948(**) | 0,998(**)  |            | 0,344  | 0,953(**)  | 0,969(**)  | 0,918(**)  | 0,973(**)  |
|         | %MMHg | 0,269                      | 0,198      | -0,191 | 0,127      | 0,159      | -0,187     | 0,295      | 0,344      |        | 0,342      | 0,336      | 0,147      | 0,321      |
| DW (mm) |       | 0,916(**)                  | 0,803(**)  | 0,087  | 0,688(**)  | 0,844(**)  | -0,878(**) | 0,949(**)  | 0,953(**)  | 0,342  |            | 0,973(**)  | 0,953(**)  | 0,955(**)  |
| DL (mm) |       | 0,915(**)                  | 0,799(**)  | 0,059  | 0,727(**)  | 0,872(**)  | -0,908(**) | 0,971(**)  | 0,969(**)  | 0,336  | 0,973(**)  |            | 0,968(**)  | 0,954(**)  |
| TL (mm) |       | 0,876(**)                  | 0,828(**)  | 0,238  | 0,742(**)  | 0,899(**)  | -0,866(**) | 0,930(**)  | 0,918(**)  | 0,147  | 0,953(**)  | 0,968(**)  |            | 0,899(**)  |
| W (mm)  |       | 0,886(**)                  | 0,727(**)  | 0,097  | 0,807(**)  | 0,852(**)  | -0,920(**) | 0,969(**)  | 0,973(**)  | 0,321  | 0,955(**)  | 0,954(**)  | 0,899(**)  |            |

## Vijoličasti morski bič

Pri tej vrsti smo imeli na razpolago 8 odraslih osebkov s podobnimi biometričnimi značilnostmi. Težko je bilo najti kakšne statistično značilne korelacije znotraj te vrste. Vse korelacije so predstavljene v tabeli 24 (stran 86). Je pa zanimivo, da smo kljub temu, da osebki vijoličastega morskega biča še zdaleč niso dosegali takšne velikosti kakor osebki kljunatega goloba, pri tej vrsti izmerili najvišje koncentracije THg in MMHg v vseh treh tkivih. Na sliki 30 (stran 89) so prikazane primerjave med vrstami glede na biometrične podatke, na slikah 31, 32 in 33 (strani 90-92) pa glede na koncentracije THg in MMHg v vseh treh tkivih (v primerjavo nisem vključila navadnega morskega biča, ker je bil en sam osebek). Zanimivo je, da so vijoličastega morskega biča šele nedavno prvič opazili v Severnem Jadranu (Mavrič in sod., 2004). Živi predvsem v tropskih in subtropskih morjih, k nam pa verjetno priplava zaradi povišanja temperature morja in izpraznjene niše morskih psov. Zato najbrž nima dovolj učinkovitih mehanizmov za izločanje Hg, o čemer seveda lahko le sklepamo. Treba bi bilo narediti še dodatne raziskave, na primer natančno analizo jeter (selen) in natančno analizo THg in MMHg v plenu.

Vijoličasti morski bič spada med pelaške vrste, medtem ko sta navadni in kljunati morski golob bentoški vrsti. Glede na različno ekologijo imajo lahko vijoličasti morski biči povišane koncentracije zaradi drugačne prehrane. Hranijo se namreč predvsem z ribami v vodnem stolpcu, ki vsebujejo višje koncentracije Hg, kot bentoški nevretenčarji na dnu, s katerimi se prehranjujeta navadni in kljunati morski golob.

Tabela 24: Koreacijski koeficienti za vijoličastega morskega biča (n=8) (Legenda: \*\* - korelacija je signifikantna pri stopnji tveganja 0,01, \* - korelacija je signifikantna pri stopnji tveganja 0,05, DW – širina diska v mm, DL – dolžina diska v mm, TL – celotna dolžina v mm, W – teža v kg)

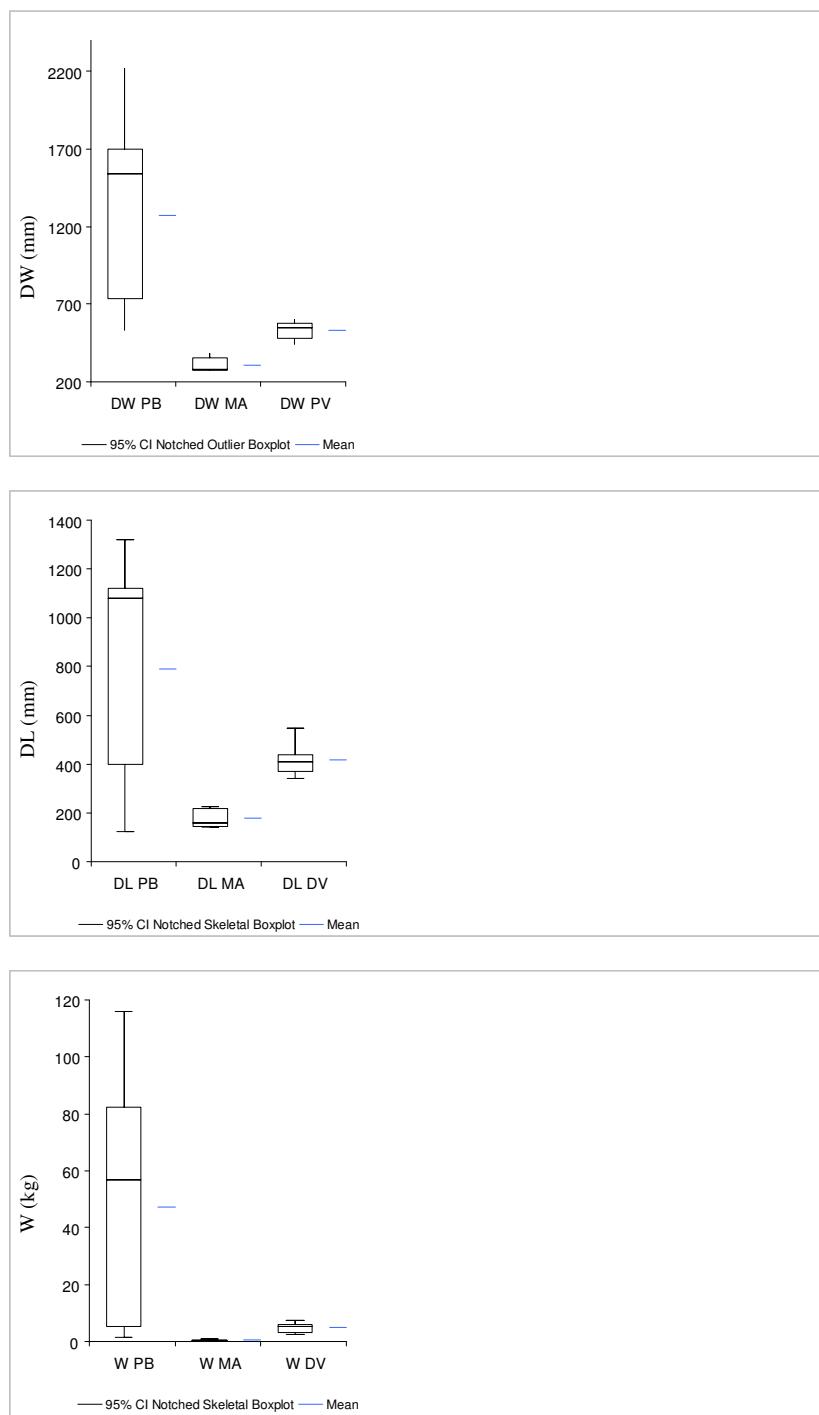
|         |        | koreacijski koeficient rp |          |        |           |           |           |           |           |        |           |           |           |           |
|---------|--------|---------------------------|----------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|         |        | škrge                     |          |        | jetra     |           |           | mišice    |           |        | DW (mm)   | DL (mm)   | TL (mm)   | W (kg)    |
|         |        | THg                       | MMHg     | % MMHg | THg       | MMHg      | % MMHg    | THg       | MMHg      | % MMHg |           |           |           |           |
| škrge   | THg    |                           | 0,791(*) | 0,153  | 0,746(*)  | 0,724(*)  | -0,228    | 0,845(**) | 0,875(**) | -0,332 | 0,445     | 0,563     | 0,682     | 0,384     |
|         | MMHg   | 0,791(*)                  |          | 0,326  | 0,650     | 0,614     | -0,245    | 0,659     | 0,597     | -0,383 | 0,457     | 0,563     | 0,663     | 0,372     |
|         | % MMHg | 0,153                     | 0,326    |        | 0,352     | 0,369     | -0,132    | 0,122     | 0,039     | -0,359 | -0,080    | 0,137     | -0,115    | -0,130    |
| jetra   | THg    | 0,746(*)                  | 0,650    | 0,352  |           | 0,938(**) | -0,438    | 0,519     | 0,543     | -0,258 | 0,159     | 0,134     | 0,502     | -0,046    |
|         | MMHg   | 0,724(*)                  | 0,614    | 0,369  | 0,938(**) |           | -0,103    | 0,499     | 0,558     | -0,147 | 0,366     | 0,320     | 0,561     | 0,166     |
|         | % MMHg | -0,228                    | -0,245   | -0,132 | -0,438    | -0,103    |           | -0,183    | -0,099    | 0,375  | 0,551     | 0,481     | 0,858(**) | 0,615     |
| mišice  | THg    | 0,845(**)                 | 0,659    | 0,122  | 0,519     | 0,499     | -0,183    |           | 0,982(**) | -0,663 | 0,482     | 0,684     | 0,609     | 0,508     |
|         | MMHg   | 0,875(**)                 | 0,597    | 0,039  | 0,543     | 0,558     | -0,099    | 0,982(**) |           | -0,518 | 0,505     | 0,678     | 0,630     | 0,523     |
|         | % MMHg | -0,332                    | -0,383   | 0,359  | -0,258    | -0,147    | 0,360     | -0,663    | -0,518    |        | -0,290    | -0,429    | 0,019     | -0,304    |
| DW (mm) |        | 0,445                     | 0,457    | -0,080 | 0,159     | 0,366     | 0,551     | 0,482     | 0,505     | -0,290 |           | 0,862(**) | 0,935(**) | 0,961(**) |
| DL (mm) |        | 0,563                     | 0,563    | 0,137  | 0,134     | 0,320     | 0,481     | 0,684     | 0,678     | -0,429 | 0,862(**) |           | 0,791(*)  | 0,913(**) |
| TL (mm) |        | 0,682                     | 0,663    | -0,115 | 0,502     | 0,561     | 0,858(**) | 0,609     | 0,630     | 0,019  | 0,935(**) | 0,791(*)  |           | 0,926(**) |
| W (kg)  |        | 0,384                     | 0,372    | -0,130 | -0,046    | 0,166     | 0,615     | 0,508     | 0,523     | -0,304 | 0,961(**) | 0,913(**) | 0,926(**) |           |

#### 5.4 Primerjava med vrstami

Na sliki 30 (stran 89) so prikazani biometrični podatki za posamezne vrste v obliki boxplotov. Iz grafov je razvidna povprečna vrednost, mediana in razpon vrednosti za posamezno vrsto. Tukaj se lepo vidi, da najvišje vrednosti DW, DL in W dosegajo kljunati morski golobi. Navadni morski golobi in vijoličasti morski biči so v primerjavi z kljunatimi morskimi golobi precej manjši. Njihove vrednosti dosegajo nekako spodnje vrednosti DW, DL in W kljunatih morskih golobov.

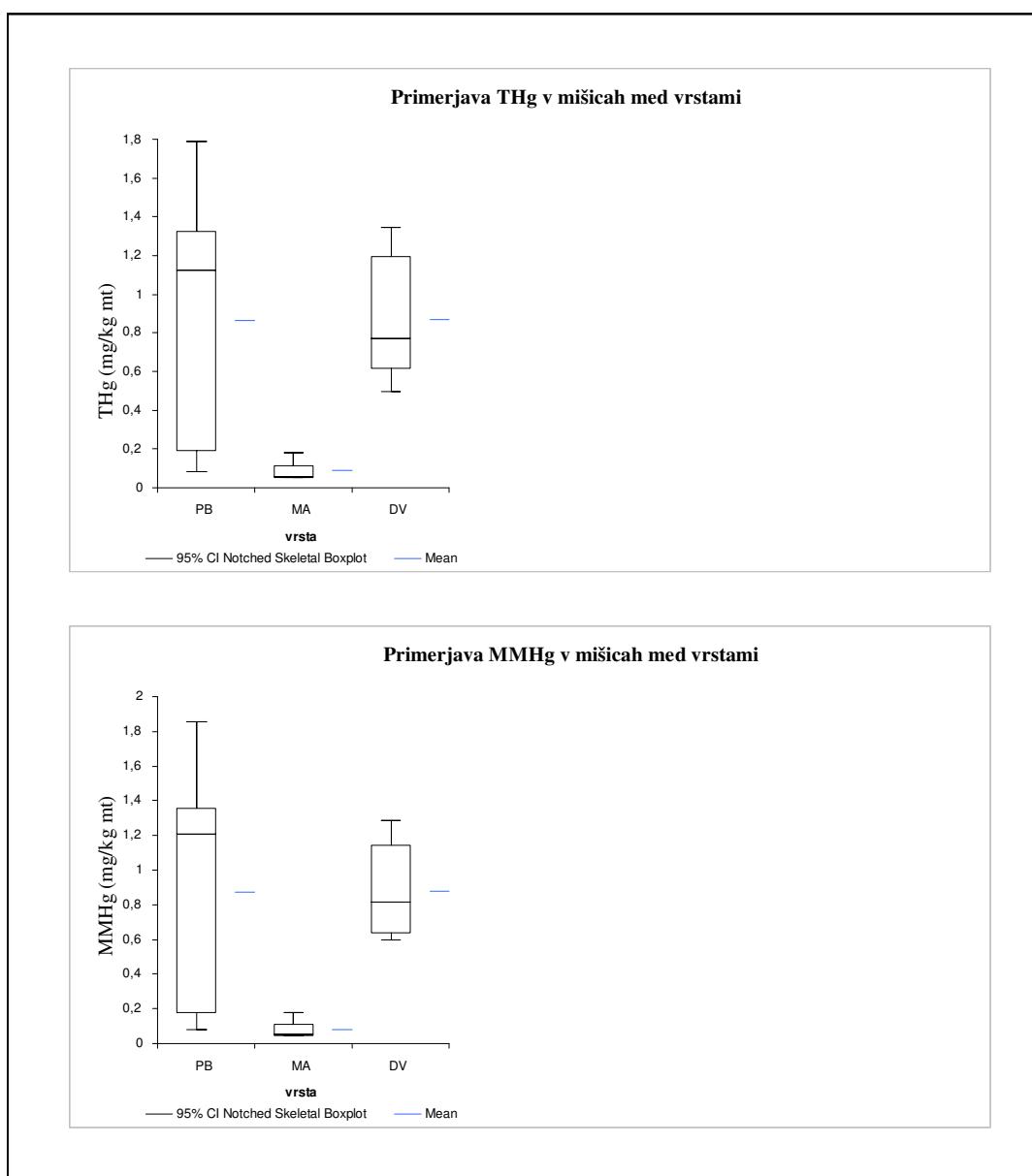
Na slikah 31, 32 in 33 (strani 90-92) so prikazane koncentracije THg in MMHg za posamezne vrste v vseh treh tkivih v obliki boxplotov. Tu se lepo vidi, da so najvišje koncentracije Hg v vseh treh tkivih vijoličastih morskih bičov. Izstopajo predvsem koncentracije THg in MMHg v škrgah in pa MMHg v jetrih.

Deleži MMHg so predstavljeni samo v tabelah 15, 16(a,b) in 17 (stran 72 in 73) in jih nisem grafično ponazorila. Z besedami so na strani 71 predstavljene minimalne in maksimalne vrednosti deležev MMHg v tkivih pri posameznih vrstah. Opazili smo, da se je pri vseh štirih vrstah delež MMHg gibal med 90 in 100 %. Tudi zarodka kljunatega morskega goloba sta imela visoke deleže MMHg v mišicah (87,6 % in 80,9 %). V škrgah so imele največji razpon deležev MMHg samice kljunatih morskih golobov (44,8%-91,9 %), največje povprečne vrednosti deležev MMHg v škrgah pa navadni morski golob (89,8 %) in vijoličasti morski bič (84,7 %). Največji razpon deležev MMHg je bilo opaziti pri kljunatem morskem golobu (23,6 % - 100%). Starejši in večji osebki so imeli nižje deleže MMHg v jetrih kakor mlajši osebki. Najvišji delež MMHg v jetrih smo opazili pri vijoličistem morskem biču (95,4 % - 97,1). Kot sem že omenila, je ta vrsta k nam prišla od drugod in morda ni najbolje prilagojena okolju s povišanimi koncentracijami Hg.



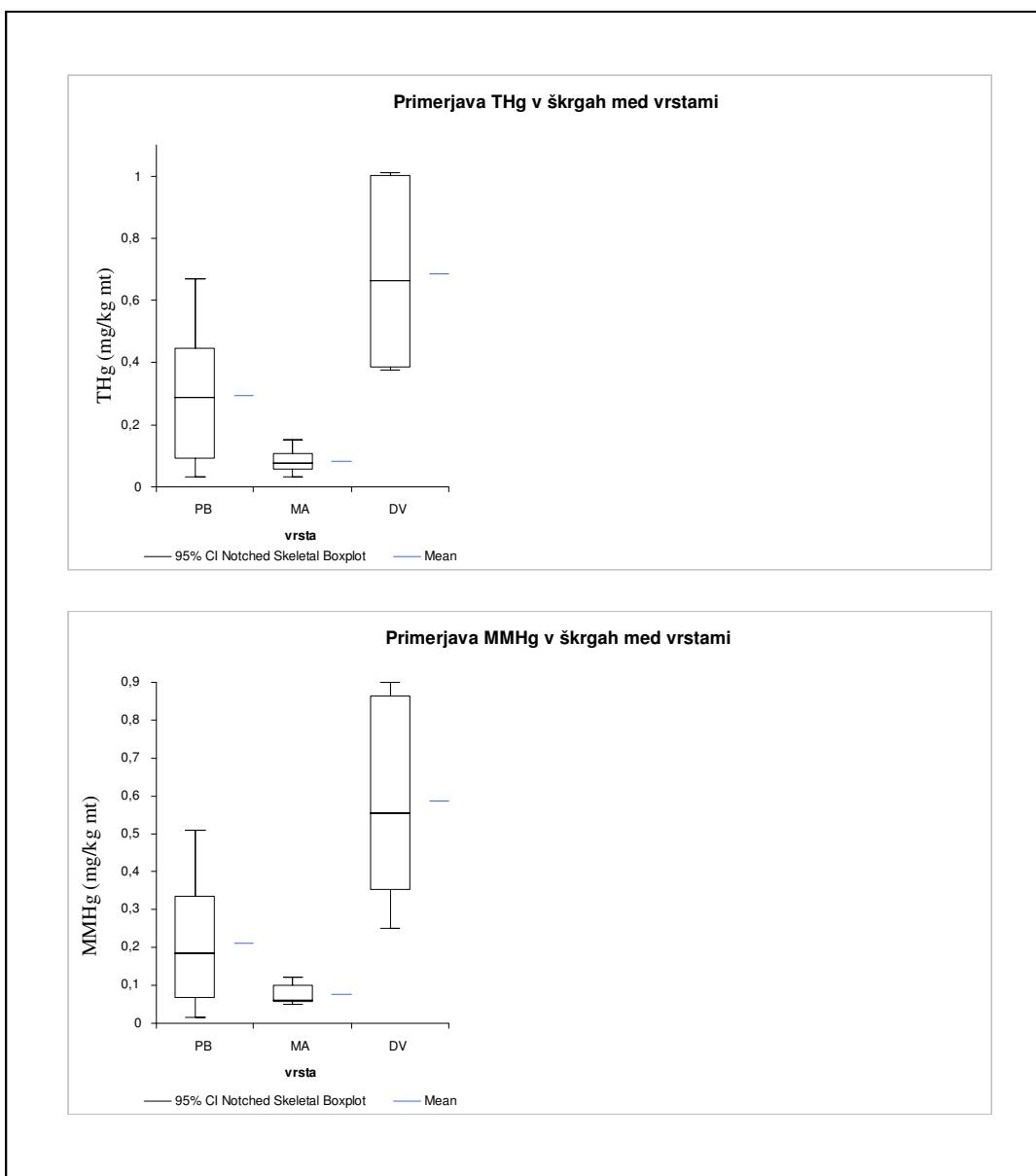
Slika 30: Biometrična porazdelitev osebkov posameznih vrst glede na širino in dolžino diska ter težo živali; na grafu so prikazani povprečna vrednost, mediana, interkvartilni razmik in razpon vrednosti za posamezno vrsto

Legenda: DW PB – širina diska kljunatega morskega goloba, DW MA – širina diska navadnega morskega goloba, DW DV(PV) – širina diska vijoličastega morskega biča; DL PB – dolžina diska kljunatega morskega goloba, DL MA – dolžina diska navadnega morskega goloba, DL DV – dolžina diska vijoličastega morskega biča, W PB – teža kljunatega morskega goloba, W MA – teža navadnega morskega goloba, W DV – teža vijoličastega morskega biča



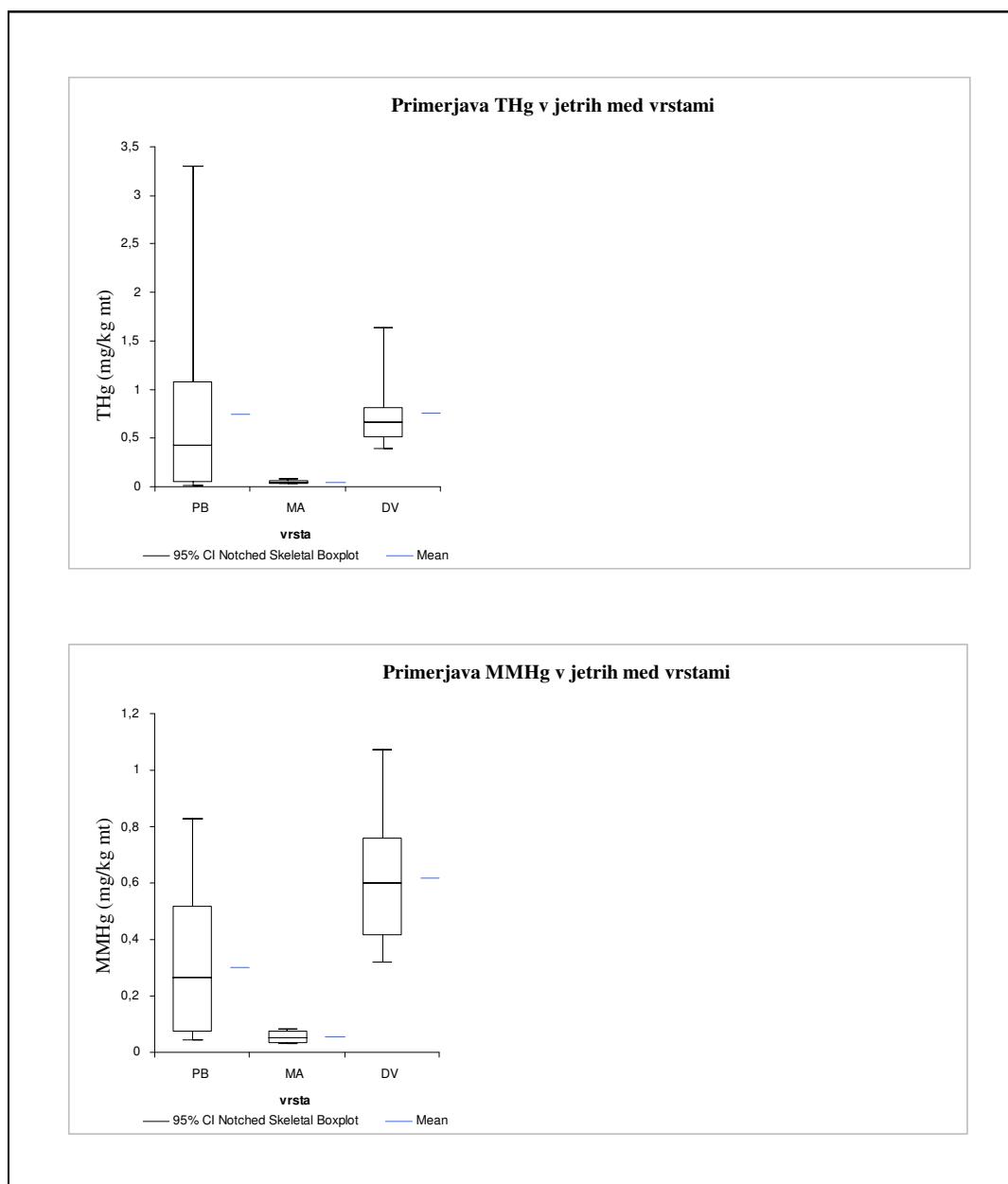
Slika 31: Primerjava THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v mišicah kljunatega morskega goloba, navadnega morskega goloba in vijoličastega morskega biča; na grafu so prikazani povprečna vrednost, mediana, interkvartilni razmik in razpon vrednosti za posamezno vrsto

Legenda: PB – klunati morski golob, MA – navadni morski golob, DV (PV) – vijoličasti morski bič



Slika 32: Primerjava THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v škrghah kljunatega morskega goloba, navadnega morskega goloba in vijoličastega morskega biča; na grafu so prikazani povprečna vrednost, mediana, interkvartilni razmik in razpon vrednosti za posamezno vrsto

Legenda: PB – klunati morski golob, MA – navadni morski golob, DV (PV) – vijoličasti morski bič



Slika 33: Primerjava THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v jetrih kljunatega morskega goloba, navadnega morskega goloba in vijoličastega morskega biča; na grafu so prikazani povprečna vrednost, mediana, interkvartilni razmik in razpon vrednosti za posamezno vrsto

Legenda: PB – kljunati morski golob, MA – navadni morski golob, DV (PV) – vijoličasti morski bič

Pri vseh vrstah se povprečna stopnja bioakumulacije v različnih organih med seboj precej razlikuje. Razporejanje Hg po organih naj bi bilo odvisno od režima prehranjevanja posamezne vrste (Régine in sod., 2006). Hrana, ki je umetno obogatena z MMHg oziroma anorganskim Hg, pogojuje različno razporejanje in kopičenje Hg v organih rib (Boudou in Ribeyre, 1984). Rezultati te naloge so pokazali znatne razlike v vsebnosti Hg v škrgah, jetrih in mišicah znotraj vrste (glej sliko 14, str. 51; slika 17, str. 56 in slika 24, str. 66). Največ Hg smo izmerili v mišicah, nato v škrgah in nazadnje v jetrih. Velike razlike se kažejo tudi med posameznimi vrstami (glej slike 31, 32, 33, stran 90-92). Hg zaradi svoje vztrajnosti in visoke mobilnosti v morskem ekosistemu kaže visoko stopnjo biomagnifikacije v zgornjih nivojih prehranjevalne verige. Navadni morski golobi so imeli najnižje koncentracije THg in MMHg v mišicah, najvišje pa kljunati morski golobi in vijoličasti morski biči. Vijoličasti morski biči imajo visoke koncentracije obeh oblik Hg, čeprav so precej manjši od kljunatega morskega goloba (glej sliko 30 na strani 89). Visoke koncentracije Hg v tkivih vijoličastega morskega biča bi lahko pripisali drugačnemu prehranjevanju ali pa nesposobnosti detoksifikacije MMHg.

Rezultati kažejo precej visoke koncentracije THg in MMHg v škrgah pri vseh treh vrstah. Številne raziskave pričajo o sposobnosti škržnega tkiva, da akumulira velike količine kovin iz vode (Malatt, 1985). Privzem Hg iz vodnega okolja naj bi potekal pasivno in aktivno (Andres in sod., 2002). Znaten prispevek h koncentraciji Hg v rabi ima poleg trofičnega prenosa tudi direkten prenos Hg preko škrg, ki prispeva Hg v anorganski obliki (Oliveira Ribeiro in sod., 2002). Škrge imajo precejšnjo stično površino z okoliško vodo in visoko sposobnost hranjenja anorganskega Hg. Glede na raziskave bi pričakovali, da bo v škrgah delež MMHg nižji, vendar pa je dosegal deleže MMHg tudi do 100 %. Koncentracije THg in MMHg so pri vijoličastem morskem biču v škrgah tudi do 10-krat višje kakor pri kljunatem morskem golobu. Pričakovala pa bi ravno obraten rezultat, saj kljunati morski golob spada med bentoške organizme in se zadržuje pretežno na dnu, kjer v sedimentu potekajo procesi metilacije in so koncentracije Hg v vodi precej višje kakor v zgornjih slojih. Glede na podatke o koncentracijah THg in MMHg v morski vodi (str.13, tabela 2) bi iz raziskav lahko sklepali, da kljunati morski golob akumulira več Hg iz morske vode kakor vijoličasti morski bič, čemur pa, sodeč po rezultatih, ni tako. Morda MMHg pri vijoličastih morskih bičih v večji meri prihaja v škrge tudi z indirektnim prenosom, t.j. s

prehrano. Na splošno velja, da je distribucija Hg in MMHg iz škrge v notranje okolje precej nižja od tiste preko črevesja (Andres in sod., 2002). Višje koncentracije Hg v škrghaj naj torej ne bi v tolikšni meri vplivale na razporejanje Hg po drugih organih, ostaja pa vprašanje, kako se Hg razporeja v obratni smeri in koliko časa se MMHg, ki se akumulira v škrghaj, izloča.

Jetra so pomemben organ akumulacije pri vodnih vretenčarjih (Olsvik in sod., 2001). Vsebujejo višji odstotek  $Hg^{2+}$  kakor druga tkiva, vendar vrednosti variirajo od vrste do vrste (Riisgård in Hansen, 1990). Hg ima številne negativne učinke v jetrih organizmov. Fabrri in sodelavci (2003) so ugotovili, da  $Cd^+$  in  $Hg^{2+}$  inhibirata sproščanje glukoze in biosintezo cAMP v jetrih jegulje, kar zmanjšuje dostopnost glukoze v organizmu. Obstajajo tudi podatki o učinkih Hg na pomanjkanje  $Ca^{2+}$  v hepatocitah skatov (Nathanson in sod., 1995). V jetrih poteka demetilacija. MMHg se tu naprej skladišči v obliki HgSe (živosrebrov selenid, tiemanit). Selen tako pripomore k detoksifikaciji Hg. (Kosta in sod., 1975). HgSe se kopiči v citoplazmi jetrnih celic (Cardelluccio in sod., 2002). Poleg vezave Hg s selenom so možni tudi drugi detoksifikacijski procesi v jetrih, ki so jih med drugim opazili pri delfinih, npr. vezava z metalotioneini ali tioli, kot je glutation (GSH) (André in sod., 1990). Daleč najvišje koncentracije THg in MMHg v jetrih smo izmerili pri vijoličastem morskom biču, najnižje pa pri navadnem morskom golobu. Pri kljunatem morskom golobu je opaziti zmanjšanje deleža toksičnega MMHg v jetrih z naraščanjem starosti oz. širine diska in drugih biometričnih lastnosti.

Menimo, da so jetra in škrge slabši pokazatelj dolgoročnega kopiranja Hg kakor mišice. V jetrih namreč potekajo detoksifikacijski procesi - vezava Hg s selenom in z metalotioneini ter izločanje v žolč. Škrge so, podobno kot prebavni trakt, prenosnik Hg iz okolice v organizem. To funkcijo opravljajo transportni proteini na membranskih celicah (Andres in sod., 2002).

Velika odstopanja v vsebnosti Hg med različnimi vrstami so skladna s procesi privzemanja te kovine in interakcijami tako z abiotskimi (voda in sedimenti) kakor z biotskimi parametri (velikost, spol, stopnja rasti, prehranjevalne navade, trofični nivo, habitat). Iz podatkov je razvidno, da bentoške vrste kažejo višjo koncentracijo THg v mišicah kakor

pelaške, kar potrjuje pomembnost procesa sedimentacije in prisotnost živega srebra v morskih globinah. Razlike se kažejo tudi pri osliču (*Merluccius merluccius*) in bradaču (*Mullus barbatus*) iz Jadranskega morja (Storelli in sod., 2005). Bradač, ki je bentoška vrsta, ima višje koncentracije Hg v mišicah, saj je v stiku zlasti z zgornjim slojem sedimenta, ki je pomembno mesto metilacije. Pomembno vlogo pri kopičenju Hg ima tudi prehrana. V nalogi smo izmerili koncentracije THg in MMHg tudi v plenu. Navadni in kljunati morski golobi se prehranjujejo predvsem z bentoškimi nevretenčarji. V njihovih želodcih so našli predvsem ostanke volekov (*Murex truncatus*). Kot sem omenila že pri opisu plena, spadajo voleki med mesojedce. Pri njih smo izmerili nepričakovano visoke koncentracije THg in MMHg. Delež MMHg je znašal kar 51,8 %. V želodcih vijoličastih morskih bičev so našli predvsem ostanke inčunov. Koncentracije THg so bile pri inčunih za polovico nižje kot pri volekih, vendar pa je bil delež MMHg pri tej vrsti najvišji (71 %). Vijoličasti morski bič se v veliki meri prehranjuje tudi z rdečim mečakom. Pri tej vrsti smo izmerili najnižje koncentracije Hg. Tudi delež MMHg je bil nepričakovano nizek (38,2 %). Rezultati THg in MMHg ter delež MMHg v plenu so predstavljeni v tabeli 19 (stran 75).

Številne raziskave so pokazale, da se večina Hg v mišičnem tkivu rib kopči v metilirani obliki. Andersen in Depledge (1997) sta poročala o 63 % in 86 % MMHg v mišičnem tkivu različnih vrst rib. Joiris in sodelavci (1999) so ugotovili, da je Hg v mišičnem tkivu sardin pretežno v organski obliki (> 85 %), Storelli in sodelavci (2002), Storelli & Giacominelli Stuffler (2003) in Storelli in sodelavci (2003) pa so poročali o deležu MMHg v mišičnem tkivu tun, ki se je gibal med 75-100% oziroma 94-100 %. Delež glavne oblike Hg, ki se akumulira v vodnem živem svetu, se razlikuje glede na taksonomska debla, katerim pripadajo določene vrste (Anderson & Depledge, 1997). Kar zadeva hrustančnice, je v mišičnem tkivu morskih psov 66 % Hg v metilirani obliki (Walker, 1976), deleža v mišičnem tkivu trneža (*Squalus acanthias*) in sinjega morskega psa (*Prionace glauca*) pa sta višja in se gibljeta med 81% in 98% (~91 %) MMHg. Delež MMHg v tkivu električnega skata (81%) in delež MMHg v tkivu navadnega morskega goloba (72 %) sovpadata s prej omenjenimi podatki za hrustančnice (Storelli in sod., 2002). V naših vzorcih navadnega morskega goloba se delež MMHg v mišičnem tkivu giblje med 82,3 % in 97,1 % (~ 90,59), v mišičnem tkivu kljunatega morskega goloba med 90 % in 100 % (~

98 %), pri morskem biču pa med 93,1 % in 100 % (~ 99,1 %). Pri navadnem morskem biču je bil delež MMHg v mišičnem tkivu 100 %.

Prisotnost tako velikega deleža toksične substance v mišičnem tkivu rib v veliki meri vpliva tudi na ljudi, saj prehrana z ribami pomembno vpliva na vnos toksične organske oblike Hg. Vsekakor je potrebna preventiva z meritvami Hg v ribah, s katerimi se prehranjujemo (Galal-Gorchev, 1993; Cuadrado in sod., 1995).

Opazili smo izrazito pozitivno korelacijo med THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v mišičnem tkivu pri vseh treh vrstah (0,969 pri *Dasyatis violacea*, 0,998 pri *Myliobatis aquila* in 0,995 pri *Pteromylaeus bovinus*). Pozitivna in statistično pomembna je tudi korelacija med THg in MMHg v škrgah in jetrih (slike 16, 19 in 26, str. 52, 57 in 67).

Najboljše korelacije med vsebnostmi THg in MMHg in starostjo (DW, DL, TL, W) se kažejo pri kljunatem morskem golobu. Odnos med velikostjo (starostjo) in THg in MMHg v mišicah je v treh ribjih vrstah [cipelj (*Lisa aurata*), ribon (*Pagellus erythrinus*) in ugor (*Conger conger*)] iz Tržaškega zaliva proučevala že Horvat s sodelavci (1999). Pri teh vrstah niso opazili statistično značilnih korelacij med THg in MMHg ter starostjo (težo). To so pripisali predvsem slabemu vzorcu starosti pri ribah, saj so bile približno enakih starosti. Pri kljunatem morskem golobu so te korelacije zelo lepo vidne (glej slike 20, 21, 22, 23, na straneh 58-61), saj smo imeli na razpolago osebke od najmlajših do najstarejših. Tudi druge objave pričajo o tem, da so v starejših osebkih navadno višje koncentracije kakor v mlajših, kar je posledica daljše izpostavljenosti živemu srebru (Pellegrini & Bargigiani, 1989). Pozitiven odnos med koncentracijo THg in MMHg ter velikostjo rib navaja v svojem delu Storelli s sodelavci (2005): večje ribe kažejo višjo akumulacijo Hg kakor manjše.

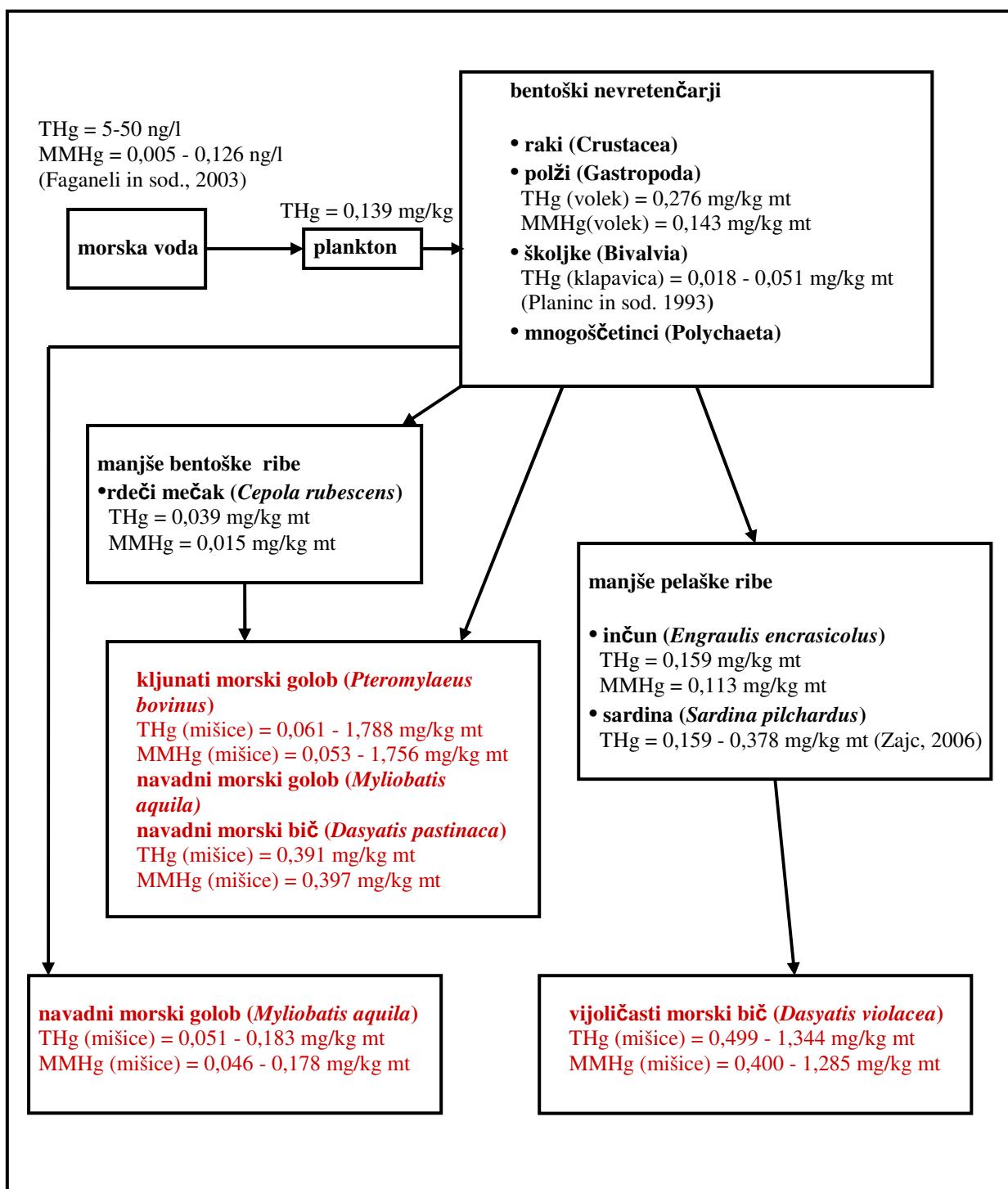
## 5.5 Bioakumulacija Hg v prehranjevalni verigi

Glede na to, da smo izmerili koncentracije Hg v hrustančnicah, ki so na koncu prehranjevalne verige, in njihovem plenu, smo se odločili, da s pomočjo že dokumentiranih podatkov v planktonu in vodi (Horvat in sod., 1999, Faganelli in sod., 2003) predstavimo še

bioakumulacijo Hg v prehranjevalni verigi. Delež MMHg naj bi naraščal v prehranjevalni verigi od nižjih k višjim členom. Dober primer takšnega prenosa so rezultati iz Little Rock Lake, kjer je povprečni delež MMHg v vodnem stolpcu, fitoplanktonu, zooplanktonu in ribi 10, 15, 30 in 95% (Watras & Bloom, 1992). Na bioakumulacijo Hg in trofični prenos vplivajo trofična plastičnost, razlike v ekologiji živali in razlike v metabolnih stopnjah (Back & Watras, 1995). Zelo malo raziskav na to temo je opravljenih v morskih prehranjevalnih verigah.

Nekaj podatkov je na voljo o koncentracijah Hg v planktonu iz Sredozemskega morja. Ti podatki so si zelo različni, s povprečnimi vrednostmi BKF (biokoncentracijski faktor) med 1000 in 5000. Delež MMHg v mešanem planktonu je približno 20 % (Bernhard, 1988). Model, ki temelji na preprosti pelaški prehranjevalni verigi morska voda → plankton → sardine → tuna, ima 2% MMHg v morski voda, 60-90 % MMHg v sardinah (odvisno od starosti) in 100 % MMHg v tuni (Bernhard, 1985).

V našem primeru gre za dokaj enostavne prehranjevalne verige (slika 34).



Slika 34: Poenostavljen prikaz prenosa Hg od morske vode do končnega člena v prehranjevalni verigi

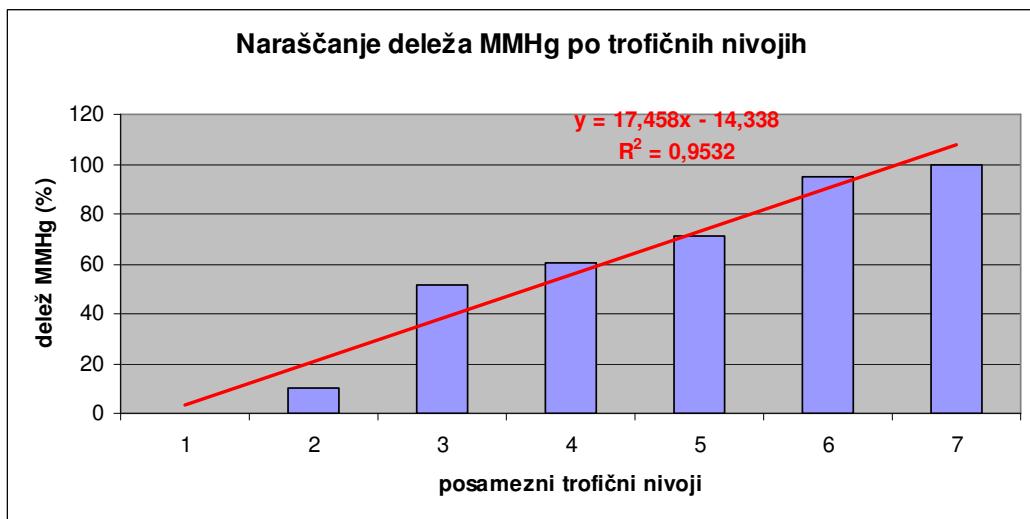
Stopnjo bioakumulacije in BKF lahko določimo na osnovi koncentracije Hg v morski vodi in koncentracije Hg v planktonu, bentoških nevretenčarjih, bentoških in pelaških ribah ter nazadnje v morskih golobih ter vijoličastem morskem biču:

$$BKF = \frac{[Hg]_{riba}}{[Hg]_{voda}} \quad (2)$$

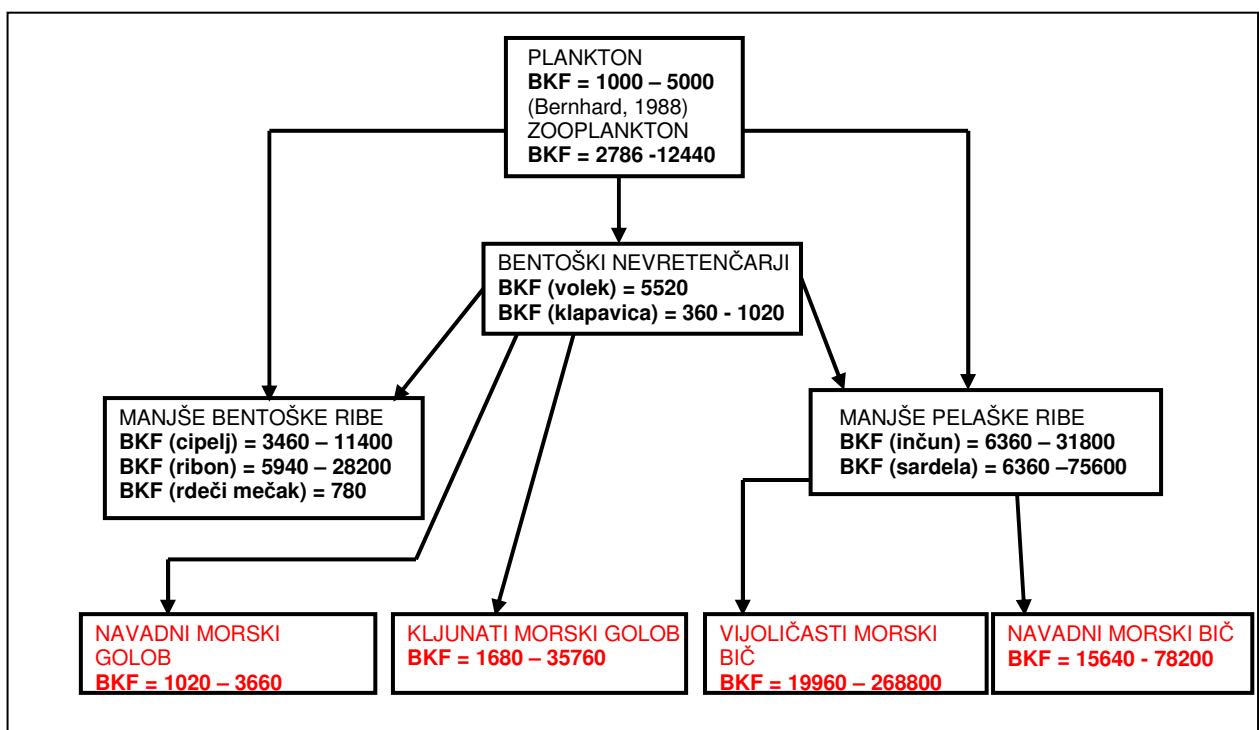
V tabeli 25 so prikazani deleži MMHg v mišicah v posameznih delih prehranjevalne verige, na sliki 35 pa je naraščanje deleža MMHg po prehranjevalni verigi navzgor predstavljeno tudi grafično.

Tabela 25: Delež MMHg (%) v mišicah v posameznih delih prehranjevalne verige (pri bentoških nevretenčarjih sem upoštevala le voleka brez hišice)

|          | morska voda                                   | plankton                                      | bentoški nevretenčarji | manjše bentoške ribe | manjše pelaške ribe | večje bentoške ribe | večje pelaške ribe |
|----------|---|---|------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
| (%) MMHg | < 0,02  | 6-17,2  | 51,79                  | 57-77                | 38-71               | 90-100              | 100                |
|          | Horvat in sod., 1999; Faganelli in sod., 2003 | Horvat in sod., 1999; Faganelli in sod., 2003 | To delo                | Fonda, 1998          | To delo             | To delo             | To delo            |



Slika 35: Prikaz naraščanja deleža MMHg v mišicah po prehranjevalni verigi navzgor (Legenda: 1 – morska voda, 2 – plankton, 3 – bentoški nevretenčarji, 4 – manjše bentoške ribe, 5 – manjše pelaške ribe, 6 – večje bentoške ribe, 7 – večje pelaške ribe)

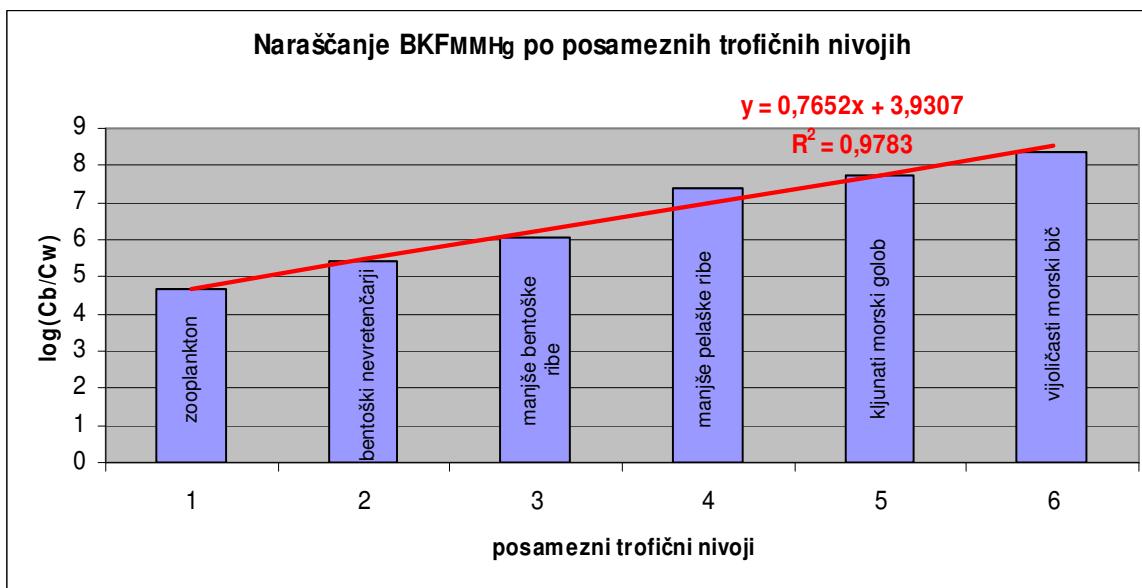


Slika 36: Prikaz biokoncentracijskih faktorjev (BKF) za THg na posameznih trofičnih nivojih

Na sliki 36 so prikazane vrednosti BKF za THg. Vrednosti  $BKF_{THg}$  naraščajo po prehranjevalni verigi navzgor, kar je lepo razvidno tudi iz slike, vendar pa nam  $BKF_{THg}$  ne pove veliko, zato smo izračunali še BKF za MMHg in njegovo naraščanje po prehranjevalni verigi prikazali tudi grafično na sliki 37.

Tabela 26: BKF<sub>THg</sub> in BKF<sub>MMHg</sub> na posameznih trofičnih nivojih

|                               |                        | BKF THg                             | BKF MMHg  |
|-------------------------------|------------------------|-------------------------------------|---|
| <b>zooplankton</b>            |                        | $1,2 \times 10^3$                   | $4,8 \times 10^4$                                     |
| <b>bentoški nevretenčarji</b> | klapavica              | $4,0 \times 10^3$                   | $2,6 \times 10^5$                                     |
|                               | volek                  | $2,2 \times 10^3$                   | $1,0 \times 10^7$                                     |
| <b>manjše bentoške ribe</b>   | cipelj                 | $9,1 \times 10^3$                   | $1,4 \times 10^7$                                     |
| <b>manjše pelaške ribe</b>    | inčun                  | $5,6 \times 10^4$                   | $2,5 \times 10^7$                                     |
| <b>večje bentoške ribe</b>    | navadni morski golob   | $4,2 \times 10^3 – 1,5 \times 10^4$ | $3,4 \times 10^6 – 1,3 \times 10^7 (5,8 \times 10^6)$ |
|                               | kljunati morski golob  | $5,9 \times 10^3 – 1,3 \times 10^5$ | $5,0 \times 10^6 – 1,2 \times 10^8 (5,7 \times 10^7)$ |
|                               | navadni morski bič     | $1,4 \times 10^5$                   | $9,1 \times 10^7$                                     |
| <b>večje pelaške ribe</b>     | vijoličasti morski bič | $2,1 \times 10^5 – 6,0 \times 10^5$ | $1,6 \times 10^8 – 3,5 \times 10^8 (2,3 \times 10^8)$ |



Slika 37: Prikaz naraščanja  $BKF_{MMHg}$  po posameznih trofičnih nivojih;  $C_b = [Hg]$  v živem svetu,  $C_w = [Hg]$  v morski vodi

Koncentracije MMHg naraščajo po posameznih trofičnih nivojih tako v pelaški kot bentoški komponenti prehranjevalne verige. Prav tako narašča BKF, ki znaša od  $8,3 \times 10^4$  za bentoške makroinvertebrate, do  $3,7 \times 10^6$  za ribje vrste (Becker & Bigham, 1995).

## 5.6 Primerjava z drugimi območji

Ugotovili so, da so koncentracije THg pri vrstah iz Jadranskega morja izrazito višje kot pri tistih iz Jonskega morja. Te razlike so posledica različne zastopanosti Hg v okolju (Storelli in sod., 2005). Dokazano je, da so najvišje koncentracije Hg v Sredozemskem, Egejskem in Jadranskem morju (Storelli in sod., 2002).

Primerjava štirih vrst hrustančnic z drugimi vrstami v Sredozemskem morju je težavna zaradi pomanjkanja raziskav na temo živega srebra in njegove speciacije. Nekaj podatkov je na voljo le o navadnem morskem golobu (Storelli in sod., 2002).

Agah in sodelavci (2007) so merili koncentracije THg in MMHg pri večih ribjih vrstah v Perzijskemu zalivu in Kaspijskemu morju. Koncentracije živega srebra so se gibale med

0,012-0,087 mg/kg mt s povprečjem pri 0,037 mg/kg mt. Teža rib se je gibala med 71 in 399 g, njihova dolžina pa od 18 do 40,6 cm. Opazili so pozitivne korelacije med dolžino rib in vsebnostjo MMHg v njih.

### **5.7 Implikacije s prehranjevalno verigo v Tržaškem zalivu**

V Evropi je mejna vrednost za THg v morski hrani 0,5 µg/g mt, za užitne dele nekaterih vrst, ki zaradi fizioloških in ekoloških razlogov lažje kopijo živo srebro kot druge vrste, pa je mejna vrednost 1,0 µg/g (Commission of the European Communities, 2001). Med te vrste spadajo tiste, ki so visoko na trofičnem nivoju (plenilci), in tiste, ki so v stiku z sedimentom (bentoške vrste). Mednje spadata tudi navadni morski golob in kljunati morski golob ter navadni morski bič. Tržaški zaliv je uvrščen med območja, ki so najbolj kontaminirana z Hg tako v primerjavi s Sredozemskim morjem kakor tudi nasploh po svetu. Posledica je obremenjenost tamkaj živečih organizmov, ki kopijo znatne količine Hg v tkivih. Hg je prisotno predvsem v metilirani obliki, ki je toksična za organizme.

Tabela 27: Podatki THg (mg/kg mt) in MMHg (mg/kg mt) v mišičnem tkivu pri nekaterih vrstah iz Tržaškega zaliva

| vrsta  | THg (mg/kg mt)       | St.Dev.      | MeHg (mg/kg mt) | St.Dev.       | vir                                  |
|--|----------------------|--------------|-----------------|---------------|--------------------------------------|
| KLAPAVICA<br>( <i>Mytilus galloprovincialis</i> )        | <b>0,018 - 0,051</b> | /            | ni podatka      | /             | Planinc in sod., 1993                |
| ČOKATI VOLEK<br>( <i>Murex trunculus</i> )               | <b>0,276</b>         |              | <b>0,143</b>    | <b>0,025</b>  | To delo                              |
| RDEČI MEČAK<br>( <i>Cepola rubescens</i> )               | <b>0,039</b>         |              | <b>0,015</b>    | <b>0,001</b>  | To delo                              |
| INČUN<br>( <i>Engraulis encrasicholus</i> )              | <b>0,159</b>         |              | <b>0,113</b>    | <b>0,0162</b> | To delo                              |
| CIPELJ<br>( <i>Liza aurata</i> )                         | <b>0,173</b>         | <b>0,002</b> | ni podatka      | /             | Zajc, 2006                           |
|  | <b>0,570</b>         | <b>0,030</b> | ni podatka      | /             | Zajc, 2006                           |
| CIPELJ<br>( <i>Liza aurata</i> )                         | <b>0,114</b>         | <b>0,065</b> | <b>0,065</b>    | <b>0,04</b>   | Fonda, 1998,<br>Horvat in sod., 1999 |
| SARDELA<br>( <i>Clupea pilchardus</i> )                  | <b>0,159</b>         | <b>0,007</b> | ni podatka      | /             | Zajc, 2006                           |
|  | <b>0,378</b>         | <b>0,019</b> | ni podatka      | /             | Zajc, 2006                           |
| OSLIČ<br>( <i>Merluccius merluccius</i> )                | <b>0,242</b>         | <b>0,006</b> | ni podatka      | /             | Zajc, 2006                           |
| SKUŠA<br>( <i>Scomber scomber</i> )                      | <b>0,107</b>         | <b>0,004</b> | ni podatka      | /             | Zajc, 2006                           |
|  | <b>0,0788</b>        | <b>0,002</b> | ni podatka      | /             | Zajc, 2006                           |
| RIBON<br>( <i>Pagellus erythrinus</i> )                  | <b>0,297</b>         | <b>0,123</b> | <b>0,229</b>    | <b>0,08</b>   | Fonda, 1998,<br>Horvat in sod., 1999 |
| RIBON<br>( <i>Pagellus erythrinus</i> )                  | <b>0,33-1,41</b>     | /            | ni podatka      | /             | Planinc in sod., 1993                |
| UGOR<br>( <i>Conger conger</i> )                         | <b>0,864</b>         | <b>0,061</b> | ni podatka      | /             | Zajc, 2006                           |
| UGOR<br>( <i>Conger conger</i> )                         | <b>0,669</b>         | <b>0,214</b> | <b>0,503</b>    | <b>0,11</b>   | Fonda, 1998,<br>Horvat in sod., 1999 |
| NAVADNI MORSKI GOLOB<br>( <i>Myliobatis aquila</i> )     | <b>0,086</b>         | <b>0,056</b> | <b>0,08</b>     | <b>0,057</b>  | To delo                              |
| KLJUNATI MORSKI GOLOB<br>( <i>Pteromylaeus bovinus</i> ) | <b>0,770</b>         | <b>0,645</b> | <b>0,770</b>    | <b>0,66</b>   | To delo                              |
| VIJOLIČASTI MORSKI BIČ<br>( <i>Dasyatis violacea</i> )   | <b>0,881</b>         | <b>0,324</b> | <b>0,881</b>    | <b>0,272</b>  | To delo                              |
| NAVADNI MORSKI BIČ<br>( <i>Dasyatis pastinaca</i> )      | <b>0,391</b>         | /            | <b>0,397</b>    | /             | To delo                              |

### 5.8 Predlogi za nadaljnjo raziskavo te tematike

Menimo, da bi bilo treba z nadalnjimi raziskavami te tematike postoriti še marsikaj. Izpostavili bi problem, ki se nanaša na ohranitveno biologijo. Pri vijoličastem morskem biču so bile koncentracije MMHg v jetrih, škrgh in mišicah zelo visoke, kar morda nakazuje, da ta vrsta ni prilagojena okolju s povišanimi koncentracijami Hg in da nima razvitih mehanizmov za detoksifikacijo Hg v jetrih. V Tržaški zaliv naj bi priplavala iz toplejših predelov Sredozemskega morja, kjer so koncentracije Hg precej nižje.

Smotrno bi bilo izmeriti Hg v ledvicah, ki so poleg jeter drugi glavni organ za kopičenje anorganskega Hg v ribah. Na vzorcu rib so opazovali tudi aktivnost encima ornitin aminotransferaze, ki sodeluje pri metabolizmu glutamina v jetrih in je pomemben člen za regulacijo glutaminske homeostaze. Encim ornitin aminotransferazo inhibirajo kovine, občutljiv pa je zlasti na Hg. (Wekell & Brown, 1973). Morda bi kazalo spremljati tudi aktivnost ozioroma inhibicijo ornitin aminotransferaze in sklepati o prisotnosti ozioroma odsotnosti Hg v jetrih.

Ne nazadnje bi morali na območju Tržaškega zaliva analizirati še druge plenilce na koncu prehranjevalnega spletja, kot so morske želve, morski psi in delfini.

## 6. POVZETEK

Naš predmet raziskave so bile hrustančnice, ki so jih ulovili v Severnem Jadranu, natančneje v Tržaškem zalivu. V Tržaški zaliv se že približno petsto let izlivajo s Hg kontaminirane vode reke Soče zaradi rudarjenja v Idrijskem bazenu (Horvat in sod., 1999). Tako je bil namen naloge izmeriti koncentracije THg in MMHg v škrgah, jetrih in mišicah štirih vrst hrustančnic: navadnega morskega goloba (*Myliobatis aquila*), kljunatega morskega goloba (*Pteromylaeus bovinus*), vijoličastega morskega biča (*Dasyatis violacea*) in navadnega morskega biča (*Dasyatis pastinaca*) ter koncentracije THg in MMHg v treh primerkih njihovega plena: voleku (*Murex truncatus*), ki je pretežni plen navadnega in kljunatega morskega goloba, rdečem mečaku (*Cepola rubescens*) in inčunu (*Engraulis encrasicholus*), ki sta pretežni plen vijoličastega morskega biča

Koncentracije THg smo merili s pomočjo metode kislinskega razkroja in kasnejšega merjenja na CV-AAS (povzeto po Horvat in sod, 1991), koncentracije MMHg pa z metodo prehlapevanja MMHgCN<sup>-</sup> iz vzorca na cisteinski papirček v mikrodifuzijski celici in kasnejše enojne oziroma dvojne ekstrakcije v toluen (metodo je razvila Horvat M., 1989) ter merjenju na GC-ECD.

Na osnovi podatkov o THg in MMHg smo lahko sklepali o dologoročni izpostavljenosti teh vrst Hg.

Pri navadnem morskem golobu (*Myliobatis aquila*) smo izmerili najnižje koncentracije THg in MMHg tako v mišicah kot tudi v škrgah in jetrih. Na razpolago smo imeli 5 osebkov, ki so bili večinoma mladi in temu primerno so bile nižje tudi koncentracije THg in MMHg.

Najbolj primerni za raziskavo dolgoročne izpostavljenosti Hg so bili osebki kljunatega morskega goloba (*Pteromylaeus bovinus*). Na razpolago smo imeli 17 osebkov, ki so bili zastopani od najmlajših do najstarejših. Izkazalo se je, da imajo starejši in večji organizmi višje koncentracije THg in MMHg v vseh treh tkivih. Raziskave so pokazale statistično značilne pozitivne korelacije THg in MMHg s širino diska (DW), dolžino diska (DL),

celotno dolžino živali (TL) in težo (W). Največja akumulacija MMHg je potekala v mišicah, kjer so deleži dosegali tudi 100%. THg in MMHg smo izmerili tudi pri dveh zarodkih, kar kaže na verjeten prenos Hg preko matere že v času brejosti. Pri kljunatem morskem golobu smo opazili zanimiv odnos med THg in MMHg v jetrih. Pri določeni koncentraciji Hg v jetrih se je rast koncentracije MMHg upočasnila neodvisno od THg. Raziskave so prav tako pokazale statistično značilne negativne korelacije med THg in deležem MMHg v jetrih. Pri tej vrsti so rezultati prav tako kazali razlike v vsebnosti THg in MMHg v tkivih samcev in samic. To smo preverili tudi s pomočjo neodvisnega T-testa, ki je potrdil statistično značilno razliko med vsebnostjo THg in MMHg v tkivih samcev in samic.

Najvišje koncentracije THg in MMHg v vseh treh tkivih smo izmerili pri vijoličastem morskem biču (*Dasyatis violacea*). Na razpolago smo imeli 8 odraslih osebkov s podobnimi biometričnimi podatki. To vrsto so pri nas prvič opazili šele leta 1999. K nam naj bi prišla iz južnejših morij. Visoke vrednosti Hg v tkivih te vrste so zaskrbljujoče predvsem z vidika ohranitvene biologije, saj morda ni prilagojena na okolje s povišanimi koncentracijami Hg. Preden pa delamo kakršnekoli zaključke, bi bilo smiselno izmeriti še koncentracije selena v tkivih (predvsem v jetrih) in tako sklepati o demetilacijski sposobnosti te vrste.

Izmerili smo tudi koncentracije THg in MMHg v plenu hrustančnic, in sicer v voleku (*Murex truncatus*), ki je plen navadnega in kljunatega morskega goloba ter rdečemu mečaku (*Cepola rubescens*) in inčunu (*Engraulis encrasicholus*), ki ju pleni vijoličasti morski bič. S pomočjo teh podatkov, in že znanih podatkov o koncentracijah Hg v morski vodi in planktonu, smo dobili vpogled v celoten obseg biomagnifikacije Hg.

Na koncu smo izračunali še biokoncentracijske faktorje (BKF) za THg in MMHg pri posameznih vrstah hrustančnic in njihovem plenu s pomočjo podatkov o THg in MMHg v morski vodi (Horvat in sod., 1999, Faganeli in sod., 2003). BKF je naraščal po posameznih trofičnih nivojih in je bil tako najvišji v končnem členu prehranjevalne verige, ki so ga zastopali morski golobi in morski biči. Izkazalo se je, da ima vijoličasti morski bič navečjo sposobnost bioakumulacije toksičnega MMHg.

Velika sposobnost bioakumulacije pri vrstah na koncu prehranjevalne verige, kamor spadajo tudi hrustančnice, ki smo jih analizirali v tej diplomske nalogi, je zaskrbljujoča predvsem z vidika ohranitvene biologije in prav tako prehrambene industrije, saj je Hg v preveliki dozi toksičen tudi za človeka.

## 7. VIRI

Ahmed, R., May, K. & Stoeppler, M. 1987. Wet deposition of mercury and methylmercury from atmosphere. *The Science of The Total Environment*. 60: 249-261.

Amyot, M., Gill, G.A.& Morel, F.M.M., 1997. Production and loss of dissolved gaseous mercury in coastal sea water. *Environmental Science and Technology* 31: 3606 3611.

Andersen, J.L.& Depledge, M.H. 1997. A survey of total mercury and methylmercury in edible fish and invertebrates from Azorean waters. *Mar. Environ.Res.* 44 (3): 331-350.

André, J.M., Ribeyre, F.& Boudou, A. 1990. Mercury contamination levels and distribution in tissues and organs of delphinids (*Stenella attenuata*) from the Eastern Tropical Pacific, in relation to biological and ecological factors. *Marine Environment Research*. 30(1): 43-72.

Andres, S., Laporte, J.& Mason, R. 2002. Mercury accumulation and flux across the gills and the intestine of the blue crab (*Callinectes sapidus*). *Aquatic Toxicology*. 56: 303-320.

Agah, H., Leermakers, M., Elskens, M., Fatemi, M.R. & Baeyens, W. 2007. Total Mercury and Methyl Mercury Concentrations in Fish from the Persian Gulf and the Caspian Sea. *Water Air Soil Pollut.* DOI 10.1007/s11270-006-9281-0. Springer Science+Business Media B.V.

Akagi, H. & Nishimura, H. 1991. Speciation of mercury in the environment. In: *Advances in Mercury Toxicology* (eds. T. Suzuki, N. Imura & T.W. Clarkson). Plenum Press, New York, pp. 53-76.

Allard, B. & Arsenie., I. 1991. Abiotic Reduction of Mercury by Humic Substances in Aquatic System - an Important Process for the Mercury Cycle. *Water Air and Soil Pollution*. 56: 457-464.

ATSDR 1999. Toxicological Profile for Mercury. Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, U.S.A.

Back, R.C. & Watras, C.J. 1995. In Mercury as a Global Pollutant (D.B. Porcella, J.W. Huckabee, B. Wheatley, eds.), Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, 931-938.

Bargagli R., Baldi F. & Leonzio C. 1985. Trace metal assessment in sediment, molluscs and reed leaves in the bay of Follonica (Italy). Marine Environmental Research. 16(4): 281-300.

Barkay, T., Gillman, M. & Turner, R.R., 1997. Effects of dissolved organic carbon and salinity on bioavailability of mercury. Applied Environmental Microbiology. 63, 4267-4271.

Becker, D.S., & Bigham, G.N. 1995. In: Mercury as a Global Pollutant (Porcella, D.B., Huckabee, J.W. & Wheatley, B, eds.), Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, pp 563-571.

Benoit, G., Schwantes, J.M., Jacinto, G. & Goudcollins, M.R. 1994. Preliminary study of the redistribution and transformation of Hg from cinnabar mine tailings deposited in Honda Bay, Palawan, Philippines. Marine Pollution Bulletin. 28: 754-759.

Bernhard, M. 1985. In Environmental Inorganic Chemistry (A.E. Metertell and K.J. Irgolic, eds.). VCH Publishers. Deerfield Beach, FL. 349-358.

Bernhard, M. 1988. Mercury in the Mediterranean. United Nations Environment Programme Report. p. 141.

Bloom, NS. 1992. On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissue. Can J. Fish Aquatic Sci. 49: 1010-1017.

Boudou, A. & Ribeyre, F. 1984. Influence of exposure length on the direct bioaccumulation of two mercury compounds by *Salmo gairdneri* (fry) and the relationship between organism weight and mercury concentrations. Water Research. 18(1): 81-86.

Boudou, A. & Ribeyre, F. 1996. Mercury in food webs: accumulation and transfer mechanism. In: Siegel H., Siegel, A. Editors. Mercury and its effects on environment and biology. New York: Marcel Dekker. P. 289-319.

Breder, C.M. & D.E. Rosen. 1966. Modes of reproduction in fishes. T.F.H. Publications. Neptune City. New Jersey. 941p.

Bygrave, F. L. & Roberts, H. R. 1995. Regulation of cellular calcium through signaling cross-talk involves an intricate interplay between the actions of receptors, G-proteins, and second messengers. *FASEB J.* 9: 1297-1303.

Capapé, C. 1975a. Etude du régime alimentaire de l'Aigle de mer, *Myliobatis aquila* (L., 1758) des côtes tunisiennes. Journal du Conseil 1,37(1):29-35; doi:10.1093/icesjms/37.1.29

Capapé C. 1975b. Etude du régime alimentaire de la Mourine vachette. *Pteromylaeus bovinus* (Geffroy Saint-Hilaire, 1817) (Pisces, Myliobatidae) des côtes tunisiennes. J. Cons. Int. Explor. Mer, 37(3): 214-220.

Capapé C. & Quignard, J.P. 1975. Contribution à la systématique et à la biologie de *Pteromylaeus bovinus* (Geffroy Saint-Hilaire, 1817) (Pisces Myliobatidae) des côtes tunisiennes. Bulletin du muséum national d'histoire naturelle. 3<sup>e</sup> série, n° 338, novembre-décembre, Zoologie 240.

Cardellicchio, N., Decataldo, A. & Di Leo, A., Misisoni, A. 2002. Accumulation and tissue distribution of mercury and selenium in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Mediterranean Sea (southern Italy). Environmental Pollution. 116: 265-271.

Commission of the European Communities. 2001. EU commission decision 466/2001/EC of 8 March 2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. G.U. EU-L 77/1 of 16/03/2001.

Compeau, G.C. & Bartha, R. 1985. Sulfate-Reducing Bacteria: Principal Methylators of Mercury in Anoxic Estuarine Sediment. *Appl Environ Microbiol.* 50 (2): 498-502.

Compeau, G.C. & Bartha, R. 1987. Effect of salinity on mercury-methylating activity of sulfate-reducing bacteria in estuarine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 53(2): 261-265.

Cossa, D., Sanjuan, J. & Noel, J. 1994. Mercury transport in waters of the strait of Dover. *Marine Pollution Bulletin.* 28(16): 385-388.

Cossa, D., Coquery, M., Gobeil, C. & Martin, J.-M., 1996. Mercury fluxes at the oceans margins. In: Baeyens, W., Ebinghaus, R., Vasilie, O. (Eds.), *Global and Regional Mercury Cycles: Sources, Fluxes and Mass Balances.* NATO ASI Series, 2. Environment-21. Kluwer Academic Publ., Dardrecht, pp. 229-248.

Cossa, D., Martin, J.M., Takayanagi, K. & Sanjuan, J. 1997. The distribution and cycling of mercury species in the western Mediterranean. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography. 44(3-4): 721-740.

Covelli, S., Faganeli, J., Horvat, M. & Brambati, A. 2001. Mercury contamination of coastal sediments and the result of long-term cinnabar mining activity (Gulf of Trieste, northern Adriatic sea). *Applied Geochemistry.* 16(5): 541-558.

Covelli, S., Piani, R., Kotnik, J., Horvat, M., Faganeli, J. & Brambati, A. 2006. Behaviour of Hg species in a microtidal deltaic system: The Isonzo River mouth (northern Adriatic Sea). *Science of The Total Environment.* 368(1): 210-223.

Craig, P. J. & Moreton, P. A. 1985. Role of speciation in mercury methylation in sediments and water. *Environmental Pollution (Series B),* 10, 141–158.

Cuadrado, C., Kumpulainen, J. & Moreiras, O. 1995. [Lead, cadmium and mercury contents in average. Spanish market basket diets from Galicia, Valencia, Andalucia and Madrid (MS no. 294). Food Additives and Contaminants 12, 107-118.

Downs S.G., Macleod C.L. & Lester J.N. 1998. Mercury in precipitation and its relations to bioaccumulation in fish: A literature review. Water, Air and Soil Pollution. 108, 149–187.

Fabbri D., I. Vassura, C.-G. Sun, C. E. Snape, C. McRae & A. E. Fallick. 2003. Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in a coastal lagoon by molecular and isotopic characterisation. *Marine Chemistry* 84: 123-135.

Faganeli, J., Planinc, R., Pezdič, B., Stegnar, P. & Ogorelec, B. 1991. Marine geology of the Gulf of Trieste (northern Adriatic): Geochemical aspects. *Marine Geology*. 99(1-2): 93-108.

Faganeli, J., Horvat, M., Covelli, S., Fajon, V., Logar, M., Lipej, L. & Čermelj, B. 2003. Mercury and methylmercury in the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea). *The Science of the Total Environment* 304: 315-326.

Falandysz J. 1990. Mercury content of squid *Loligo opalescens*. *Food chemistry*. 38(3): 171-177.

FAO, 1986. FAO Fisheries Report No. 325, Supplement, FIPL/R325, Meeting on the Biogeochemical Cycle on Mercury in the Mediterranean, Sienna, Italy, 1984, FAO, Rome, 1986.

Ferrara, R. & Maserti, B.E. 1992. Mercury concentration in the water, particulate matter, plankton and sediment of the Adriatic Sea. *Marine Chemistry*. 38(3-4): 237-249.

Fonda, L. 1998. Kopičenje živega srebra v tkivih ugorja (*Conger conger L.*), ribona (*Pagellus erythrinus L.*) in morskega lipana (*Liza aurata Risso*) v Tržaškem zalivu. Diplomska naloga. Biotehniška fakulteta, Oddelek za Biologijo. Ljubljana.

Friedmann, A.S., Watzin, M.C., Brinck-Johnson, T., & Leiter, J.C. 1996. Low levels of dietary methylmercury inhibit growth of gonadal development in juvenile walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquat. Toxicol.* 35, 265-278.

Galal Gorchev H. 1993. Dietary intake, levels in food and estimated intake of lead, cadmium, and mercury. *Food Add Contaminants.* 10: 115–128.

Guentzel, J.L., Powell, R.T., Landing, W.M. & Mason, R.P. 1996. Mercury associated with colloidal material in an estuarine and an open-ocean environment. *Marine Chemistry.* 55 (1-2): 177-188.

Hall B.D., Bodaly, R.A., Fudge RJP, Rudd JWM & Rosenberg, D.M. 1997. Food as the dominant pathway of methylmercury uptake by fish. *Water Air Soil Pollut.* 100: 13-24.

Hansen, JC. & Gilman, AP. 2005. Exposure of Arctic populations to methylmercury from consumption of marine food: an updated risk-benefit assessment. *Int J Circumpolar Health* 64: 121-36.

Hemida F, Seridji R, Ennajar S, Bradai MN, Collier E, Guelorget O. & Capape' C. 2003. New observations on the reproductive biology of the pelagic stingray, *Dasyatis violacea* Bonaparte, 1832 (Chondrichthyes: Dasyatidae) from the Mediterranean Sea. *Acta Adriatica* 44: 183–192.

Hempel, M., Chau, Y.K., Dutka, B.J., McInnis, R., Kwan, K.K. & Liu, D. 1995. Toxicity of organomercury compounds: bioassay results as a basis of risk assessment. *Analyst*, 120: 72-4.

Hensel, F. & Warren, W.W. 1999. "Fluid Metals", Princeton Press, Princeton.

Hines, M.E., Horvat, M., Faganeli, J., Bonzongo, J.C.J., Barkay, T., Major, E.B., Scott, K.J., Bailey, E.A., Warwick, J.J. & Lyons, W.B., 2000. Mercury biogeochemistry in the Idrija River, Slovenia, from above the mine into the Gulf of Trieste. Environmental Research 83: 129-139.

Hines, M.E., Faganeli, J., Adatto, I. & Horvat, M. 2006. Microbal mercury transformations in marine, estuarine and freshwater sediment downstream of the Idrija Mercury Mine, Slovenia. Applied Geochemistry. 21(11): 1924-1039.

Horvat, M., Byrne, A.R. & May, K. 1990. A modified method for the determination of methylmercury by gas chromatography. Talanta 37(2): 207-12

Horvat, M., Lupšina, V. & Pilhar, B. 1991. Determination of total mercury in coal fly ash by gold amalgamation cold vapour atomic absorption spectrometry. Analytica Chimica Acta 243: 71-79.

Horvat, M., 1996. Mercury analysis and speciation in environmental samples. In: Baeyens, W., Ebinghaus, R., Vasilev, O. (Eds.) Global and Regional Mercury Cycles; Sources, Fluxes and Mass Balance NATO ASI Series. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 1-31.

Horvat, M., Covelli, S., Faganeli, J., Logar, M., Mandić, V., Rajar, R., Širca, A. & Žagar, D. 1999. Mercury in contaminated coastal environments; a case study: the Gulf of Trieste. The Science of the Total Environment 237 238: 43-56.

Horvat, M., Kotnik, J., Fajon, V., Logar, M., Zvonaric, T. & Pirrone, N., 2001. Speciation of mercury in waters of the Mediterranean Sea. Materials and Geoenvironment 48, 24–252.

Horvat, M., Jereb, V., Fajon, V., Logar, M., Kotnik, M., Faganeli, J., Hines, M.E. & Bonzongo, J.C., 2002. Mercury distribution in water, sediment and soil in the Idrijca and Soča river systems. Geochem. Explor. Environ. Anal. 2: 287-296.

Hudson, R.J.M., Gherini, S., Watras, C. & Porcella, D., 1994. Modeling the biogeochemical cycling of mercury in lakes. In: C.J. Watras and J.W. Huckabee (Editors), Mercury as a Global Pollutant: Towards Integration and Synthesis. Lewis, Boca Raton, pp. 473-526.

IGFA, 2001. Database of IGFA angling records until 2001. IGFA, Fort Lauderdale, USA.

Jardas, I., 1996: Jadranska ihtiofauna. Školska knjiga, Zagreb. Pp. 533.

Joiner, C.R., Tapia, G. & Holsbeek, L. 1997. Increase of organochlorines and mercury levels in common guillemots *Uria aalge* during winter in the southern North Sea. Mar. Pollut. Bull. 34 : 1049-1057.

Kosta, L., Byrne, A.R., Zelenko, V. 1975. Correlation between selenium and mercury in man following exposure to inorganic mercury. Nature 254: 238-239.

King, J.K., Saunders, F.M., Lee, R.F. & Jahnke, R.A., 1999. Coupling mercury methylation rates to sulfate reduction rates in marine sediments. Environ. Toxicol. Chem. 18: 1362-1369.

Lindberg, S.E. & Stratton, W.J., 1998. Atmospheric mercury speciation: concentrations and behavior of reactive gaseous mercury in ambient air. Environ. Sci. Technol., 32: 49-57.

Lindquist, O. & H. Rodhe. 1985. Atmospheric mercury: A review. Tellus 37B: 136-159.

Lipej, L. 1999. Ključ za določanje hrustančnic. In: Kryštufek, B. Ključ za določevanje vretenčarjev Slovenije. DZS. p: 37-41.

Lipej, L., Mavrič, B. & Dulčić, J. 2008. Size of the bull ray, *Pteromylaeus bovinus* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1817), from the northern Adriatic. J. Appl. Ichthyol. 1-3.

Mallat, J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Can. J. Fish. aquat. Sci.* 42: 630-648.

Manohar, D. M., Krishnan, K. A., & Anirudhan, T. S. 2002. Removal of mercury(II) from aqueous solutions and chloralkali industry wastewater using 2-mercaptopbenzimidazole-clay. *Water Research*, 36, 1609–1619.

Mason, R.P. & Sheu, G.R., 2002. Role of the ocean in the global mercury cycle. *Global Biogeochemical Cycles*, 16(4): 1093.

Mason, R.P. & Fitzgerald, W.F., 1990. Alkylmercury species in the equatorial Pacific, *Natur* 347: 457-459.

Mason, R.P., Fitzgerald, W.F. & Morel, F.M.M. 1994. The biogeochemical cycling of elemental mercury: Anthropogenic influences. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 58(15): 3191-3198.

Mason, R.P., Morel, F.M.M. & Hemond, H.F., 1995a. The role of microorganisms in elemental mercury formation in natural waters. *Water Air Soil Pollut.* 80: 775-789.

Mason, R.P., Reinfelder, J.R. & Morel, F.M.M., 1995b. Methylated and elemental mercury cycling in surface and deep ocean waters of the North Atlantic. *Air Soil Pollut.* 80: 665-677.

Mason, R.P. & Fitzgerald, W.F., 1996. Mercury fluxes at the oceans margins. In: Baeyens, W., Ebinghaus, R., Vasilie, O. (Eds.), *Global and Regional Mercury Cycles: Sources , Fluxes and Mass Balances*. NATO ASI Series, 2. Environment-21. Kluwer Academic Publ., Dordrecht, pp. 249-272.

Mavrič, B., Jenko, R., Makovec, T. & Lipej, L. 2004. On the occurrence of the pelagic stingray, *Dasyatis violacea* (Bonaparte, 1832), in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic). *Annales. Ser. hist. nat.* 14: 2.

Mason, R.P. & Fitzgerald, W.F. 1993. The distribution and biogeochemical cycling of mercury in the equatorial Pacific ocean, Deep-Sea Res. 40: 1897-1924.

McEachran, J.D. & Capapé, C. 1984. Dasyatidae. In: Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.-L., Hureau, J.-C., Nielsen, J. & Tortonese, E. (eds.): Fishes of the north-eastern Atlantic and Mediterranean. Vol. 1. UNESCO, Paris, p. 197-530.

McEachran, J.D. & B. Seret, 1990. Myliobatidae. p. 67-70. In J.C. Quero, J.C. Hureau, C. Karrer, A. Post and L. Saldanha (eds.) Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA). JNICT, Lisbon; SEI, Paris; and UNESCO, Paris. Vol. 1.

Meyers, G., Davidson, P. W., Cox, C., Shamlaye, C. F., Cernichiari, E. & Clarkson, T. W. 2000. Twenty-Seven Years Studying the Human Neurotoxicity of Methylmercury Exposure, Environmental Research. 83: 275-285.

Mollet, H.F, 2002. Distribution of the pelagic stingray, *Dasyatis violacea* (Bonaparte, 1832), off California, Central America, and worldwide. Abstract *Marine and Freshwater Research* 53(2): 525 – 530.

Morel, FMM., Kraepiel, AML. & Amoyt, M., 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. Ann Rev Ecolog Syst. 29: 543-66.

Nathanson, M.H., Mariwalla, K., Ballatori, N. & Boyer, J.L. 1995. Effect of  $Hg^{2+}$  on cytosolic  $Ca^{2+}$  in isolated skate hepatocytes. Cell Calcium 18: 429-439.

National Academy of Science (NAS) 2000. Toxicological Effects of Methylmercury. Washington D.C.

Orsi Relini, L., Garibaldi, P., Digitali, B. & Lanteri, L. 2000. Abundance of the pelagic stingray, *Pteroplatytrygon (Dasyatis) violacea*, in the Ligurian Sea, with preliminary notes about its feeding and growth. 4<sup>th</sup> European Elasmobranch Association Meeting, Livorno, 27-30 September, 2000. Book of abstracts. European elasmobranch association, p. 193-194.

Oliviera Ribeiro, C.A., Belger, L., Pelletier, E., Rouleau, C., 2002. Histopathological evidence of inorganic mercury and methylmercury in arctic char (*Salvelinus alpinus*). Environ. Res. 90: 217-225.

Olsvik, P., Gundersen, P., Andersen, R.A. & Zachariassen, K.E., 2001. Metal accumulation and metallothionein in brown trout, *Salmo trutta*, from two norwegian rivers differently contaminated with Cd, Cu and Zn. Comp. Biochem. Physiol. 128C: 189-201.

Ornaghi, F., Ferrini, S., Prati, M. & Giavini, E. 1993. The protective effects of N-Acetyl-L-Cysteine against methyl mercury embryotoxicity in mice. Fundamental and Applied Toxicology. 20(4): 437-445.

Palinkaš, L.A., Pirc, S., Miko, S.F., Durn, G., Namjesnik, K. & Kapelj, S., 1995. The Idrija Mercury Mine, Slovenia. A semimillenium of continuous operation: An ecological impact. In: Richardson, M. (Ed.), Environmental Toxicology Assessment. Taylor and Francis, pp. 317-339.

Palmisano, F., Cardelluccio, N. & Zambonin, P.G. 1995. Speciation of mercury in dolphin liver: a two step mechanism for the demethylation accumulation process and role of selenium. Mar. Environ. Research. 40(2): 109-121.

Parizek, J. & Ostadalova, I., 1967. The protective effect of small amounts of selenite in sublimate intoxication. Experientia 23: 142-143.

Pellegrini, D. & Bargigiani, C. 1989. Mercury in the Mediterranean. Marine Pollution Bulletin. 20(2): 59-63.

Pirrone, N., Hedgecock, I. & Forlano, L. 2000. The role of the ambient aerosol in the atmospheric processing of semi-volatile contaminants: a parameterised numerical model (GASPAR). Journal of Geophysical Research D105 (8), 9773-9790.

Planinc, R., Bajt, O., Horvat, M., Faganeli, J. & Gorenc, B. 1993. An outline of chemical pollution in the coastal waters of the south eastern (Slovenian) part of the Gulf of Trieste. *Acta Chimica Slovenica*, pp. 349-368.

Prager, J. C. 1997. Environmental Contaminant Reference Databook, Vol. III. New York: Van Nostrand Reinhold, Inc.

Rajar, R., Žagar, D., Širca, A. & Horvat, M. 2000. Three-dimensional modelling of mercury cycling in the Gulf of Trieste. *Science of the Total Environment* 260(190): 123.

Rajar, R., Žagar, D., Četina, M., Akagi, H., Yano, S., Tomiyasu, T. & Horvat, M. 2004. Application of three-dimensional mercury cycling model to coastal seas. *Ecological Modelling* 171: 139-155.

Régine, M.B., Gilles, D., Yannick, D. & Alain, B. 2006. Mercury distribution in fish organs and food regimes: Significant relationships from twelve species collected in French Guiana (Amazon basin). *Science of the Total Environment* 368: 262-270.

Riisgård, H.U. & Hansen, S., 1990. Biomagnification of mercury in a marine grazing food-chain: algal cells *Phaeodactylum tricornutum*, mussels *Mytilus edulis* and flounders *Platichthys flesus* studied by means of a stepwise reduction-CVAAS method. *Marine Ecol. Prog. Ser.* 62: 259-270.

Risher, J. F., Nickle, R.A. & Amher, S.N. 2003. Elemental Mercury Poisoning in Occupational and Residential Settings. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 206: 371-379.

Schroeder, W.H., Anlauf, K.G., Barrie, L.A., Berg, T., Lu, J.Y., Steffen, A. & Schneeberger, D.R. 1998. Arctic springtime depletion of mercury. *Nature*, 394: 331-332.

Storelli, M.M., Giacominelli-Stuffler R. & Marcotrigiano G.O. 2002. Total and methylmercury residues in cartilagous fish from Mediterranean Sea. Marine Pollution Bulletin 44: 1354-1358.

Storelli M.M & Giacominelli-Stuffer R. 2003 Polychlorinated biphenyls in seafood:contamination levels and human dietary exposure. Food Chemistry. 82, 491-496.

Storelli, M.M., Giacominelli-Stuffler, R. & Marcotrigiano, G.O. 2003. Total mercury and methylmercury residues in edible fish from the Mediterranean Sea. J. Food Prot. 66, 300-303.

Storelli, M.M., Storelli, A., Giacominelli-Stuffler & R., Marcotrigiano, G.O. 2005. Mercury speciation in the muscle of two commercially important fish, hake (*Merluccius merluccius*) and striped mullet (*Mullus barbatus*) from the Mediterranean sea: estimated weekly intake. Food Chemistry 89: 295-300.

Stumm, W. & Morgan, J.J., 1996. Aquatic Chemistry-Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters, 3rd ed. Wiley Interscience, New York (Chapter 10).

Širca, A. & Rajar, R., 1997b. Modelling the effect of wind on average circulation and long-term contaminant dispersion in the Gulf of Trieste. Acta Adriatic. 38 (2): 45-49

Šoljan, T., 1963. Fishes of the Adriatic. In: Fauna and Flora Adriatica, Zagreb, 1: 437 p.

UNEP/WHO/IAEA 1987. The determination of Methylmercury, Total Mercury and Total Selenium in Human Hair in Reference Methods for Marine Pollution Studies No. 46 (Draft).

UNEP, 2002. Mercury Assessment Report.

Vogt, R., Crutzen, P.J. & Sander, R. 1996. A mechanism for halogen release from sea-salt aerosol in the remote marine boundary layer, Nature, 383: 327-330.

Walker, T.I. 1976. Effects of species, sex, length, and locality on mercury content at school shark *Mustelus antarcticus*- Guenther from South-eastern Australian waters. Australian J. Marine and Freshwater Research, 27: 603-608.

Watras, C.J., Bloom, N.S. 1992. Mercury and methylmercury in individual zooplankton: Implications for bioaccumulation. Limnol. Oceanogr. 37: 1313-1318.

Weil, M., Schwartz, B., Glass, T. & Bressler, J. 2005. Blood Mercury Levels and Neurobehavior—Reply JAMA. 294(6):679-680.

Wekell, M.M.B. & Brown, G.W.Jr. 1973. Ornithine aminotransferase of fishes. Elsevier Science 73(90): 122-123.

Wendroff AP. 1995. Magico-religious mercury use and cultural sensitivity. Am J Public Health. 85(3): 409-10.

Wiener, J.G. & Spry, D.J. 1996. Toxicological significance of mercury in freshwater fish. In: Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations. Beyer, W.N., Heinz, G.H. & Redmon-Norwood, A.W. (eds). Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, pp. 297-340.

Wiener, J.G., Krabbenhoft, D.P., Heinz, G.H. & Scheuhhammer, A.M. 2003. Ecotoxicology of mercury. In: Handbook of Ecotoxicology (2<sup>nd</sup> ed). Hoffman, D.J., Rattner, B.A., Burton, G.A. & Cairns, J. (eds). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 409-463.

Winfrey, M. R. & J. W. Rudd. 1990. Environmental factors affecting the formation of methylmercury in low pH lakes. Environ. Toxicol. Chem. 9:853-869.

Yamamoto, M., 1996. Stimulation of elemental mercury oxidation in the presence of chloride ion in aquatic environments. Chemosphere 32 1217-1224.

Zajc, A. 2006. Določanje živega srebra v različnih vrstah svežih in konzerviranih rib na slovenskem tržišču. Diplomska naloga. Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana.

## INTERNETNE POVEZAVE

Fishbase. World Fish Center; 2005. URL : <http://www.fishbase.org>

Fotografija voleka (*Murex trunculuss*): <http://www.naturamediterranea.com>

Fotografija rdečega mečaka (*Cepola rubescens*): <http://www.mareinitaly.it>

Fotografija navadnega morskega goloba (*Myliobatis aquila*):

<http://www.flmnh.ufl.edu/fish/Gallery/Descript/CeagleRay/CEagleRay.html>

Razmnoževanje morskih golobov in morskih bičev:

[http://homepage.mac.com/mollet/Pv/Embryo\\_dev.html](http://homepage.mac.com/mollet/Pv/Embryo_dev.html)

## ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem:

- mentorju **prof. dr. Lovrencu Lipeju** za natančen pregled diplomske naloge in konstruktivne kritike.
- somentorici **prof. dr. Mileni Horvat**, ki me je popeljala v zanimiv svet živega srebra. Diskusije z njoi in njeni predlogi so bili vedno zanimivi in konstruktivni.
- **prof. dr. Jadranu Faganeliju** za prevod povzetka in vzpodbudne besede..
- **Silvi Šuc**, ki je natančno pregledala in lektorirala mojo diplomsko nalogu, ki brez njene pomoči zagotovo ne bi bila tako berljiva.
- **vsem zaposlenim na Odseku za znanost o okolju**, s katerimi sem se tako ali drugače srečevala na hodnikih in pri kosilih; njihove besede so bile vzpodbudne, nasmeh pa prijazen.
- **Vesni Fajon**, ki mi je bila v laboratoriju vseskozi v oporo, me kdaj tudi okarala, predvsem pa vzpodbjala pri delu in pisanju laboratorijskega dnevnika.
- dekletom iz laboratorija: **Janji Tratnik, Ireni Rupnik, Neži Koron** in **Ani Miklavčič** za vse vzpodbudne besede takrat, ko sem jih najbolj potrebovala.
- **Borutu Mavriču** iz Morske biološke postaje v Piranu, ki me je vsakič peljal do obale, ko je bilo to potrebno. Njegove besede so mi bile vedno v pomoč.
- **VSEM svojim prijateljem**, katerih imen ne bom navajala, saj bi gotovo kakšnega izpustila. Vendar čas so razumeli moj umik in me kljub »nejavljanju« na telefon vzpodbjali in verjeli vame.

Posebno zahvalo pa sem dolžna **moji super družini**. Mami, oči, Marko – bili ste potrpežljivi, me poslušali, ko mi je bilo najtežje, se veselili z mano in me bodrili skozi vse leta študija. Zahvaljujem se tudi **moji tetki Vlasti**, ki me je prva popeljala v svet znanosti, in **Žigu**, najbolj ljubečemu fantu na svetu.

Priloga 1: Koeficienti za izračun vsebnosti v 1 gramu mokre teže v posameznem vzorcu

| ŠKRGE MASA (g) |            |                  |           |            | JETRA MASA (g) |                  |           |            |            | MIŠICE MASA (g)  |           |            |  |  |
|----------------|------------|------------------|-----------|------------|----------------|------------------|-----------|------------|------------|------------------|-----------|------------|--|--|
| vzorec         | mokra masa | po liofilizaciji | suhu masa | koeficient | mokra masa     | po liofilizaciji | suhu masa | koeficient | mokra masa | po liofilizaciji | suhu masa | koeficient |  |  |
| 010 PV         | 7,894      | 13,5286          | 1,8069    | 4,3688     | 10,1564        | 16,8753          | 5,1536    | 1,9707     | 8,4480     | 10,7711          | 1,7369    | 4,8638     |  |  |
| 055 PB(B)      | 3,9804     | 13,0509          | 1,3292    | 2,9946     | 4,7885         | 14,7452          | 3,0235    | 1,5838     | 12,2562    | 12,2356          | 3,2014    | 3,8284     |  |  |
| 006 PV         | 9,7781     | 14,1042          | 2,3825    | 4,1041     | 13,5243        | 20,6041          | 8,8824    | 1,5226     | 13,5306    | 11,6852          | 2,651     | 5,1040     |  |  |
| 028 MA         | 1,6017     | 12,4729          | 0,7512    | 2,1322     | 6,1601         | 12,1753          | 3,1411    | 1,9611     | 5,4808     | 10,4507          | 1,4165    | 3,8693     |  |  |
| 034 PB         | 17,4611    | 15,4674          | 3,7457    | 4,6616     | 7,4690         | 13,5847          | 4,5505    | 1,6414     | 11,7982    | 12,4042          | 3,37      | 3,5009     |  |  |
| 039 PV         | 1,8164     | 12,5845          | 0,8628    | 2,1052     | 7,2797         | 16,8264          | 5,1047    | 1,4261     | 5,2869     | 10,1507          | 1,1165    | 4,7352     |  |  |
| 064 PB         | 2,5599     | 12,6920          | 0,9703    | 2,6383     | 11,0563        | 19,2970          | 7,5753    | 1,4595     | 3,579      | 10,0103          | 0,9761    | 3,6666     |  |  |
| 056 PB         | 13,437     | 14,7122          | 2,9905    | 4,4932     | 14,9438        | 21,4018          | 9,6801    | 1,5438     | 21,9525    | 17,9413          | 6,2196    | 3,5296     |  |  |
| 035 MA         | 1,486      | 12,4760          | 0,7543    | 1,9700     | 4,1900         | 11,4318          | 2,3976    | 1,7476     | 4,9576     | 10,2115          | 1,1773    | 4,2110     |  |  |
| 044 MA         | 3,338      | 12,8196          | 1,0979    | 3,0403     | 3,1239         | 10,5274          | 1,4932    | 2,0921     | 6,6826     | 10,6269          | 1,5927    | 4,1958     |  |  |
| 061 MA         | 2,1419     | 12,6091          | 0,8874    | 2,4137     | 1,8977         | 10,0301          | 0,9959    | 1,9055     | 2,6485     | 9,6703           | 0,6361    | 4,1637     |  |  |
| 060 PB         | 3,9448     | 12,9642          | 1,2425    | 3,1749     | 9,8134         | 15,4457          | 6,4115    | 1,5306     | 5,3761     | 10,5155          | 1,4813    | 3,6293     |  |  |
| 050 PV         | 4,1484     | 12,7886          | 1,0669    | 3,8883     | 5,1688         | 14,9295          | 3,2078    | 1,6113     | 8,3152     | 10,6059          | 1,5717    | 5,2906     |  |  |
| 040 DP         | 6,2807     | 13,4662          | 1,7445    | 3,6003     | 4,6042         | 15,3243          | 3,6026    | 1,2780     | 11,4955    | 11,8952          | 2,861     | 4,0180     |  |  |
| 007 PV         | 3,5539     | 12,8209          | 1,0812    | 3,2870     | 8,4249         | 13,3818          | 4,3476    | 1,9378     | 4,7312     | 10,0173          | 0,9831    | 4,8125     |  |  |
| 029 PB         | 7,7561     | 13,6818          | 1,9601    | 3,9570     | 10,6326        | 18,8631          | 7,1414    | 1,4889     | 6,6555     | 10,7403          | 1,7061    | 3,9010     |  |  |
| 062 PB         | 5,4163     | 13,2942          | 1,5725    | 3,4444     | 6,5196         | 16,3200          | 4,5983    | 1,4178     | 5,5433     | 10,5635          | 1,5293    | 3,6247     |  |  |
| 063 PB         | 18,8099    | 15,6727          | 3,951     | 4,7608     | 8,2081         | 14,4375          | 5,4033    | 1,5191     | 6,9806     | 10,8818          | 1,8476    | 3,7782     |  |  |
| 051 PV         | 3,2342     | 12,7502          | 1,0285    | 3,1446     | 5,7794         | 12,2577          | 3,2235    | 1,7929     | 11,2557    | 11,4908          | 2,4566    | 4,5818     |  |  |
| 052 PB         | 23,3824    | 16,9616          | 5,2399    | 4,4624     | 19,7970        | 25,1001          | 13,3784   | 1,4798     | 14,6231    | 13,1207          | 4,0865    | 3,5784     |  |  |
| 049 PV         | 14,7286    | 15,1105          | 3,3888    | 4,3463     | 9,5491         | 17,1817          | 5,4600    | 1,7489     | 11,1502    | 11,6427          | 2,6085    | 4,2746     |  |  |
| 067 PB         | 12,8328    | 14,5032          | 2,7815    | 4,6136     | 10,3461        | 14,6679          | 5,6337    | 1,8365     | 14,501     | 12,8887          | 3,8545    | 3,7621     |  |  |
| 054 PB         | 8,939      | 13,6857          | 1,964     | 4,5514     | 14,1586        | 21,1223          | 9,4006    | 1,5061     | 7,6413     | 11,1332          | 2,099     | 3,6404     |  |  |
| 057 PB         | 23,7615    | 15,7804          | 4,0587    | 5,8545     | 16,4060        | 21,9995          | 10,2778   | 1,5963     | 7,3904     | 11,054           | 2,0198    | 3,6590     |  |  |
| 053 PB         | 12,9612    | 14,6234          | 2,9017    | 4,4668     | 14,6532        | 22,7572          | 11,0355   | 1,3278     | 14,5037    | 12,8843          | 3,8501    | 3,7671     |  |  |
| 055 PB(D)      | 4,5823     | 13,1125          | 1,3908    | 3,2947     | 8,7731         | 17,1517          | 5,4300    | 1,6157     | 8,8209     | 11,3793          | 2,3451    | 3,7614     |  |  |
| 055 PB         | 9,3849     | 13,8225          | 2,1008    | 4,4673     | 7,3384         | 13,1409          | 4,1067    | 1,7869     | 14,6855    | 13,0601          | 4,0259    | 3,6478     |  |  |
| 025 MA         | 4,2309     | 13,0855          | 1,3638    | 3,1023     | 8,8886         | 17,2934          | 5,5717    | 1,5953     | 4,2188     | 10,055           | 1,0208    | 4,1328     |  |  |
| 066 PB         | 13,8371    | 14,6155          | 2,8938    | 4,7816     | 11,3818        | 19,6689          | 7,9472    | 1,4322     | 31,6746    | 20,2229          | 8,5012    | 3,7259     |  |  |
| 038 PV         | 17,7683    | 15,0409          | 3,3192    | 5,3532     | 13,6423        | 20,9666          | 9,2449    | 1,4757     | 15,6287    | 12,4575          | 3,4233    | 4,5654     |  |  |
| 058 PB         |            |                  |           |            | 16,9216        | 23,6906          | 11,9689   | 1,4138     | 11,5722    | 12,2700          | 3,2358    | 3,5763     |  |  |