

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Nina GERJEVIČ

**VSEBNOST SELENA PRI MAKROFITIH NA
DOLENJSKEM IN NOTRANJSKEM**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Nina GERJEVIČ

**VSEBNOST SELENA PRI MAKROFITIH NA DOLENJSKEM IN
NOTRANJSKEM**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**SELENIUM CONTENT IN MACROPHYTES IN DOLENJSKA AND
NOTRANJSKA REGIONS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2012

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija biologije na Biotehniški fakulteti. Opravljeno je bilo na terenu po Dolenjski in Notranjski regiji, v laboratoriju na katedri za Ekologijo in varstvo okolja ter na Institutu Jožef Stefan, na Odseku za znanosti o okolju, kjer so bile opravljene kemijske analize.

Študijska komisija Oddelka za biologijo je naslov diplomske naloge odobrila dne 3.6.2011 in za mentorico diplomske naloge določila doc. dr. Matejo Germ, za somentorico pa prof. dr. Vekoslavo Stibilj.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: doc. dr. Katarina Vogel Mikuš

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Mentorica: doc. dr. Mateja Germ

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Somentorica: prof. dr. Vekoslava Stibilj

Institut Jožef Stefan, Odsek za znanosti o okolju, O-2

Recenzentka: prof. dr. Alenka Gaberščik

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora: 17. 12. 2012

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.

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Nina Gerjevič

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dd
DK	UDK 581.5:546.23(497.4)(043.2)=163.6
KG	makrofiti/selen/slovenski vodotoki/HG-AFS/ICP-MS
AV	GERJEVIČ, Nina
SA	GERM, Mateja (mentorica)/STIBILJ, Vekoslava (somentorica)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Večna po 111
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
LI	2012
IN	VSEBNOST SELENA PRI MAKROFUTIH NA DOLENJSKEM IN NOTRANJSKEM
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XI, 58 str., 7 pregl., 6 sl., 13 pril., 85 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Selen je esencialen element za ljudi in živali. Z dodajanjem selena v krmo živine se neporabljen del selena z živalskimi izločki in/ali z izcednimi vodami iz kmetijskih zemljišč sprošča v različna vodna telesa, kjer se lahko vsebnosti zelo povišajo. Selen je v visokih koncentracijah strupen za ljudi, živali in rastline. V raziskavi smo želeli ugotoviti, ali rastna oblika makrofitov vpliva na privzem selena, ali je vsebnost selena v makrofutih odvisna od mesta vzorčenja, ali različne rastlinske vrste privzamejo različne količine selena ter ali so koncentracije selena v izbranih vodotokih večje kot v pitni vodi. Leta 2009 smo na 9 slovenskih vodotokih na območju Dolenjske in Notranjske regije opravili vzorčenja aprila, julija ter oktobra. Vsebnosti selena v makrofutih smo ugotavljali s HG-AFS metodo, koncentracijo v vodah pa z ICP-MS metodo. Izmerjene trenutne koncentracije selena v vodi izbranih vodotokov niso bile višje od dovoljene za pitno vodo (10 µg/L). Izmerjene koncentracije selena v izbranih vodotokih so bile ob poletnem vzorčenju višje kot ob jesenskem. Ugotovili smo, da na privzem selena vpliva rastna oblika vodnih rastlin, da so različni izbrani makrofiti privzeli različne količine selena na istem vzorčnem mestu in da so makrofiti iste vrste privzeli različne količine selena v različnih vodotokih.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
 DC UDC 581.5:546.23(497.4)(043.2)=163.6
 CX macrophytes/selenium/slovenian watercourses/HG-AFS/ICP-MS
 AU GERJEVIČ Nina
 AA GERM, Mateja (supervisor)/STIBILJ, Vekoslava (co-supervisor)
 PP SI-1000 Ljubljana, Večna po 111
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Biology
 PY 2012
 TI SELENIUM CONTENT IN MACROPHYTES IN DOLENJSKA AND NOTRANJSKA REGIONS
 DT Graduation Thesis (University studies)
 NO XI, 58 p., 7 tab., 6 fig., 13 ann., 85 ref.
 LA sl
 AL sl/en
 AB Selenium is an essential element for humans and animals. Because it is added to feed stuffs, the part of selenium can be released with animal secretion and/or with agricultural waste waters, to different water bodies, where its concentrations can increase. Selenium is toxic at higher concentrations for humans, animals and plants. In our research we tried to found out if selenium content in macrophytes depends on their growth forms and on the location of sampling, if different species take up different amounts of selenium and if the selenium concentrations in selected watercourses are higher than in drinking water. The sampling was performed for three times in 2009, in April, July and October, on nine different watercourses in Dolenjska and Notranjska regions. The selenium content in plant samples was measured with HG-AFS and in water samples with ICP-MS. Measured concentrations of selenium in water of selected watercourses were not higher than that allowed for drinking water (10 µg/L). In summer higher concentrations of selenium were measured in water samples than in autumn. We found out that different growth forms of aquatic plants contained different amounts of selenium, that different macrophyte taxa accumulated different amounts of selenium at the same sampling sites and that the same macrophyte taxa accumulated different amounts of selenium in different watercourses.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X

1. UVOD	1
1.1 OPREDELITEV PROBLEMA	1
1.2 NAMEN DIPLOMSKE NALOGE	2
1.3 DELOVNE HIPOTEZE	2
2. PREGLED OBJAV	3
2.1 MAKROFITI	3
2.1.1 Anatomske, morfološke in fiziološke značilnosti makrofitov	3
2.1.2 Vloga makrofitov v vodnem ekosistemu	4
2.2 VODE	5
2.3 SELEN	6
2.3.1 Selen in njegove spojine v bioloških sistemih	6
2.3.2 Selen v tleh in vodi ter njegova razpoložljivost	7
2.3.3 Selen in rastline	8
2.3.4 Privzem, prenos, razporeditev in metabolizem selena pri višjih rastlinah	9
2.3.5 Strupenost Se v rastlinah in obrambni mehanizmi	10
2.4 UGOTAVLJANJE VSEBNOSTI SELENA S HG-AFS	11
3. MATERIALI IN METODE	13
3.1 VZORCI	13
3.1.1 Pregledani vodotoki in njihovi opisi	13
3.1.2 Pregledani makrofiti in opisi njihovih habitatov	16
3.1.3 Zbiranje in sortiranje vzorcev	17
3.2 METODA ZA DOLOČITEV SELENA	18

3.2.1 Priprava vzorcev makrofitov	18
3.2.2 Priprava vzorcev vod.....	19
3.2.3 Standardne raztopine	21
3.2.4 Pravilnost in ponovljivost metode	21
3.3 OBDELAVA PODATKOV	22
4. REZULTATI.....	23
4.1 Vode.....	23
4.1.1 Koncentracije selena v izbranih vodotokih	23
4.2 Makrofiti	25
4.2.1 Izbrani makrofiti imajo različne sposobnosti privzema selena	28
4.2.2 Različni makrofiti privzemajo različne količine selena na istem vodotoku	29
4.2.3 Izbrani makrofiti privzamejo različne količine selena v različnih vodotokih..	30
4.2.4 Pri rastlinah se pojavljajo razlike v privzemu selena tudi znotraj izbranega vodotoka.....	31
4.2.5 Vpliv rastne oblike rastline na akumulacijo selena	33
5. RAZPRAVA IN SKLEPI.....	35
5.1 RAZPRAVA.....	35
5.1.1 Koncentracije selena v izbranih vodotokih	35
5.1.2 Izbrani makrofiti imajo različne sposobnosti privzema selena	37
5.1.3 Različni makrofiti privzamejo različne količine selena na istem vodotoku	38
5.1.4 Izbrani makrofiti privzamejo različne količine selena na različnih vodotokih	39
5.1.5 Pri rastlinah se pojavljajo razlike v privzemu selena tudi znotraj izbranega vodotoka.....	40
5.1.6 Vpliv rastne oblike rastline na akumulacijo selena	42
5.2 SKLEPI.....	45
6. POVZETEK	47
7. LITERATURA	49

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Specifični selenoproteini v organizmu sesalcev (Roy in sod., 2005).	7
Preglednica 2: Optimalne razmere za merjenje s HG-AFS (povzeto po Smrkolj, 2003)..	12
Preglednica 3: Opisi vodotokov ter vzorčnih mest.	14
Preglednica 4: Vzorčeni makrofith na pregledanih vzorčnih mestih.	17
Preglednica 5: Povprečne koncentracije Se ($\mu\text{g/L}$) v vodah.	24
Preglednica 6: Povprečne vsebnosti selen (ng/gSS) pri višjih vodnih rastlinah vzorčenih 27. 7. 2009.	26
Preglednica 7: Povprečne vsebnosti selen (ng/gSS) pri višjih vodnih rastlinah vzorčenih 15. 10. 2009 in 16. 10. 2009.	27

KAZALO SLIK

Slika 1: Shema pretočnega sistema HG-AFS z rekorderjem (povzeto po Smrkolj, 2003).	11
Slika 2: Kontrolna karta izmerjenih koncentracij selena v certificiranem referenčnem materialu - špinadni listi (Spinach leaves, NIST 1570a: 117 ± 9 ngSe/gSS). Rezultati so podani kot povprečje $\pm$ absolutna napaka.....	21
Slika 3: Privzem selena pri šestih vrstah višjih vodnih rastlin – neodvisno od vzorčnega mesta.....	28
Slika 4: Povprečne vsebnosti selena v makrofilih, ki se pojavijo na vsaj treh izbranih vodotokih.....	30
Slika 5: Primerjava povprečnega privzema selena pri rastlinah vodnega jetičnika in kodravega dristavca iz vzorčnih mest na reki Žerovniščici ter iz vzorčnega mesta na reki Lipenjščici. Z zvezdico označujemo statistično razliko med vrstama na določeni lokaciji, kjer je $p > 0,05$	32
Slika 6: Vsebnost selena pri različnih rastnih oblikah višjih vodnih rastlinah ter pri algah in mahovih.	34

KAZALO PRILOG

PRILOGE

Priloga A: Rezultati preliminarne raziskave iz leta 2008.

Priloga B: Povprečne vsebnosti selena (ng/gSS) v makrofutih in združenih različnih vrstah, ki smo jih vzorčili 16. 4. 2009.

Priloga C: Povprečne vsebnosti selena (ng/gSS) v algah, bakterijah in mahovih, ki smo jih vzorčili 27. 7. 2009 in 16. 10. 2009.

Priloga D1: Pregledna karta območij raziskave.

Priloga D2: Območje reke Pšate z označenimi vzorčnimi mesti 1-, 2- in 3- Pšata.

Priloga D3: Območje potoka pri farmi v Ihanu z označenim vzorčnim mestom.

Priloga D4: Območje reke Ižice v Igu z označenim vzorčnim mestom.

Priloga D5: Območje reke Žerovniščice v Žerovnici z označenimi vzorčnimi mesti 1-, 2-, 2,2-, 3-, 4- in 5-Žerovniščica.

Priloga D6: Območje reke Lipsenjščice v Lipsenju z označenim vzorčnim mestom.

Priloga D7: Območje potoka Curek v Drami z označenim vzorčnim mestom.

Priloga D8: Območje potoka v Rojahu z označenim vzorčnim mestom.

Priloga D9: Območje potoka Kobilca pri farmi Rangus v Dolenjem Vrhopolju z označenim vzorčnim mestom.

Priloga D10: Območje reke Krke pri Otočcu z označenim vzorčnim mestom.

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AFS	atomski fluorescenčni spektrometer
ang.	angleško
DMDSe	dimetildiselenid
DMSe	dimetilselenid
H ₂ Se	vodikov selenid
H ₂ SO ₄	žveplova (VI) kislina
HCl	klorovodikova kislina
HG-AFS	hidridna tehnika atomske fluorescenčne spektrometrije
ICP-MS	induktivna sklopljena plazma – masni detektor
n	število meritev z dvema ali tremi paralelkami
Na ₂ SeO ₄	natrijev selenat
NaBH ₄	natrijev tetrahidroborat (III)
NaOH	natrijev hidroksid
POVP	povprečje
Se	selen
Se-cisteil-tRNA	selenocisteil-tRNK
SeCys	selenocistein
SeMeSeCys	selenometioninselenocistein
SeMet	selenometionin
SS	suha snov
STDEV	standardni odklon
UGA	triplet nukleotidov Uracil-Gvanin-Adenin

1. UVOD

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Selen (Se) je večinoma znan kot element v sledovih, ki v manjših količinah ugodno vpliva na organizme, v večjih koncentracijah pa je strupen tako za rastline, kot tudi za živali in ljudi (Suarez in sod., 2003; Zhu in sod., 2009). Meja med esencialno in toksično koncentracijo za ljudi je zelo ozka – med $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ do 1 mg kg^{-1} (Turner in Finch, 1991). Za moške je priporočen dnevni vnos med $30\text{--}85 \text{ } \mu\text{g Se dan}^{-1}$ in za ženske med $30\text{--}70 \text{ } \mu\text{g Se dan}^{-1}$ (Lenz in Lens, 2009). Uporaba nadomestkov Se, na primer šumečih tablet, mora biti skrbno nadzorovana, saj lahko do kroničnega predoziranja pride že z vnosom $400 \text{ } \mu\text{g Se dan}^{-1}$ (Thomson, 2004). Njegovo pomembnost pri različnih fizioloških procesih lahko pojasnimo s sodelovanjem pri antioksidativni obrambi organizmov (Germ in Stibilj, 2007), saj se veže v encim glutathion peroksidazo in je del mnogih selenoproteinov. V Sloveniji je s Pravilnikom o zdravstveni ustreznosti krme (1996) določena največja dovoljena količina selena ($0,5 \text{ mgSe/kg}$), ki se dodaja v krmo. Vendar pa se del dodanega selena v procesu prebave živali ne porabi. Tako se neizkoriščen del neposredno ali posredno izloči v okolje.

Vzroki za onesnaževanje vod s selenom so odpadne kmetijske vode ter različni naravni in antropogeni viri (Germ in sod., 2007) kot so različni geokemični procesi, rudarstvo, različne industrijske dejavnosti (Shardendu in sod., 2003; Germ in sod., 2007). Zaradi strupenosti selena je torej pomembno vedeti, ali in v kolikšnih količinah ga vsebujejo vode, ki so namenjene uporabi v kmetijstvu.

Ker se v svetu zanimanje o vplivu selena na okolje ter na prehranjevalne verige povečuje, je bilo opravljenih tudi mnogo poskusov, s katerimi so ugotavljali sposobnost rastlin za privzem selena predvsem iz prsti pa tudi iz vode. Tako nalogo opravljajo tudi makrofiti.

S pojmom makrofiti označujemo vse makroskopske vodne rastline (Janauer, 2001), ki jih glede na njihovo rastno obliko, način pritrditve in položaj v vodnem stolpcu, lahko razdelimo v štiri skupine: emerzni (helofiti ali močvirske rastline), submerzni (potopljeni), natantni (plavajoči) in amfifiti (ali rastline z amfibijskim značajem). V vodnem okolju

makrofiti služijo kot primarni proizvajalci kisika, nudijo zaščito in življenjski prostor vodnim nevretenčarjem, utrjujejo rečno dno in obrežja, vključeni so v proces čiščenja vode, saj iz nje vežejo različne snovi in hranila (Trošt Sedej, 2005; Vardanyan in Ingole, 2006).

Kopenske rastline odstranjujejo selen iz tal (Kahakachchi in sod., 2004), makrofiti pa odstranjujejo selen iz s selenom onesnaženih kmetijskih odpadnih vod in tal (Lin in sod., 2002; Vardanyan in Ingole, 2006).

1.2 NAMEN DIPLOMSKE NALOGE

Namen našega dela je bil ugotoviti:

- kakšne so koncentracije selena v izbranih slovenskih vodotokih z različnimi zaledji, ki so različno obremenjeni z odpadnimi kmetijskimi vodami,
- vsebnost selena v izbranih makrofilih,
- katere vrste makrofitov privzamejo več selena kot druge.

1.3 DELOVNE HIPOTEZE

- Predvidevamo, da je koncentracija selena v vodi izbranih vodotokov višja kot v pitni vodi.
- Predvidevamo, da je sposobnost izbranih makrofitov za privzem selena različna.
- Predvidevamo, da različni makrofiti privzamejo različne količine selena v istem vodotoku.
- Predvidevamo, da izbrani makrofiti privzamejo različne količine selena v različnih vodotokih.
- Predvidevamo, da se razlike v privzemu selena pri rastlinah pojavljajo tudi znotraj izbranega vodotoka.
- Predvidevamo, da rastna oblika rastline vpliva na akumulacijo selena.

2. PREGLED OBJAV

2.1 MAKROFITI

S pojmom makrofiti označujemo vse makroskopske vodne rastline (Janauer, 2001). Ta skupina vsebuje poleg semenk še praproti, mahove in nekatere makroskopske alge, kot so nitaste alge iz rodu *Cladophora* in parožnice iz rodov *Chara* in *Nitella* (Trošt Sedej, 2005). V nalogi opisujemo s pojmom makrofiti cvetnice, steljčnice pa so posebej omenjene. Glede na njihovo rastno obliko, način pritrditve in njihov položaj v vodnem stolpcu, jih lahko razdelimo v štiri glavne skupine: emerzni, submerzni in natantni makrofiti ter rastline z amfibijskim značajem. Opisi posameznih rastnih oblik so iz Male flore Slovenije (Martinčič in sod., 2007).

Natantni ali plavajoči makrofiti imajo razvite plavajoče liste, s katerimi prosto plavajo na vodni površini. Submerzni ali potopljeni makrofiti imajo značilne potopljene liste. Če so ukoreninjeni, imajo večino asimilacijskih površin pod vodno gladino, neukoreninjeni pa prosto plavajo v vodnem stolpcu. Emerzni makrofiti ali močvirske rastline ali helofiti razvijejo asimilacijske površine ter večji del stebela nad vodno gladino, korenike ali korenine pa so v vodi. Amfifiti ali rastline z amfibijskim značajem lahko uspevajo na kopnem, kadar so popolnoma na suhem, in v vodi, kadar so popolnoma ali delno potopljene, saj so sposobne razviti kopenske in vodne oblike (Trošt Sedej, 2005).

2.1.1 Anatomske, morfološke in fiziološke značilnosti makrofitov

Makrofiti so zaradi rasti v vodnem okolju razvili posebne morfološke in anatomske prilagoditve, hidromorfoze. Ena izmed teh je oblika listov, ki so lahko potopljeni, plavajoči ali popolnoma zračni.

Potopljene rastline imajo liste, ki so lasasti ali drobno razcepljeni (Mildred, 2011), kar jim prepreči trganje v vodnem toku. Potopljeni listi imajo enoplastno povrhnjico ali so brez nje, slabo razvito kutikulo ter nedelujoče ali nerazvite listne reže (Vardanyan in Ingole, 2006). Namesto rež imajo razvite hidropote, ki služijo absorpciji ionov iz vode. Posebnost teh listov je zračno tkivo ali aerenhim, ki sestoji iz različno velikih in med seboj povezanih

praznih prostorov v mezofilu. V glavnem služi kot prostor za rezervo plinov za fotosintezo in dihanje, rastlinam pa povečuje vzgon ter posledično zmanjšuje potrebo po opornem tkivu (Prilagoditve vodnih ..., 2010). Prednost potopljenih listov je v povečanem razmerju med njihovo površino in prostornino, ki omogoča učinkovitejše sprejemanje plinov, hranil in vode (Wu in Guo, 2000).

Plavajoči listi so debelejši od potopljenih in so največkrat okrogle, ščitaste, ledvičaste ali podolgovate oblike (Trošt Sedej, 2005). Imajo dobro razvito povrhnjico in debelo plast kutikule ter epikutikularnih voskov. Listne reže so nameščene na zgornji strani lista, na spodnji pa so razvite hidropote. Aerenhim je razvit v listni ploskvi ter peclju in omogoča listom plavanje na vodni gladini.

Zračni listi so podobni listom kopenskih rastlin. Imajo dobro razvito povrhnjico in plast kutikule ter epikutikularnih voskov, listne reže so nameščene na spodnji strani lista.

Korenine služijo črpanju vode in hranil tako pri ukoreninjenih kot pri neukoreninjenih vodnih rastlinah. Pri ukoreninjenih služijo tudi pritrditvi v substrat.

2.1.2 Vloga makrofitov v vodnem ekosistemu

Vodne rastline so pomembne pri ohranjanju zdravih ekosistemov. Služijo kot primarni proizvajalci kisika, mnogim vodnim nevretenčarjem nudijo zaščito in življenjski prostor (Vardanyan in Ingole, 2006), svoj delež prispevajo tudi k utrjevanju dna in bregov vodnih teles. Vplivajo na hitrost in smer vodnega toka. V sestojih rastlin se hitrost vodnega toka zmanjša in umiri, poveča se usedanje delcev. Kopičenje mulja, peska ter proda omogoča nastanek močvirij (Trošt Sedej, 2005). Makrofiti služijo kot vir hranil drugim organizmom, z zadrževanjem hranil in absorpcijo drugih snovi pa sodelujejo pri biogeokemičnem kroženju hranil in neesencialnih elementov v mnogih vodnih ekosistemi (Vardanyan in Ingole, 2006).

Makrofiti so z vezavo hranil in drugih snovi (npr. težkih kovin) iz vode vključeni v proces čiščenja vode, ki ga lahko imenujemo tudi biološka filtracija (Trošt Sedej, 2005; Carvalho

in Martin, 2001). Mnogi vodni makrofiti prekomerno kopičijo esencialne in neesencialne elemente v svojih tkivih, zato so lahko koncentracije težkih kovin v njihovih tkivih nekajkrat večje, kot so v njihovem vodnem okolju (Vardanyan in Ingole, 2006; Kumar Mishra in Tripathi, 2008).

Čistilna sposobnost vodnih rastlin je odvisna od gostote in sestave sestoja, njegove sezonske variabilnosti ter od količine vnosa snovi. V primeru, da je vnos snovi prevelik, je čistilna sposobnost makrofitske vegetacije presežena, kar vodi v slabšanje kakovosti vode. Makrofiti lahko prispevajo k eutrofikaciji sistema z mobilizacijo hranil iz talnega substrata v svoja tkiva ter s sproščanjem hranil ob njihovem odmiranju (Trošt Sedej, 2005).

2.2 VODE

Kakovost voda je odvisna od samočistilnih sposobnosti ter obsega obremenjevanja in je rezultat procesov v pokrajini gorvodno od zajemnih mest (Smrekar, 2000). Velike razlike v fizikalnih, kemijskih in bioloških lastnostih so tudi med tekočimi in stoječimi vodami. V Vodni direktivi piše, da morajo države članice Evropske unije vodna telesa klasificirati oz. uvrstiti v enega od 5 razredov ekološkega stanja (zelo dobro, dobro, zmerno, slabo in zelo slabo) z vsemi biološkimi elementi oz. s tistimi, ki so relevantni za določeno vodno telo (Ambrožič in sod., 2008; VODNA DIREKTIVA ..., 2009).

Poznamo različne vire in poti onesnaženja, po katerih škodljive snovi pridejo v vode. Vsako onesnaževanje vodnega okolja je zelo specifično in je odvisno od fizikalnih, kemičnih ter bioloških lastnosti odpadnih voda. Po knjigi SLADKOVODNE ALGE: Ali jih poznamo? (Vrhovšek, 1985) lahko vrste onesnaženja razdelimo na: onesnaženje z organskimi snovmi, onesnaženje s strupenimi snovmi, onesnaženje z anorganskimi snovmi, bogatenje vode s hranilnimi snovmi, radiološko onesnaženje in onesnaženje, ki povzroča fizikalne spremembe v vodi. Problem antropogenega onesnaževanja je v tem, da le redko prihaja do samo enega od zgoraj omenjenih vrst onesnaževanja, temveč se različne vrste kombinirajo. Kombinirane vrste onesnaževanja pa so mnogokrat bolj nevarne za organizme v vodi. K onesnaževanju voda z gnojenjem in uporabo

fitofarmacevtskih sredstev prispeva tudi kmetijstvo. Organsko onesnaženje povzroča predvsem porabo kisika v vodah, zaradi česar se v takšnem okolju sproščajo strupene snovi. Problematično je tudi onesnaženje s težkimi kovinami, pesticidi ter mnogimi kemičnimi snovmi, katerih dolgoročnega vpliva še ne poznamo.

Številni laboratorijski poskusi kažejo, da so določene vrste alg in mahov sposobne preživeti pri koncentracijah težkih kovin in drugih onesnažil, ki daleč presegajo smrtne koncentracije za večino drugih organizmov (Vrhovšek, 1985; Chen in sod., 2006; Bruns in sod., 1997). Manjše količine organskih snovi se zaradi samočistilne sposobnosti vodotokov razgradijo brez večjega vpliva na njegovo kakovost, če pa količina onesnaženja presega samočistilno sposobnost vodotoka, lahko pride do večjega onesnaženja vode (Ambrožič in sod., 2008).

V naravi se selen v vodah pojavlja v sledovih kot posledica geokemičnih procesov, kot sta preperevanje kamnin in erozija tal, in je običajno prisoten kot selenat ali selenit (Agrawal in sod., 2009). Fournier in sod. (2010) navajajo, da so koncentracije selena v sladkih vodah med 0,01–0,5 µg/g, a so te lahko večje, zaradi prej omenjenih dejavnikov.

2.3 SELEN

2.3.1 Selen in njegove spojine v bioloških sistemih

Selen se v periodnem sistemu nahaja v VI. skupini med žveplom in telurjem. Zaradi lastnosti kovin in nekovin spada med metaloide. Z žveplom imata zaradi lege v isti skupini periodnega sistema podobne kemijske lastnosti, vendar pa v bioloških sistemih funkcionalno nista zamenljiva. V naravi je prisotnih 6 izotopov (^{74}Se , ^{76}Se , ^{77}Se , ^{78}Se , ^{80}Se in ^{82}Se) (Brenčič in Lazarini, 1995).

Selen se pojavlja v štirih oksidacijskih stanjih: kot selenat (Se^{+6}), selenit (Se^{+4}), elementarni selen (Se^0) in kot selenid (Se^{-2}), vse oblike pa so zmožne prehajati iz ene v

drugo (Díaz in sod., 1996). Selen tvori tudi različne anorganske in organske spojine med katerimi so nekatere hlapne.

Selenat je topen in stabilen v alkalnih vodah in tleh, selenit je nekoliko manj topen kot selenat in se tvori v nekoliko manj oksidirajočih razmerah, elementarni Se je netopen in inerten ter se tvori v kislih, reducirajočih pogojih (Carvalho in Martin, 2001). Selen tvori selenide s kadmijem, bakrom, cinkom in živim srebrom. Vodikov selenid (H_2Se) je plin, ki je podoben sulfidu in je zelo strupen in neprijetnega vonja.

Selen je esencialen mikroelement za ljudi in živali (Schwartz in Foltz, 1957). Z različnimi proteini lahko tvori selenoproteine, ki so vključeni v regulacijo in homeostazo redoks reakcij znotraj celic ter v metabolizem tiroidnega hormona (Lenz in Lens, 2009). V Preglednici 1 so navedeni nekateri selenoproteini z znano vlogo v organizmu sesalcev.

Preglednica 1: Specifični selenoproteini v organizmu sesalcev (Roy in sod., 2005).

Selenoproteini	Vloga
Družina glutation peroksidaz (GPx)	antioksidativni encimi, ki odstranjujejo H_2O_2 , lipidne in fosfolipidne hidroperoksidi
Družina jodotironin dejodinaz (D)	kontrola metabolizma hormonov žleze ščitnice
Družina tioredoksin reduktaz (TrxR)	regulacija redoks procesov v celici
Selenofosfat sintetaza	sodeluje pri biosintezi selenocisteina

2.3.2 Selen v tleh in vodi ter njegova razpoložljivost

Porazdelitev Se v tleh je po svetu zelo različna in neenakomerna. Na nekaterih območjih so koncentracije v tleh večje od $0,5 \text{ mg Se kg}^{-1}$, spet drugje nižje od $0,1 \text{ mg Se kg}^{-1}$ (Lenz in Lens, 2009). Malo Se tako vsebujejo tla na Tasmaniji in Novi Zelandiji, na Finskem, v določenih območjih Kitajske, Vzhodni Sibiriji in Koreji, veliko pa tla na določenih območjih v ZDA, Kanadi, Aziji in Avstraliji (Combs, 2001). Pri nas se vsebnosti Se v tleh gibljejo $<0,1\text{--}0,7 \text{ mg/kg}$ (Krajinovič, 1983; Pirc in Šajn, 1997).

Gupta in Winter (1975) poročata, da je Se v bazičnih tleh pogosto v obliki selenata, ki je dokaj dobro dostopen rastlinam. Takšne vrste zemlje se pojavljajo v aridnih regijah in navadno vsebujejo visoke koncentracije selen in so zato strupene. Kisle prsti (pH je med

4,5 in 6,5) pa nastajajo v vlažnem podnebjju in vsebujejo nižje koncentracije Se, saj vsebujejo železove in aluminijeve spojine, ki vežejo Se in z njim tvorijo komplekse (Reilly, 1996).

Dostopnost Se rastlinam je odvisna od kemijske oblike elementa ter različnih okoljskih dejavnikov kot so: slanost, redoks potencial, pH medija (tla ali voda), fiksacijska kapaciteta tal, vsebnost organskih snovi, vsebnost CaCO_3 , mikrobiološka aktivnost, klimatske razmere, človeška dejavnost (kot npr. namakanje) ter prisotnost drugih elementov in spojin (Reilly, 1996; Kabata Pendias, 2001).

Koncentracije Se v vodi so v neposredni povezavi s koncentracijami Se v tleh (Díaz in sod., 1996). Selen prihaja v vodo s sproščanjem iz kamnin in z raztapljanjem topnih soli v prsti. V vodi se Se navadno nahaja v zelo nizki koncentraciji, le nekaj mikrogramov na liter, ki ne povzroča zastrupitve pri ljudeh ali živalih (Reilly, 1996).

2.3.3 Selen in rastline

Dosedanje raziskave kažejo, da selen za rastline ni nujno potreben mikroelement (Terry in sod., 2000). Vendar pa imajo rastline to sposobnost, da lahko poleg esencialnih elementov in spojin v svojih tkivih kopičijo tudi neesencialne elemente (Vardanyan in Ingole, 2006), med katere spada tudi selen. Raziskovalci poročajo, da imajo majhne koncentracije selen pozitivne učinke na rastline, saj deluje kot antioksidant, poveča odpornost rastlin na UV sevanje in lahko nekoliko upočasni staranje rastlin (Hartikainen in Xue, 1999).

Količina privzetega in akumuliranega Se je odvisna od količine in biorazpoložljivosti elementa v tleh ter od same rastlinske vrste. Glede na sposobnost akumulacije Se v rastlinskih tkivih ločimo (Terry in sod., 2000):

- selen neakumulirajoče rastline - privzamejo do 25 mgSe/kgSS, sem spada večina rastlin,
- selen sekundarno akumulirajoče ali indikatorske rastline - privzamejo do 1000 mgSe/kgSS, sem spadajo nekatere vrste iz rodov *Aster*, *Atriplex* in *Castilleja*,

- selen akumulirajoče ali primarne indikatorske rastline - lahko privzamejo do 4000 mgSe/kgSS, sem spadajo nekatere vrste iz rodov *Astragalus*, *Stanleya* in *Neptunia*.

Za Se akumulirajoče rastline velja, da so zmožne hiperakumulirati visoke koncentracije kovin in elementov v sledovih, tudi če so ti v okolju v zelo nizkih koncentracijah (Baker in Brooks, 1989).

2.3.4 Privzem, prenos, razporeditev in metabolizem selen pri višjih rastlinah

Rastline privzemajo in akumulirajo Se različno. Privzem je odvisen od kemijske oblike, koncentracije, dostopnosti tega elementa v tleh oz. vodi ter sposobnosti rastline za sprejem in metabolizem selen. Tudi kemična podobnost med sulfatom in selenatom pripomore k privzemu Se skozi korenine (Rascio in Navari-Izzo, 2010). Selenat namreč pri akumulaciji v rastlinske celice tekmuje s sulfatom (Zhu in sod., 2009). Oba iona potujeta prek plazmaleme korenin s sulfatnim prenašalcem ali pa s sekundarnim aktivnim kotransportom, ki ga omogoča protonska črpalka. Rastline lahko z aktivnim transportom privzemajo tako potrebne kot nepotrebne ione in druge snovi, kot je na primer SeMet. Za selenit, ki ga rastline tudi črpajo, pa zaenkrat še ni trdnega dokaza, da pri privzemu sodelujejo membranski transporterji (Li in sod., 2008; Zhu in sod., 2009).

Selen neakumulirajoče in hiperakumulirajoče rastline različno transportirajo in shranjujejo težke kovine. Selen neakumulirajoče rastline večino težkih kovin, ki jih privzamejo iz prsti skozi korenine, v citoplazmi razstrupijo s kelacijo ali pa jih shranijo v vakuolah koreninskih celic, največkrat v korteksu, hiperakumulirajoče pa privzete elemente transportirajo po ksilemu v preostale rastlinske dele (Rascio in Navari-Izzo, 2010). V hiperakumulirajočih rastlinah ostane večina privzetega Se v obliki selenata, ker je najmanj toksičen. Ker je selenit bolj toksičen, ga rastline hitreje pretvorijo v organske spojine (proces detoksikacije), ki ostanejo v koreninah (Rascio in Navari-Izzo, 2010).

Sama razporeditev Se v različne dele rastline je odvisna od vrste, razvojne faze in fiziološkega stanja rastline (Terry in sod., 2000). Vnos in poraba mineralov sta odvisna od potreb rastline, ki v življenjskem ciklu prehaja v različne razvojne faze. V obdobju kalitve

se selen iz založnega tkiva razporeja v razvijajoče se korenine in poganjke. V času vegetativne rasti se, po potrebi, prenaša iz zrelih listov v predele novo rastočih organov. V reprodukativni fazi se prenos selena preusmeri v cvetoče dele in semena, v listih pa se vsebnost močno zniža. V obdobju senescence se poveča izločanje mineralov iz starejših listov. Marschner (2002) navaja, da imajo žita, ki spadajo v skupino neakumulirajočih rastlin, v času zorenja enako količino Se v zrnih in koreninah, nekoliko nižjo pa v listih in steblih.

Galeas in sod. (2007) so raziskovali sezonska nihanja selena in žvepla v Se hiperakumulirajočih in neakumulirajočih rastlinah ter ugotovili, da prihaja do sezonskih nihanj. Koncentracija Se v listih rastlin se zmanjšuje od pomladi do jeseni. Največ Se v hiperakumulirajočih rastlinah je bilo v listih spomladi, v času rastne sezone, ko so listi mladi in rastejo, in najmanj jeseni, ko se del Se mobilizira nazaj v koreninski sistem, nekaj pa se ga shrani tudi v semenih.

Višje rastline presnavljajo selen po žveplovi asimilacijski poti, pri čemer se selen vključuje v selenoaminokislino (Ng in Anderson, 1987). Po privzemu se selenit ali selenat v metaboličnih reakcijah pretvorita v organske oblike selena (selenove metabolite), ki lahko delujejo kot analogi žvepla in se vključijo v celične biokemijske reakcije (Brown in Shrift, 1982). V nizu reakcij encim selenocistein sintaza pretvori selenove metabolite v aminokislino SeCys (Reilly, 1996). S pomočjo Se-cisteil-tRNA, ki dekodira triplet nukleotidov UGA (Lee in sod., 1989), se SeCys vgrajuje v proteine (Heider in sod., 1992).

2.3.5 Strupenost Se v rastlinah in obrambni mehanizmi

Glavni mehanizem, ki povzroča strupenost, je vključevanje SeMet in SeCys v proteine na mesto aminokislin metionin in cistein (Heider in sod., 1992). Zaradi različnih lastnosti žvepla in Se prihaja do sprememb v terciarni zgradbi proteinov, kar zmanjša njihovo katalitično aktivnost (Heider in sod., 1992).

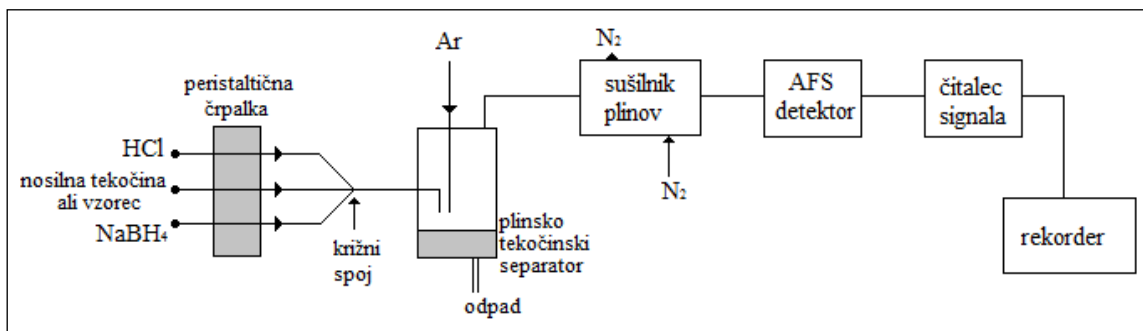
Rastline so razvile različne mehanizme tolerance na povišane koncentracije Se v okolju (substratu, vodi) (Terry in sod., 2000; Läuchli, 1993), med katere spadajo:

- akumulacija Se v obliki prostih aminokislin (npr. selenometilselenocistein (SeMeSeCys)),
- SeMet se sploh ne izgrajuje,
- akumulacija Se v vakuolah je pretežno v obliki selenata,
- fitovolatizacija, to je pretvorba Se v hlapne spojine (npr. vodikov selenid (H_2Se), metil selenid ($(\text{CH}_3)_2\text{Se}$), dimetilselenid (DMSe), dimetildiselenid (DMDSe)).

2.4 UGOTAVLJANJE VSEBNOSTI SELENA S HG-AFS

Obstaja več metod za določitev vsebnosti Se v različnih vzorcih. Za rastlinske vzorce in za vzorce vod smo uporabili tehniko hidridne atomske fluorescenčne spektrometrije (HG-AFS). Za vzorce vod smo uporabili še ICP-MS metodo, ki se uporablja za določevanje vsebnosti kovin v tekočih vzorcih in ima nižjo mejo zaznavnosti za selen (0,063–1,3 ng) kot HG-AFS, ki ima mejo zaznavnosti 2–5 ng (Foster in Sumar, 1995).

Na Sliki 1 je shema pretočnega sistema HG-AFS, v Preglednici 2 pa so opisane optimalne razmere za merjenje s pretočnim sistemom HG-AFS.



Slika 1: Shema pretočnega sistema HG-AFS z rekorderjem (povzeto po Smrkolj, 2003).

Peristaltična črpalka črpa tri različne tekočine, ki so: nosilna tekočina (tekočina z našim vzorcem), 2 M HCl za tvorbo hidrida ter reducent, 1,2% NaBH₄ v 0,1 M NaOH. Pretoke vseh treh tekočin smo uravnavali na peristaltični črpalki (Ismatec, MCP 380) s cevkami različnih notranjih premerov (0,78 mm, 1,02 mm, 2,06 mm). Povezavo med injektorjem in separatorjem so sestavljale cevi z notranjim premerom 0,51 mm in spojev PEEK (polieterketon).

Nosilna tekočina v križnem spoju reagira s HCl za tvorbo hidrida in z reducentom (NaBH_4 in NaOH). V plinsko tekočinskem separatorju (A-tip, PS Analytical) pride do ločitve plinov in tekočin. Nosilni plin argon odnese nastala plina H_2Se in H_2 skozi sušilec plinov (Perma Pure Products), kjer je kot sušilni plin uporabljen dušik, v atomski fluorescenčni spektrometer (Excalibur, PS Analytical). H_2Se v difuzijskem plamenu atomizira, nastali Se atomi pa absorbirajo svetlobo s selenove žarnice z votlo katodo in nato fluorescirajo. Rekorder zabeleži dobljene signale, ki jim nato izmerimo višino in jo primerjamo z višinami signalov standardnih raztopin Se (IV).

Preglednica 2: Optimalne razmere za merjenje s HG-AFS (povzeto po Smrkolj, 2003).

PARAMETER	OBMOČJE
Nosilna tekočina	2 mol/L HCl
Pretok nosilne tekočine	1 mL/min
Reducent	1,2% NaBH_4 v 0,1 mol/L NaOH
Pretok reducenta	3 mL/min
HCl za tvorbo hidrida	2 mol/L
Pretok HCl za tvorbo hidrida	8 mL/min
Nosilni plin	argon (Ar)
Pretok nosilnega plina	250 mL/min
Sušilni plin	dušik (N_2)
Pretok sušilnega plina	4 mL/min
Votla katoda	$\lambda = 196 \text{ nm}$, primarni tok 20 mA, sekundarni tok 25 mA

3. MATERIALI IN METODE

3.1 VZORCI

3.1.1 Pregledani vodotoki in njihovi opisi

Leta 2008 smo opravili predhodne raziskave o privzemu selena pri makrofitih iz rek Ižica, Pšata in Krka, iz potokov pri farmi v Ihanu in kmetiji Rangus ter iz potokov v Lipah, Drami, Rojah in Dolenjem Vrhpolju. Rezultati so zbrani v Prilogi A.

V letu 2009 smo preiskovali različne slovenske vodotoke: reke Pšata, Ižica, Lipsenjščica, Žerovniščica in Krka, potok ob farmi v Ihanu, potok Kobila pri kmetiji Rangus, pritok potoka Curek v Drami ter potok, ki teče skozi Roje. Na rekah Pšata in Žerovniščica smo si izbrali več vzorčnih mest, saj smo po toku navzdol pričakovali nastanek koncentracijskega gradienta selena od mesta vnosa v vodo do posameznega vzorčnega mesta.

V Preglednici 3 so podani opisi vodotokov, najbližji kraj posameznega vodotoka, oznake ter opisi vzorčnih mest. Pri oznakah so v oklepaju podane GPS koordinate v obliki Gauss-Krugerjevih koordinat, kjer Y pomeni zemljepisno dolžino, X pa zemljepisno širino (Vičar, 2002).

V Prilogah D1-D10 so satelitski posnetki in karte z območji vodotokov z označenimi vzorčnimi mesti.

Preglednica 3: Opisi vodotokov ter vzorčnih mest.

Vodotok	Naselje	Oznaka vzorčnega mesta (koordinate)*	Opis vzorčnega mesta	Ekološko stanje oz. kakovostni razred (odvzemno mesto)
Reka Krka	Otočec	Otočec (Y = 5518496, X = 5077221)	Na levem bregu, 120 m višje od mostu, ki vodi do Grada Otočec. Dno je iz proda, peska in kamenja.	Zelo dobro (VT KRKA – SOTESKA – OTOČEC; Cvitanich in sod., 2010)
Pritok potoka Curek	Drama	Drama (Y = 5526503, X = 5080370)	Ob kmetiji, v zaledju travniki in pašniki. Dno iz peska in mulja.	Ni podatka
Potok, ki teče skozi Roje	Roje	Roje (Y = 5526778, X = 5079849)	V zaledju pašnik in kmetija. Dno struge iz kamenja in peska.	Ni podatka
Potok Kobila	Dolenje Vrhopolje	Rangus (Y = 5526277, X = 5075328)	Med kmetijama, v zaledju pašniki. Dno je iz kamenja in peska.	Ni podatka
Potok, ki teče ob farmi v Ihanu	Ihan	Ihan (Y = 5470776, X = 5107616)	Potoček pri ograji farne. Globina potočka manj kot 10 cm, dno je muljasto. Obrežje zelo poraslo z grmovjem in drevjem. Počasi tekoča, skoraj stoječa voda.	Ni podatka
Reka Lipsenjščica	Lipsenj	Lipsenjščica (Y = 5455664, X = 5067767)	50 m dolvodno od mostu v Lipsenj. Globina vode okoli 30 cm, dno iz kamenja, pogosto poraslo z algami in mahovi. Obrežje porasčeno z visoko travo in grmovjem. V zaledju desnega brega so travniki, levega pa njive. Srednje hiter tok vode.	I-II kakovostni razred (PRIMOSTU; Poročilo o kakovosti..., 2006)
Reka Ižica	Ig	Ižica (Y = 5463776, X = 5090523)	V Igu na sredi vasi. Globina vode okoli 1 m (zaradi zaježitve), dno iz kamnov velikih okoli 3 cm. Šibek vodni tok.	Dobro (VT IŠČICA; Cvitanich in sod., 2010)
Reka Pšata	Pšata	1-Pšata (Y = 5467419, X = 5108283)	100 m dolvodno od betonskega mostu pri glavni cesti pri goveji farmi. Globina vode okoli 20 cm, dno iz kamenčkov, večji kamni porasli z mahom. Obrežje poraslo s travo.	Zmerno (VT PŠATA; Cvitanich in sod., 2010)
		2-Pšata (Y = 5467556, X = 5108176)	10 m gorvodno od malega lesenega mostu, kjer je odcedni kanal v Pšato. Obrežje poraslo z visoko travo.	
		3-Pšata (Y = 5467573, X = 5108154)	Voda iz odtočnega jarka, ki je za odcednim kanalom v Pšato. Je črne barve in z vonjem po gnojnici, v njej veliko ličink komarjev. Obrežje poraslo s travo.	

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Vodotok	Naselje	Oznaka vzorčnega mesta (koordinate)*	Opis vzorčnega mesta	Ekološko stanje oz. kakovostni razred (odvzemno mesto)
Reka Žerovniščica	Žerovnica	1-Žerovniščica (Y = 5455712, X = 5068601)	V vasi Žerovnica pri gasilskem domu, 30 m gorvodno od mostu. Globina vode okoli 30 cm, dno iz kamenčkov ter večjih kamnov, ki so prerasli z algami. Obrežje poraslo s travo in grmovjem. Srednje hiter tok vode.	II. kakovostni razred (PO SOTOČJU Z GRAHOVŠČICO; Poročilo o kakovosti ..., 2006, Y = 5454318, X = 5068584)
		2-Žerovniščica (Y = 5455647, X = 5068540)	60 m dolvodno od mostu v vasi Žerovnica. V bližini sta na levem bregu dve izcedni cevi, na desnem kmetija. Globina vode okoli 20 cm, dno iz kamenčkov. Obrežje poraslo s travo. Srednje hiter tok vode.	
		2,2-Žerovniščica	60 m dolvodno od mostu v vasi Žerovnica, na levem bregu, tik pod izcednima cevema. Vzorec vode je iz izcedne cevi.	
		3-Žerovniščica (Y = 5455603, X = 5068549)	100 m dolvodno od mostu v vasi Žerovnica, vzporedno s kmetijo na desnem bregu, kjer je pašnik (konji). Globina vode okoli 20 cm, večji kamni porasli z mahom in algami, na dnu kamenčki. Obrežje poraslo s travo. Srednje hiter tok vode.	
		4-Žerovniščica (Y = 5455424, X = 5068491)	350 m dolvodno od mostu v vasi Žerovnica. Globina vode okoli 20 cm, na dnu kamni, ponekod porasli z mahom in algami. Obrežje poraslo z visoko travo, grmovjem in drevjem. V zaledju so travniki in njive. Srednje hiter tok vode.	
		5-Žerovniščica (Y = 5455143, X = 5068423)	760 m dolvodno od mostu v vasi Žerovnica. Voda globoka okoli 40 cm, dno muljasto. Obrežje poraslo z visoko travo in posameznimi drevesi. V zaledju so travniki in njive. Srednje hiter tok vode.	

*Gauss-Krugerjeve koordinate

Za pregledane vodotoke smo se odločili zato, ker se selen v odcednih vodah pojavlja predvsem zaradi kmetijske dejavnosti, ki je v okolici pregledanih vodotokov zelo razširjena. Izjema je reka Lipsenjščica, ki teče skozi območje, kjer so v zaledju travniki in ni vidnih sledov onesnaženja.

Reka Krka je dolga 93 km, vanjo pa se zlivajo vode zahodnega dela Krške ravnine. Ima zelo majhen strmec (Strokovne podlage ..., 2005).

Kobila je hudournik, ki izvira pod zahodnim robom Ravne gore (Gorjanci) in teče po sredini Šentjernejskega polja skozi Šentjernejo v Krko (Strokovne podlage ..., 2005).

Reka Pšata je 28 km dolga reka v porečju Save in je desni pritok Kamniške Bistrice. Južno od naselja Suhadole je Pšata preusmerjena v severni razbremenilni kanal Pšata, ki poteka v smeri proti vzhodu in se nato v Preserju pri Radomljah izliva v Kamniško Bistrico, sicer pa se prvotni tok Pšate nadaljuje proti jugu, kjer je zaradi poplavljanja tudi urejen v umetno strugo (Wikipedia, Pšata). Naša vzorčna mesta so bila v razbremenilnem kanalu pri farmi Agroemona d.o.o. Domžale GE Pšata.

Reka Ižica je dolga 12 km in je značilna reka Ljubljanskega barja s kraškim izvirom in majhnim padcem. Ima stalno vodo v višini 0,5 do 1,5 m in je bogato porasla z makrofiti. Dno struge pokriva mulj, ki je primeren za zakoreninjenje rastlin (Jogan in sod., 2004).

Reka Žerovniščica je pritok potoka Stržen, ki teče po Cerkniskem polju. Žerovniščica je bogata z vodo in ima dva večja pritoka, Grahovščico in Martinjščico (Wikipedia, Žerovniščica).

Reka Lipsenjščica je pritok potoka Stržen, ki teče po Cerkniskem polju (Wikipedia, Lipsenjščica), in jo uvrščamo med najbolj vodnate na Cerkniskem polju, saj ima povprečni srednji letni pretok vode 1,29 m³/sek in presega Cerknjščico (Smrekar, 2000).

3.1.2 Pregledani makrofiti in opisi njihovih habitatov

V Preglednici 4 so zbrani podatki o najdenih makrofilih, razdeljenih na višje rastline, alge in bakterije ter mahove. Vse vrste makrofitov so poimenovane latinsko, višje rastline imajo še slovenska imena.

Višje vodne rastline smo glede na rastno obliko razdelili v 4 skupine, ki so: natantne ali plavajoče vodne rastline, submerzne ali potopljene vodne rastline, emerzne ali močvirske rastline ali helofiti ter na rastline z amfibijskim značajem ali amfifiti.

Opisi habitatov višjih rastlin so iz Male flore Slovenije (Martinčič in sod., 2007), alg iz knjige SLADKOVODNE ALGE: Ali jih poznamo? (Vrhovšek, 1985), nitastih bakterij iz

članka Pellegrin in sod. (1999) ter mahov iz knjige, dostopne na internetu (Atherton in sod., 2010a in 2010b).

Preglednica 4: Vzorčeni makrofiti na pregledanih vzorčnih mestih.

Slovensko ime	Latinsko ime	Kratika	Rastna oblika	Habitat
Višje rastline				
ozkolistni koščec	<i>Berula erecta</i>	Ber ere	amfifit	Močvirja, vodni jarki in nabrežja.
žabji las	<i>Callitriche</i> sp.	Cal sp.	potopljena	Tekoče in stoječe vode.
navadni rogolist	<i>Ceratophyllum demersum</i>	Cer dem	potopljena	Stoječe in počasi tekoče vode.
vodna kuga	<i>Elodea canadensis</i>	Elo can	potopljena	Stoječe in počasi tekoče vode.
navadna smrečica	<i>Hippuris vulgaris</i>	Hip vul	amfifit	Stoječe in počasi tekoče vode, močvirja in poplavljena tla.
mala vodna leča	<i>Lemna minor</i>	Lem min	plavajoča	Vodni jarki, ribniki in mlake, med rastlinjem na bregovih tekočih voda.
močvirska spominčica	<i>Myosotis scorpioides</i>	Myo sco	amfifit	Vlažni travniki, močvirja, bregovi in tekoče vode.
klasasti rmanec	<i>Myriophyllum spicatum</i>	Myr spi	potopljena	Stoječe in počasi tekoče vode.
navadna vodna kreša	<i>Nasturtium officinale</i>	Nas off	amfifit	Studenčni kraji, ob potokih in v čistih tekočih vodah.
kodravi dristavec	<i>Potamogeton crispus</i>	Pot cri	potopljena	Počasi tekoče ali stoječe vode.
plavajoča vodna zlatica	<i>Ranunculus fluitans</i>	Ran flu	potopljena	Reke in potoki.
lasastolistna vodna zlatica	<i>Ranunculus trichophyllus</i>	Ran tri	potopljena	Stoječe in počasi tekoče vode.
drobnoplodni ježek	<i>Sparganium microcarpum</i>	Spa mic	emerzna	Plitvine stoječih in počasi tekočih voda ter mokra in s hranili bogata rastišča.
ježek	<i>Sparganium</i> sp.	Spa sp.	emerzna	
vodni jetičnik	<i>Veronica anagallis-aquatica</i>	Ver ana	amfifit	Mlake, počasi tekoče vode, vodni jarki in močvirnat travniki.
Alge				
	<i>Chara</i> sp.			Trde, z apnencem bogate in počasi tekoče ali stoječe vode.
	<i>Cladophora</i> sp.			Pogoste v poltrdih ali trdih vodah, posebno, če je prisotno komunalno onesnaževanje.
	<i>Spirogyra</i> sp.			Vsakovrstne stoječe in počasi tekoče vode. Bujno rastejo v vodah, ki so bogate s hranili.
	<i>Mougeotia</i> sp.			
	<i>Vaucheria</i> sp.			
Nitaste bakterije				
	<i>Sphaerotilus natans</i>			Z organskimi snovmi onesnažene vode.
Mahovi				
	<i>Fontinalis antipyretica</i>			Pritrjen na kamne, skale in drevesa v mirnih, počasi ali hitro tekočih vodnih telesih, ki vključujejo jezera, ribnike, kanale, izvire rek.
	<i>Chiloscyphus polyanthos</i>			Pritrjen na kamne v potokih ter na vlažnih tleh.

3.1.3 Zbiranje in sortiranje vzorcev

Na mestu vzorčenja smo nabrali cele, ukoreninjene rastline po potrebi s pomočjo »makrofitolovca« (to je teleskopska palica s kavlji na eni strani). Nabrane rastline smo na samem mestu vzorčenja taksonomsko določili, pri čemer smo si pomagali z različnimi določevalnimi ključi. Rastline smo dobro oprali v rečni vodi ter vsako vrsto posebej shranili v označene plastične vrečke ali plastične posode. Posebne plastične posode ali pa steklene kozarce smo napolnili z vzorci vode iz posameznega vzorčnega mesta. Vse vzorce

smo po končanem vzorčenju prenesli na IJS Odsek za znanosti o okolju ter jih do nadaljnje obdelave shranili v hladni sobi pri 17 °C za največ 12 ur.

3.2 METODA ZA DOLOČITEV SELENA

3.2.1 Priprava vzorcev makrofitov

Dan po vzorčenju je sledilo čiščenje vzorcev. Odstranili smo vse drobne in grobe tuje delce in s papirnatimi brisačami z rastlin popivnali odvečno vodo. Očiščene in osušene rastline smo spravili v čiste in označene plastične vrečke, vsako rastlinsko vrsto v svojo, ter jih shranili v zamrzovalni skrinji pri –20 °C.

Vzorci rastlin smo posušili v liofilizatorju. Posušene rastline smo zmleli v ahatnem planetarnem mikro mlinu (FRITSCH, Pulverisette 7). Mleli smo 7 minut s hitrostjo 2600–3200 obratov/min. Po mletju smo nekatere vzorce po potrebi presejali skozi sito, s premerom por 450 µm, da smo odstranili večje delce. Zmlete vzorce smo shranili v označenih prahovkah.

Posušenega in zmletega vzorca male vodne leče (27. 7. 2009, Ihan) in lasastolistne vodne zlatice (16. 10. 2009, 2-Žerovniščica) smo imeli premalo za analizo. V vzorcu močvirske spominčice iz mesta 1-Pšata (16. 10. 2009) in v vzorcu plavajoče vodne zlatice iz reke Ižice (16. 10. 2009) je bilo pred redčenjem nekaj temne oborine, po redčenju z deionizirano vodo pa je bila raztopina motna.

3.2.1.1 Razkroj in redukcija vzorcev makrofitov

Razkroj vzorcev makrofitov smo opravili po postopku, ki sta ga opisali Smrkolj in Stibilj (2004) in je potekal v zaprtih ter odprtih teflonskih posodah. 50 ml teflonske posode smo predhodno 24 ur namakali v raztopini detergenta (10% Micro 90), nato pa še 24 ur v raztopini $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{O} = 1 : 1$ ter jih sprali z deionizirano vodo Milli Q (Millipore).

V stehtane in pomite teflonske posodice smo odtehtali 0,150–0,200 g vzorca, mu dodali 1,5 ml konc. HNO_3 in 0,5 ml konc. H_2SO_4 ter čez noč segrevali pri temperaturi 80 °C na

aluminijastem termo bloku (Termoproc) v zaprtih teflonskih posodah. Naslednji dan smo temperaturo povišali na 130 °C in segrevali še eno uro. Po segrevanju smo vzorce ohladili na sobno temperaturo, dodali 2 ml konc. H_2O_2 in odprte teflonske posodice z raztopino segrevali še 10 minut pri 115 °C. Raztopini smo nato dodali 0,1 ml 40% HF (razen plodom drobnoplodnega ježka) ter ponovno segrevali 10 minut pri 115 °C. Zatam smo dodali 2 ml konc H_2O_2 in segrevali 10 minut pri 115 °C.

Po razkroju v zaprti in odprti teflonski posodi smo raztopino ohladili na sobno temperaturo, ji dodali 0,1 ml V_2O_5 in segrevali pri 115 °C približno 20 minut (do pojava modre barve).

Na koncu smo naredili redukcijo. Raztopini, ohlajeni na sobno temperaturo, smo dodali 2 ml 30% HCl in jih 10 minut segrevali pri 90 °C.

Po razkroju in redukciji smo vzorce razredčili na 15 g ali 30 g z deionizirano vodo Milli Q, odvisno od pričakovane vsebnosti selena v vzorcu, ter določili celokupno vsebnost selena v vzorcu s HG-AFS metodo. Kot referenčni material smo uporabili špinacne liste s certificirano vsebnostjo selena (Spinach leaves, NIST 1570a).

3.2.2 Priprava vzorcev vod

Po vzorčenju smo vse vode prefiltrirali skozi Büchnerjev lij skozi filtre z različnim premerom por (Rundfilter 7 cm MN 616wa, Filter papir circles 185 mm 589¹ black ribbon, Macherey-Nagel MN 616wa 5,5 cm, Millipore 0,45 μm HV), nato pa jim dodali 0,5 ml konc. HNO_3 (pH okoli 2). Prečiščene vode smo do nadaljnje uporabe shranili v hladilniku v označenih 200 ml plastičnih posodah.

3.2.2.1 Razkroj in redukcija vzorcev vod

Vse vzorce vod smo morali skoncentrirati, kar smo opravili na dva načina:

1. Z izparevanjem na termobloku: v stehtane, pomite in označene 50 ml teflonske posode smo odtehtali 30 g vzorca. Nato smo vzorce s segrevanjem do 60 °C na termobloku (Termoproc) skoncentrirali do 2–3 g.
2. Z liofilizacijo: v stehtane, pomite in označene 50 ml teflonske posodice smo odtehtali 30 g vzorca. Nato smo vzorce zamrznili v tekočem dušiku in jih dali v liofilizator, da so se skoncentrirali do 2–3 g.

S skoncentriranimi ter po potrebi ohlajenimi vzorci vod smo nato opravili celokupni razkroj ali pa smo naredili le redukcijo.

- Celokupni razkroj

Skoncentriranim vzorcem vod smo dodali 1,5 ml konc. HNO_3 in 0,5 ml konc. H_2SO_4 ter jih v zaprtih teflonskih posodah eno uro segrevali pri 130 °C. Postopek naprej je enak kot za makrofite.

- Brez razkroja

Skoncentriranim vzorcem smo dodali ustrezno količino konc. HCl , da je bilo raztopine s koncentracijo 6 M 5 ml ter naredili redukcijo.

Po razkroju in redukciji smo vzorce razredčili na 10 g z deionizirano vodo Milli Q in določili celokupno koncentracijo selena v vzorcu s HG-AFS metodo. Kot primerjalni vzorec smo uporabili vodovodno vodo, kjer je najvišja dovoljena vrednost selena 10 µg/l (Pravilnik o pitni..., 2004; Pitna voda, 2011).

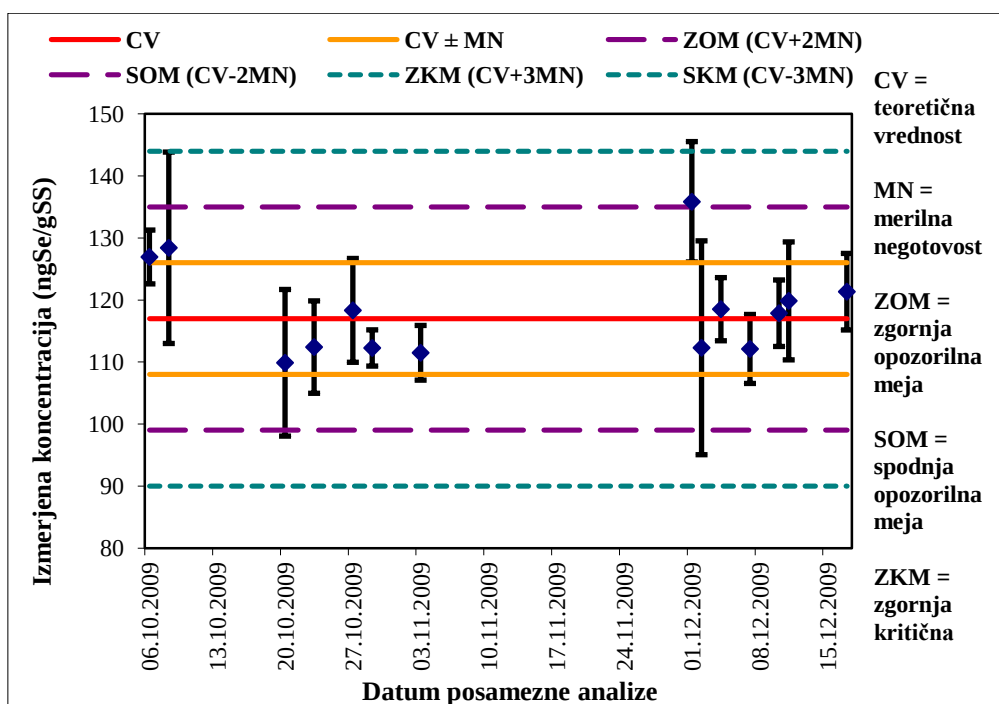
Zaradi nizkih koncentracij selena v vzorcih vod, smo meritve opravili še z ICP-MS metodo in v diplomski nalogi upoštevali te rezultate. Za vodovodno vodo smo upoštevali rezultate, ki smo jih dobili s HG-AFS metodo.

3.2.3 Standardne raztopine

Za pripravo standardnih selenovih raztopin smo uporabili natrijev selenat (Na_2SeO_4 , Sigma, SigmaUltra), ki smo ga raztopili v deionizirani vodi MilliQ in pripravili raztopino s koncentracijo $10 \mu\text{gSe/g}$. Tedensko smo iz tega pripravljali delovne raztopine s koncentracijo 100 ngSe/g , dnevno pa raztopine z nižjimi koncentracijami Se. Standardne raztopine smo pripravili v enakem kislinem mediju kot vzorce.

3.2.4 Pravilnost in ponovljivost metode

Pravilnost in zanesljivost metode za merjenje koncentracij Se v rastlinah smo preverili z merjenjem koncentracije Se v certificiranem referenčnem materialu, to je špinačnih listih (Spinach leaves, NIST 1570a). Referenčni material smo vključili v analizo vsake serije vzorcev v najmanj dveh paralelkah. Razkroj tega materiala in vsi nadaljnji postopki so potekali enako kot z vzorci makrofitov. Dobljene podatke smo prikazali v kontrolni karti (Slika 2), kjer so podani kot povprečje $\pm$ absolutna napaka, in se ujemajo s certificiranimi vrednostmi.



Slika 2: Kontrolna karta izmerjenih koncentracij selen v certificiranem referenčnem materialu - špinačni listi (Spinach leaves, NIST 1570a: $117 \pm 9 \text{ ngSe/gSS}$). Rezultati so podani kot povprečje $\pm$ absolutna napaka.

3.3 OBDELAVA PODATKOV

Podatke smo vnesli v MS Excel, izračunali povprečne vsebnosti in koncentracije selena, standardne odklone ter rezultate grafično prikazali. Uporabljen je bil program ANOVA.

V programu R smo naredili grafe v obliki »Box-plot«.

V programu MS Word smo zbrali rezultate in jih uredili v Preglednice 5, 6 in 7.

4. REZULTATI

Leta 2008 smo opravili preliminarne raziskave o vsebnosti selena pri makrofutih ter vodah na izbranih vodotokih. Rezultati preliminarne raziskave so v Prilogi A. V tej diplomski nalogi smo uporabili le podatke iz raziskav pri višjih vodnih rastlinah, ki smo jih vzorčevali poleti in jeseni leta 2009. Rezultatov, ki smo jih dobili aprila 2009, pri obdelavi podatkov nismo uporabili, ker smo ponekod v en vzorec združili različne rastlinske vrste. Rezultati aprilskega vzorčenja iz leta 2009 so zbrani v Prilogi B. Rezultati meritev selena pri algah, bakterijah in mahovih iz julijskega in oktobrskega vzorčenja v letu 2009 so v Prilogi C. V nalogi opisujemo s pojmom makrofuti cvetnice, steljčnice so posebej omenjene.

4.1 Vode

V Preglednici 5 so zbrani podatki izmerjenih koncentracij selena v vzorcih vod, ki smo jih odvzeli poleti (27. 7. 2009) in jeseni (15. in 16. 10. 2009). 27. 7. 2009 smo vzorčili na rekah Ižica, Lipsenjščica in Žerovniščica ter na potoku ob farmi v Ihanu, 15. 10. 2009 na potokih v Drami in pri kmetiji Rangus ter na reki Krki pri Otočcu, 16. 10. 2009 pa še na potoku v Rojah ter na reki Pšati. Vsa odvzemna mesta vod so opisana v Preglednici 2 in so enaka vzorčnim mestom, kjer smo nabirali makrofite.

Vsak vzorec je bil določen v najmanj dveh paralelkah. Koncentracije selena v vzorcih vod smo izmerili z ICP-MS metodo, vsebnost v vodovodni vodi pa s HG-AFS metodo.

4.1.1 Koncentracije selena v izbranih vodotokih

Pri izračunu povprečnih koncentracij selena za reko Pšato smo uporabili le rezultate vzorcev 1- in 2-Pšata. Vzorcev vode iz mesta 3-Pšata pri tem nismo uporabili zato, ker jarek z odcedno vodo, kjer smo odvzeli izbrani vzorec, ni bil v neposrednem stiku s samo reko.

Pri izračunu povprečnih koncentracij selena za reko Žerovniščico smo uporabili rezultate vzorcev 1-, 2-, 3-, 4- in 5-Žerovniščica. Vzorca vode iz mesta 2,2-Žerovniščica pri izračunih nismo uporabili zato, ker je bil odvzet iz izcednih cevi, ki sta bili speljani v reko. Izmerjene vsebnosti selena v vzorcih vod nam kažejo le trenutno stanje selena v vodah.

Preglednica 5: Povprečne koncentracije Se ($\mu\text{g/L}$) v vodah.

Vzorčno mesto	*n	**POVP poleti ($\mu\text{gSe/L}$)	**STDEV poleti ($\mu\text{gSe/L}$)	**POVP jeseni ($\mu\text{gSe/L}$)	**STDEV jeseni ($\mu\text{gSe/L}$)	***POVP p+j ($\mu\text{gSe/L}$)	***STDEV p+j ($\mu\text{gSe/L}$)	****POVP vodotok ($\mu\text{gSe/L}$)	****STDEV vodotok ($\mu\text{gSe/L}$)
Ižica	2	0,16	0,01	0,07	0,01	0,12	0,06	0,12	0,06
Lipsenjščica	2	0,15	0,01	0,08	0,01	0,11	0,05	0,11	0,05
1-Pšata	2	0,1	0,01	0,06	0,01	0,08	0,02	0,13	0,08
2-Pšata	2	0,16	0,01	0,06	0,01	0,11	0,07		
3-Pšata	2	0,49	0,02	0,39	0,02	0,44	0,07	0,44	0,07
1-Žerovniščica	2			0,07	0,01			0,09	0,02
2-Žerovniščica	2	0,16	0,01	0,07		0,11	0,06		
3-Žerovniščica	2	0,14	0,02	0,06	0,01	0,10	0,06		
4-Žerovniščica	2	0,1	0,02	0,06	0,01	0,08	0,03		
5-Žerovniščica	2			0,06	0,01				
2,2-Žerovniščica	2			0,18	0,01			0,18	0,01
Ihan	2	0,08	0,01	0,05	0,01	0,06	0,03	0,06	0,03
Drama	2			0,20	0,01			0,20	0,01
Rangus	2			0,09	0,01			0,09	0,01
Krka	2			0,19	0,04			0,19	0,04
Vodovodna voda	10			0,12	0,03			0,12	0,03

*n – število določitev

**POVP poleti in POVP jeseni - povprečna izmerjena koncentracija Se v poletnih in jesenskih vzorcih

**STDEV poleti in jeseni - standardni odmik ali absolutna napaka

***POVP p+j - izračunana povprečna koncentracija Se poletnih in jesenskih vzorcev iz posameznega odzemnega mesta

***STDEV p+j - standardni odmik ali absolutna napaka

****POVP vodotok - izračunana povprečna koncentracija Se posameznega vodotoka

****STDEV vodotok - standardni odmik ali absolutna napaka

V vseh izbranih vodnih telesih smo izmerili 0,03–0,51 µgSe/L. Največjo koncentracijo selena smo izmerili v vzorcih iz mesta 3-Pšata ($0,44 \pm 0,07$ µgSe/L), v vseh preostalih pa so bile koncentracije manjše za polovico in so segale 0,03–0,23 µgSe/L.

V času naših vzorčenj v letu 2009 nismo odvzeli vzorca vode iz pritoka potoka v Rojah. Vendar smo v preliminarnih raziskavah leta 2008 (glej Prilogo A) v vzorcu iz vodotoka pri Rojah s HG-AFS metodo izmerili 0,03 µgSe/L.

4.2 Makrofiti

V Preglednicah 6 in 7 so zbrani rezultati meritev povprečnih vsebnosti selena v makrofilih, ki smo jih vzorčili poleti (27. 7. 2009) in jeseni (15. in 16. 10. 2009).

Na devetih različnih slovenskih vodotokih smo v letu 2009 popisali 15 vrst višjih vodnih rastlin, 5 rodov alg, eno vrsto nitaste bakterije ter dve vrsti mahov (glej Preglednico 4). V Žerovniščici smo na 6 vzorčnih mestih (1-, 2-, 2,2-, 3-, 4- in 5-Žerovniščica) našli 6 vrst višjih rastlin, v Ižici 10, v Lipsenjščici 5, v Pšati smo na dveh vzorčnih mestih (1-, 2-Pšata) našli 3 vrste, v Krki pri Otočcu ter v potoku, ki teče skozi Roje 2 vrsti, le po eno vrsto pa smo našli v pritoku potoka Curek pri Drami, v potoku ob farmi v Ihanu in v potoku Kobila pri kmetiji Rangus.

Vsak vzorec je bil določen v najmanj dveh paralelkah.

Preglednica 6: Povprečne vsebnosti selen (ng/gSS) pri višjih vodnih rastlinah vzorčenih 27. 7. 2009.

Vzorčno mesto	Rastlinska vrsta	*n	*POVP	*STDEV
2-Žerovniščica	<i>P. crispus</i>	2	225	15
	<i>V. anagallis-aquatica</i>	5	709	24
3-Žerovniščica	<i>P. crispus</i>	2	413	5
	<i>M. scorpioides</i>	5	680	44
	<i>V. anagallis-aquatica</i>	5	647	10
	<i>R. trichophyllus</i>	2	432	12
4-Žerovniščica	<i>P. crispus</i>	2	259	18
	<i>M. scorpioides</i>	2	262	9
	<i>N. officinale</i>	2	297	9
	<i>Sparganium</i> sp.	5	69	25
Lipsenjščica	<i>P. crispus</i>	5	145	3
	<i>V. anagallis-aquatica</i>	3	219	4
	<i>R. trichophyllus</i>	2	439	24
	<i>Callitriche</i> sp.	3	467	3
Ižica	<i>H. vulgaris</i>	3	356	2
	<i>Callitriche</i> sp.	3	297	22
	<i>R. trichophyllus</i>	2	180	6
	<i>B. erecta</i>	4	246	10
	<i>E. canadensis</i>	3	340	12
1-Pšata	<i>H. vulgaris</i>	3	372	7
2-Pšata	<i>H. vulgaris</i>	3	228	16

*n – število določitev, POVP – povprečje, STDEV – standardni odmik ali absolutna napaka

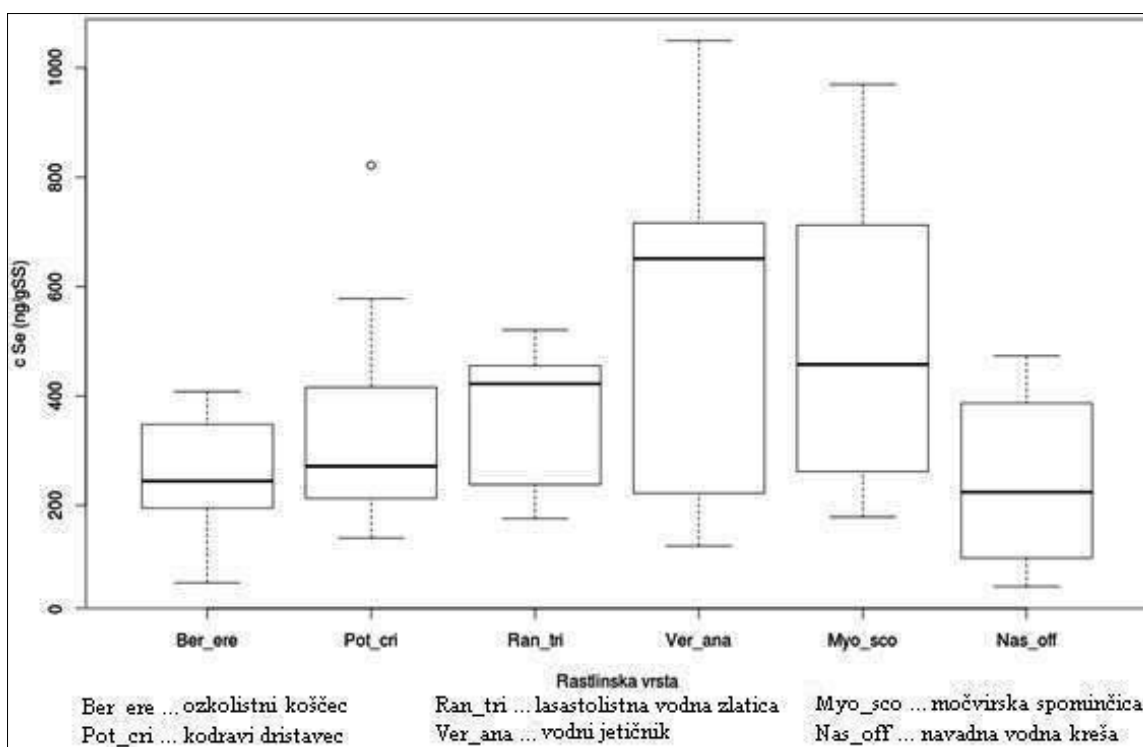
Preglednica 7: Povprečne vsebnosti selena (ng/gSS) pri višjih vodnih rastlinah vzorčenih 15. 10. 2009 in 16. 10. 2009.

Vzorčno mesto	Rastlinska vrsta	*n	*POVP	*STDEV
15. 10. 2009				
Drama	<i>B. erecta</i>	2	402	8
Krka	<i>M. scorpioides</i>	2	438	29
	<i>C. demersum</i>	2	325	4
Kobila	<i>N. officinale</i>	2	155	5
Roje	<i>N. officinale</i>	2	54	4
	<i>B. erecta</i>	2	79	29
16. 10. 2009				
1-Žerovniščica	<i>V. anagallis-aquatica</i>	2	410	8
	<i>P. crispus</i>	2	333	2
	<i>R. trichophyllus</i>	2	519	2
2,2-Žerovniščica	<i>V. anagallis-aquatica</i>	2	989	85
	<i>P. crispus</i>	2	292	0
3-Žerovniščica	<i>P. crispus</i>	2	684	194
	<i>V. anagallis-aquatica</i>	2	129	4
	<i>M. scorpioides</i>	2	728	2
4-Žerovniščica	<i>Sparganium</i> sp.	4	28	12
	<i>P. crispus</i>	2	455	3
	<i>M. scorpioides</i>	2	450	1
	<i>V. anagallis-aquatica</i>	2	832	28
5-Žerovniščica	<i>P. crispus</i>	2	568	13
	<i>M. scorpioides</i>	2	935	49
	<i>Sparganium</i> sp.	2	516	20
1-Pšata	<i>M. scorpioides</i>	2	194	4
2-Pšata	<i>M. spicatum</i>	2	25	10
Lipsenjščica	<i>P. crispus</i>	2	138	27
	<i>V. anagallis-aquatica</i>	2	196	0
	<i>R. trichophyllus</i>	2	239	1
	<i>Callitriche</i> sp.	2	400	4
	<i>M. scorpioides</i>	2	205	36
Ihan	<i>L. minor</i>	2	287	12
Ižica	<i>H. vulgaris</i>	2	406	2
	<i>E. canadensis</i>	2	340	5
	<i>V. anagallis-aquatica</i>	2	389	5
	<i>Callitriche</i> sp.	2	819	21
	<i>P. crispus</i>	2	212	1
	<i>B. erecta</i>	2	349	1
	<i>N. officinale</i>	2	472	2
	<i>S. microcarpum</i>	2	432	12
	<i>S. microcarpum</i> OREŠKI	2	105	5
	<i>R. fluitans</i>	2	728	12

*n – število določitev, POVP – povprečje, STDEV – standardni odmik ali absolutna napaka

4.2.1 Izbrani makrofiti imajo različne sposobnosti privzema selen

Na Sliki 3 lahko vidimo koliko selen so privzele izbrane vrste višjih vodnih rastlin iz vseh izbranih vodotokov v obeh letnih časih (poleti in jeseni). Za lažjo obdelavo podatkov smo si izbrali le tiste višje rastline, ki so se na vodotokih pojavile najmanj trikrat.



Slika 3: Privzem selen pri šestih vrstah višjih vodnih rastlin - neodvisno od vzorčnega mesta.

Rastline vodnega jetičnika so v izbranih vodotokih privzele 125–1050 ngSe/gSS, rastline močvirne spominčice 175–970 ngSe/gSS, rastline lasastolistne vodne zlatice 175–520 ngSe/gSS, rastline kodravega dristavca 140–580 ngSe/gSS, rastline navadne vodne kreše 50–475 ngSe/gSS, rastline ozkolistnega košča pa 55–410 ngSe/gSS.

4.2.2 Različni makrofiti privzemajo različne količine selen na istem vodotoku

Pri obdelavi podatkov smo združili izmerjene vsebnosti selen poletnih in jesenskih vzorcev iz različnih vzorčnih mest, če je le-teh bilo več na katerem vodotoku (Žerovniščica, Pšata).

V reki Ižici smo našli kar 10 različnih vrst makrofitov. Največ selen so privzele rastline plavajoče vodne zlatice (728 ± 23 ngSe/gSS) in žabjega lasu (558 ± 369 ngSe/gSS), nekoliko manj rastline navadne vodne kreše (472 ± 2 ngSe/gSS), drobnoplodnega ježka (432 ± 12 ngSe/gSS), navadne smrečice (381 ± 35 ngSe/gSS) ter vodnega jetičnika (389 ± 5 ngSe/gSS). Rastline vodne kuge so privzele 340 ngSe/gSS, ozkolistnega košca 298 ± 73 ngSe/gSS, še manj rastline kodravega dristavca (212 ± 1 ngSe/gSS) in najmanj rastline lasastolistne vodne zlatice (179 ± 6 ngSe/gSS). V plodovih drobnoplodnega ježka smo izmerili 105 ± 5 ngSe/gSS, kar je od zelenih delov rastline 4–krat manj.

V reki Žerovniščici smo našli 6 različnih vrst makrofitov. Največ selen so privzele rastline vodnega jetičnika (620 ± 308 ngSe/gSS) ter močvirske spominčice (611 ± 261 ngSe/gSS), nekoliko manj rastline lasastolistne vodne zlatice (475 ± 62 ngSe/gSS), kodravega dristavca (404 ± 160 ngSe/gSS) in navadne vodne kreše (297 ± 9 ngSe/gSS), najmanj pa rastline iz rodu ježka (204 ± 271 ngSe/gSS).

V reki Lipsenjščici smo našli 5 vrst makrofitov. Največji vsebnosti selen smo izmerili v žabjem lasu (434 ± 48 ngSe/gSS) in lasastolistni vodni zlati (338 ± 142 ngSe/gSS). Preostale rastline, vodni jetičnik, kodravi dristavec in močvirski spominčica, so privzele za polovico manj selen (okoli 200 ngSe/gSS).

V reki Pšati smo našli tri vrste makrofitov med katerimi so največ selen privzele rastline navadne smrečice (300 ± 102 ngSe/gSS), nekoliko manj rastline klasastega rmanca (257 ± 10 ngSe/gSS) in najmanj rastline močvirske spominčice (194 ± 4 ngSe/gSS).

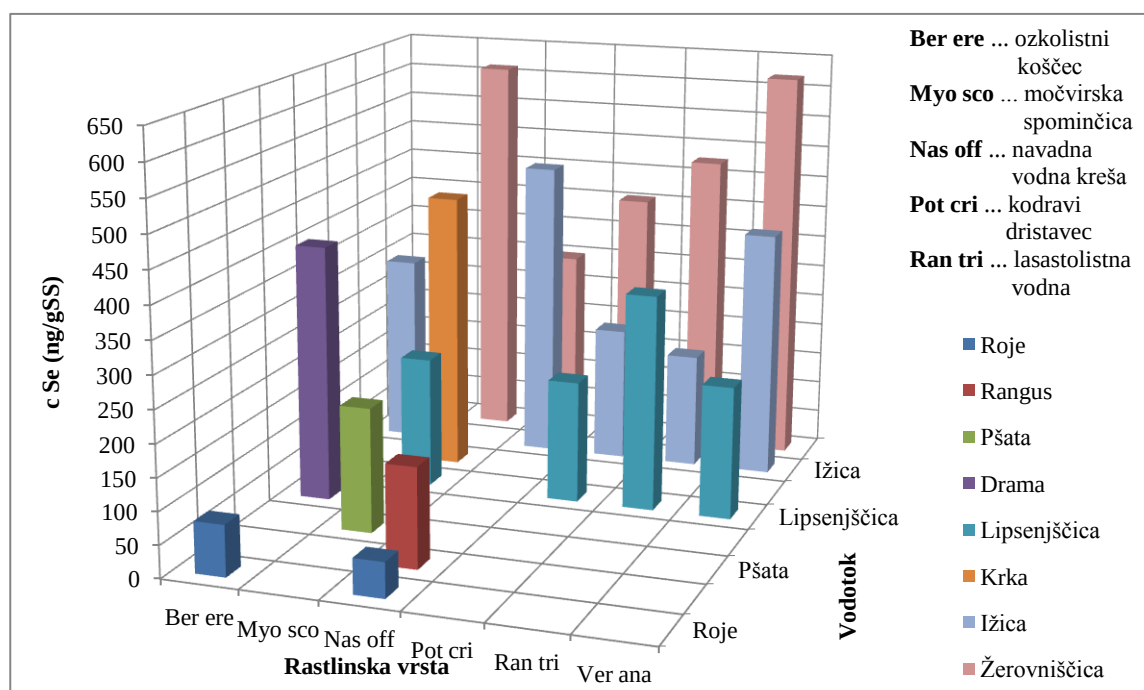
V reki Krki smo našli rastline močvirske spominčice, ki so privzele 438 ± 29 ngSe/gSS, ter rastline navadnega rogolista, ki so privzele manj selen, 325 ± 4 ngSe/gSS.

V potoku v Rojah smo našli dve makrofiski vrsti. Rastline ozkolistnega košca so privzele več selena (79 ± 29 ngSe/gSS) kot rastline navadne vodne kreše (54 ± 4 ngSe/gSS). Povprečni izmerjeni vsebnosti v obeh vrstah sta glede na preostale vodotoke najmanjši.

V potokih pri kmetiji Rangus, ob farmi Ihan ter v Drami smo vzorčili le jeseni in našli rastline navadne vodne kreše (Rangus, 155 ± 5 ngSe/gSS), male vodne leče (Ihan, 287 ± 12 ngSe/gSS) ter ozkolistnega košca (Drama, 402 ± 9 ngSe/gSS).

4.2.3 Izbrani makrofiti privzamejo različne količine selena v različnih vodotokih

Na Sliki 4 smo v 3D obliki prikazali povprečen privzem selena iz dveh vzorčenj (poleti in jeseni) pri izbranih višjih vodnih rastlinah, ki so se pojavile na vsaj treh vodotokih. Tako smo izmed 15 vrst dobili 6 vrst, ki so: ozkolistni košček, močvirska spominčica, navadna vodna kreša, kodravi dristavec, lasastolistna vodna zlatica in vodni jetičnik. Rezultate poletnih in jesenskih meritev smo združili in izračunali povprečje.



Slika 4: Povprečne vsebnosti selena v makrofih, ki se pojavijo na vsaj treh izbranih vodotokih.

Rastline ozkolistnega košca so privzele v potoku v Rojah do 80 ngSe/gSS, v reki Ižici do 300 ngSe/gSS in v potoku pri Drami do 400 ngSe/gSS.

Rastline močvirske spominčice so v reki Pšati privzele do 195 ngSe/gSS, v reki Lipsenjščici do 205 ngSe/gSS, v reki Krki do 440 ngSe/gSS in v reki Žerovniščici do 610 ngSe/gSS.

Rastline navadne vodne kreše so v potoku v Rojah privzele do 55 ngSe/gSS, v potoku pri kmetiji Rangus do 155 ngSe/gSS, v reki Žerovniščici do 300 ngSe/gSS in v reki Ižici do 470 ngSe/gSS.

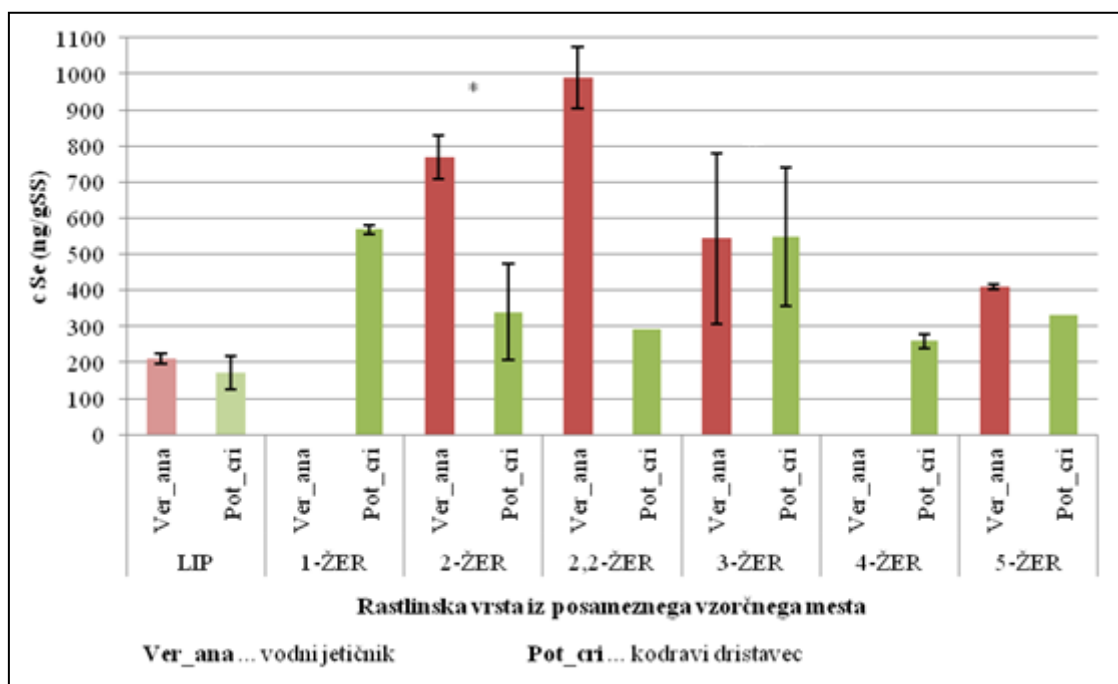
Rastline kodravega dristavca so v reki Lipsenjščici privzele do 190 ngSe/gSS, v reki Ižici do 210 ngSe/gSS in do 405 ngSe/gSS v reki Žerovniščici.

Rastline lasastolistne vodne zlatice so v reki Ižici privzele do 180 ngSe/gSS, v reki Lipsenjščici do 340 ngSe/gSS in v reki Žerovniščici do 475 ngSe/gSS.

Rastline vodnega jetičnika so v reki Lipsenjščici privzele do 210 ngSe/gSS, v reki Ižici do 390 ngSe/gSS in v reki Žerovniščici do 620 ngSe/gSS.

4.2.4 Pri rastlinah se pojavljajo razlike v privzemu selena tudi znotraj izbranega vodotoka

Slika 5 prikazuje primerjavo povprečnega privzema selena pri rastlinah vodnega jetičnika in kodravega dristavca iz šestih vzorčnih mest na reki Žerovniščici. Zraven smo za primerjavo o privzeti količini selena dali še vsebnosti selena pri istih vrstah iz vzorčnega mesta na reki Lipsenjščici.



Slika 5: Primerjava povprečnega privzema selen pri rastlinah vodnega jetičnika in kodravega dristavca iz vzorčnih mest na reki Žerovniščici ter iz vzorčnega mesta na reki Lipsenjščici. Z zvezdico označujemo statistično razliko med vrstama na določeni lokaciji, kjer je $p < 0,05$.

Na mestu 1-Žerovniščica smo v rastlinah kodravega dristavca izmerili 568 ± 13 ngSe/gSS, na mestu 2-Žerovniščica pa 340 ± 133 ngSe/gSS in v rastlinah vodnega jetičnika 769 ± 60 ngSe/gSS. Na sosednjem mestu, 2,2-Žerovniščica, smo v rastlinah vodnega jetičnika izmerili 989 ± 85 ngSe/gSS, v rastlinah kodravega dristavca pa 292 ngSe/gSS. Na mestu 3-Žerovniščica je vzorec rastlin kodravega dristavca vseboval 549 ± 193 ngSe/gSS, vodnega jetičnika pa 543 ± 236 ngSe/gSS. Na mestu 4-Žerovniščica smo v rastlinah kodravega dristavca izmerili 259 ± 18 ngSe/gSS. Na zadnjem mestu, 5-Žerovniščica, smo v rastlinah kodravega dristavca izmerili 332 ngSe/gSS in v rastlinah vodnega jetičnika 410 ± 8 ngSe/gSS.

V reki Lipsenjščici so rastline kodravega dristavca privzele 171 ± 47 ngSe/gSS, rastline vodnega jetičnika pa 210 ± 13 ngSe/gSS.

4.2.5 Vpliv rastne oblike rastline na akumulacijo selena

Slika 6 prikazuje koliko selena so privzele višje vodne rastline določenih rastnih oblik ter koliko alge in mahovi iz vseh izbranih vodotokov v obeh letnih časih (poleti in jeseni).

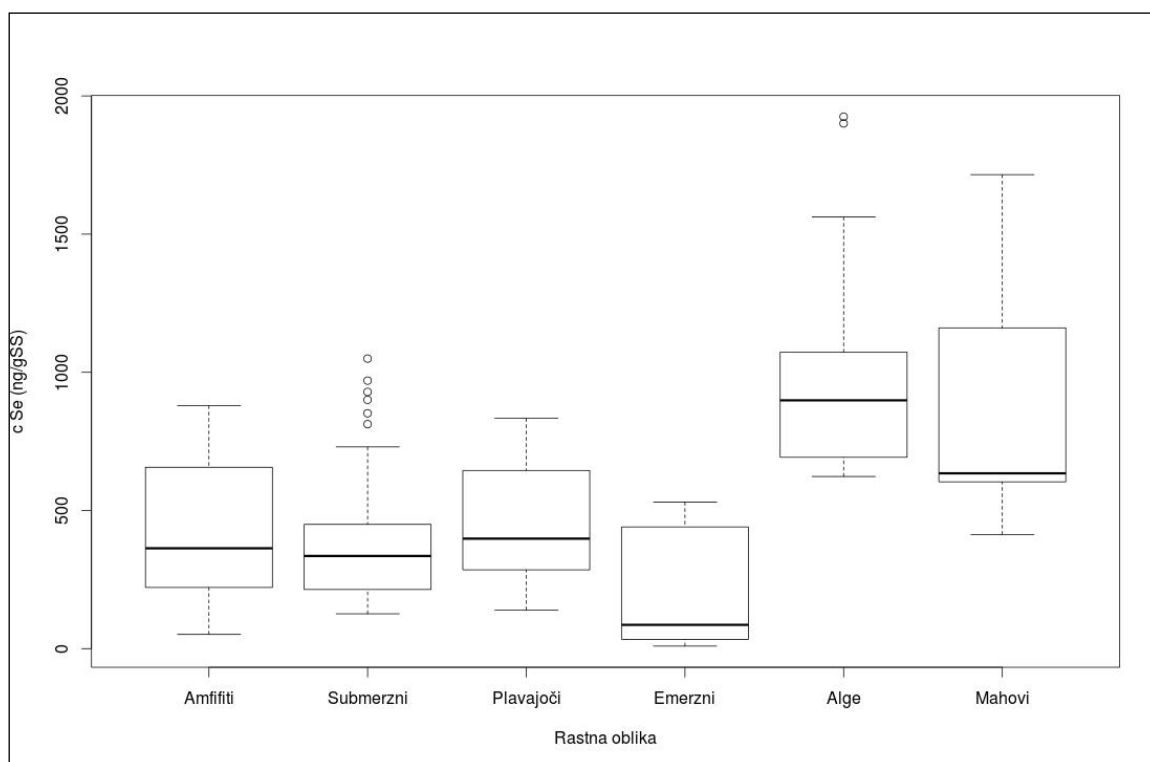
Ozkolistni košček, vodni jetični, močvirska spominčica, navadna vodna kreša in navadna smrečica spadajo med amfifite (amfibijske rastline).

Kodravi dristavec, lasastolistna vodna zlatica, vrsta iz rodu žabji las, navadni rogolist, vodna kuga, klasasti rmanec in plavajoča vodna zlatica spadajo med submerzne (potopljene) makrofite.

Mala vodna leča spada med plavajoče (natantne) makrofite.

Drobnoplodni ježek in vrsta iz rodu ježkov pa spadata med emerzne (močvirske) makrofite ali helofite.

Med alge smo uvrstili vrsti iz rodov *Cladophora* in *Chara*, med mahove pa vrsti *Fontinalis antipyretica* ter *Chiloscyphus polyanthos*.



Slika 6: Vsebnost selen pri različnih rastnih oblikah višjih vodnih rastlinah ter pri algah in mahovih.

V izbranih vodotokih so največ selen privzeli amfifiti, 50–880 ngSe/gSS, plavajoči makrofiti 140–835 ngSe/gSS, potopljeni 125–730 ngSe/gSS in emerzni 9–530 ngSe/gSS.

Alge so v izbranih vodotokih privzele 620–1560 ngSe/gSS, mahovi pa 410–1715 ngSe/gSS.

5. RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Zadnje čase se v svetu povečujeta osveščanje ljudi o čistejšem okolju ter zanimanje o vplivu onesnažil na okolje. Med polutante lahko uvrstimo tudi selen, ki v manjših koncentracijah ugodno vpliva na organizme, v večjih pa je strupen tako za rastline, kot tudi za živali in ljudi (Suarez in sod., 2003; Zhu in sod., 2009). Do kroničnega predoziranja, na primer z uporabo selenovih nadomestkov, lahko pride že z vnosom $400 \mu\text{g Se dan}^{-1}$ (Thomson, 2004). Dnevni vnos Se je odvisen od geografske regije, saj je znano, da je Se neenakomerno razporejen po zemeljskem površju in so posledično različne vsebnosti tudi v gojenih živalih in rastlinah. Za moške je priporočen dnevni vnos med $30\text{--}85 \mu\text{g Se dan}^{-1}$ in za ženske med $30\text{--}70 \mu\text{g Se dan}^{-1}$ (Lenz in Lens, 2009).

Prav zaradi svojega negativnega vpliva na žive organizme je selen postal predmet razprav in raziskovanj mnogih znanstvenikov po svetu. Zato imamo tudi vse več novih spoznanj o njegovem vplivu na organizme, vnosu v okolje in posledično tudi o fitoremediaciji.

V naši raziskavi smo se usmerili na sposobnost privzema selena pri vodnih rastlinah (makrofutih). Zanimale so nas vsebnosti selena v rastlinah in vodi v izbranih slovenskih vodotokih.

Na vseh izbranih vodotokih smo našli 15 vrst višjih rastlin, 5 rodov alg, dve vrsti mahov ter eno vrsto nitaste bakterije. V reki Ižici smo našli 10 vrst višjih rastlin, v reki Žerovniščici 6, v Lipsenjščici 5 ter v reki Pšati tri vrste, dve vrsti v reki Krki ter potoku, ki teče skozi Roje, po eno vrsto pa v potoku ob farmi v Ihanu, v pritoku potoka Curek v Drami in v potoku Kobila pri kmetiji Rangus.

5.1.1 Koncentracije selena v izbranih vodotokih

Pri vseh vzorcih vod smo izmerili manjše koncentracije selena od dovoljene za pitno vodo. V vodovodni vodi iz vodarne Jarški prod (Centralni vodo..., JP VODOVOD-KANALIZACIJA d.o.o.) smo izmerili $0,12 \pm 0,03 \mu\text{gSe/L}$, v Pravilniku o pitni vodi (2004)

pa je mejna vrednosti 10 $\mu\text{gSe/L}$. V vseh izbranih slovenskih vodotokih smo izmerili 0,03–0,23 $\mu\text{gSe/L}$, pri čemer nista vključena vzorca 2,2-Žerovniščica in 3-Pšata, ki sta odpadni (izcedni) vodi.

Izmerjene vsebnosti selena v vzorcih vod nam pokažejo le trenutno stanje koncentracij selena v vodah. Izračunane povprečne koncentracije selena za posamezen vodotok nam pokažejo, da je najmanj selena vseboval potok ob farmi v Ihanu, več pa reka Žerovniščica (brez vzorca 2,2-Žerovniščica), potok Kobila pri kmetiji Rangus, reke Lipsenjščica, Ižica in Pšata (brez vzorca 3-Pšata), odpadna voda iz mesta 2,2-Žerovniščica, reka Krka (pri Otočcu), pritok potoka Curek v Drami in odpadna voda iz mesta 3-Pšata.

Smrekar (2000) je zapisal, da je sama kakovost vode po toku navzdol odvisna od njenih fizikalnih, kemijskih in bioloških lastnosti. Primer, s katerim to lahko potrdimo, je reka Žerovniščica, vzdolž katere je intenzivno pašništvo, poleg tega pa reka teče skozi naselje, kjer kanalizacijsko omrežje ni urejeno in so odpadne vode speljane v greznico (Študija ureditve ..., 2006). Greznične odplake pa lahko predstavljajo nevarnost za onesnaženje vodnih virov. Na reki Žerovniščici smo si izbrali 6 odvzemnih mest, ki so si sledila v smeri toka od 1-, 2-, 2,2-, 3-, 4- do 5-. Od mesta 1-Žerovniščica do mesta 2-Žerovniščica smo se je koncentracija selena v vodi povečala. V izcedni vodi iz cevi na mestu 2,2- smo izmerili največjo koncentracijo Se. Na vseh preostalih dolvodnih mestih so koncentracije selena manjše.

Vzorec 3-Pšata je bil odvzet iz jarka z odpadno kmetijsko vodo, ki je smrdela po gnojnici in je bila temno rjave, skoraj črne barve. Na tem odvzemnem mestu smo poleti izmerili $0,49 \pm 0,02 \mu\text{gSe/L}$ in jeseni $0,39 \pm 0,02 \mu\text{gSe/L}$. Velike koncentracije selena v odpadni vodi so najverjetneje prišle vanjo z živalskimi izločki iz farme, ki je v bližini.

Poletni vzorci iz odvzemnih mest Ihan, Ižica, Lipsenjščica, 2-, 3- in 4-Žerovniščica ter 1-, 2- in 3-Pšata so vsebovali do 50 % več selena kot jesenski. Možnih vzrokov, zakaj so poletni vzorci vsebovale večjo koncentracijo selena kot jesenski, je več: zmanjšanje vodostaja zaradi poletne suše ali porabe vode za namakanje, posledično se skoncentrirajo različne snovi v vodnih telesih, pašništvo in živinoreja na prostem sta poleti intenzivnejša,

z dodajanjem selena v krmo živine pa se ga lahko del izloči v okolje z blatom in urinom. Obilne padavine, ki so pogostejše jeseni, lahko z izpiranjem tal zmanjšajo vsebnost selena v tleh, ali pa razredčijo njegovo koncentracijo v vodnih telesih. Seveda pa so koncentracije selena v vodi v neposredni povezavi s koncentracijami v tleh. Predvidevamo, da koncentracije selena v vodnih telesih povečajo odpadne kmetijske ter kanalizacijske vode (npr. 3-Pšata, 2,2-Žerovniščica), nekaj pa se ga lahko izloči tudi iz matične podlage (npr. kraški izvir Ižice).

5.1.2 Izbrani makrofiti imajo različne sposobnosti privzema selena

Vse izbrane rastline so zelnate trajnice (Martinčič in sod., 2007). Kodravi dristavec in lasastolistna vodna zlatica spadata med potopljene makrofite, kar pomeni, da sta zakoreninjena in v celoti potopljena. Vse preostale vrste uvrščamo med amfifite, ki so zakoreninjene, večina asimilacijskih površin in steblo pa jim lahko segajo nad vodno gladino.

V izbranih vodotokih so največ selena privzele rastline vodnega jetičnika (125–1050 ngSe/gSS), najmanj pa rastline ozkolistnega košca (55–410 ngSe/gSS).

Sklepamo lahko, da rastline, ki privzemajo selen preko koreninskega sistema in preko ostalih asimilacijskih površin, v celoti privzamejo več selena kot rastline, ki selen privzemajo le skozi en organski sistem.

Glede na naše rezultate, ima vodni jetičnik največjo sposobnost privzema Se med preučevanimi rastlinami.

Sama koncentracija selena v tleh je odvisna od vrste matične podlage po kateri teče vodotok, v neposredni povezavi s tem pa so koncentracije Se v vodi (Díaz in sod., 1996). Koncentracije Se v kamninskih podlagah v Sloveniji niso znane. Kunli in sod. (1997) so v karbonatnih skrilavcih (ang. *carbonic slate*) iz Kitajske izmerili koncentracijo selena med 10–20 mg/kg, v apnencu (ang. *limestone*) in laporju (ang. *marl*) okoli 2 mg/kg, v peščenjakih (ang. *sandstones*) 0,05–0,08 mg/kg in v glinenih skrilavcih (ang. *silty slate*)

okoli 1,5 mg/kg. Selen prihaja v vodo s sproščanjem iz kamnin in z raztapljanjem topnih soli v prsti in je običajno v vodi v zelo nizki koncentraciji (Reilly, 1996).

5.1.3 Različni makrofiti privzamejo različne količine selen na istem vodotoku

Na reki Ižici smo našli 10 vrst višjih rastlin. Največ Se so privzele rastline iz rodu žabji las ter plavajoča vodna zlatica (190–945 ngSe/gSS), preostali makrofiti so privzeli manj Se (170–475 ngSe/gSS). V plodovih (oreških) drobnoplodnega ježka smo izmerili 4-krat manjšo vsebnost selen kot v zelenih delih.

Na reki Žerovniščici smo na 6 vzorčnih mestih našli 6 vrst višjih rastlin. Močvirska spominčica in vodni jetičnik sta privzela največ Se (310–930 ngSe/gSS), preostale vrste pa od 15 do 565 ngSe/gSS.

Na reki Lipsenjščici smo našli 5 vrst višjih rastlin. V rastlinah iz rodu žabji las in v lasastolistni vodni zlatici smo izmerili največ Se (200–480 ngSe/gSS), v vodnem jetičniku, močvirski spominčici in kodravemu dristavcu pa 120–190 ngSe/gSS.

V reki Pšati smo na dveh vzorčnih mestih našli tri vrste. V navadni smrečici in klasastem rmancu smo izmerili 200–400 ngSe/gSS, v močvirski spominčici pa $193,97 \pm 3,96$ ngSe/gSS. Mechora in sod. (2011) so v klasastem rmancu iz Bohinjskega jezera izmerili $1,19 \pm 0,2$ µgSe/gSS.

V reki Krki smo našli dve vrsti, v močvirski spominčici znašajo vsebnosti Se 405–470 ngSe/gSS, v navadnem rogolistu pa 325 ± 4 ngSe/gSS. Mechora in sod. (2011) so v navadnem rogolistu iz ribnika v Botaničnem vrtu v Ljubljani izmerili $0,48 \pm 0,01$ µgSe/gSS.

V potoku v Rojah smo prav tako našli le dve vrsti. Ozkolistni košček je privzel 50–100 ngSe/gSS, navadna vodna kreša pa 50–60 ngSe/gSS. Rastline iz tega vzorčnega mesta so privzele manj Se kot rastline iz drugih vzorčnih mest.

V potokih v Ihanu, v potoku Kobila pri kmetiji Rangus ter Drami smo našli le po eno vrsto. Navadna vodna kreša iz potoka Kobila pri kmetiji Rangus je privzela 150–160 ngSe/gS, mala vodna leča iz potoka v Ihanu 275–300 ngSe/gS, ozkolistni košček iz pritoka potoka Curek v Drami pa 390–415 ngSe/gSS.

Podoben privzem selena pri nekaterih vrstah si lahko razlagamo z njihovo rastno obliko. Ker rastline rastejo na istih vzorčnih mestih, lahko predpostavimo, da imajo približno enake rastne razmere. Zato so razlike v privzetih količinah selena odvisne več ali manj le od rastlin samih. Očitno imajo nekatere večjo sposobnost akumulacije neesencialnih elementov, druge pa manjšo. Na samo sposobnost akumulacije lahko vplivajo: starost rastlin (mlade, stare), njihovo fiziološko stanje, dovzetnost za polutante lahko vpliva na njihovo fiziološko stanje, osvetljenost, klimatske razmere, rastna sezona, struktura rečnega dna, hitrost toka vode.

5.1.4 Izbrani makrofiti privzamejo različne količine selena na različnih vodotokih

Za lažjo obdelavo podatkov smo si izbrali 6 vrst višjih vodnih rastlin, ki so se na izbranih vodotokih pojavile najmanj trikrat. Te vrste so: navadni košček, kodravi dristavec, lasastolistna vodna zlatica, vodni jetičnik, močvirska spominčica in navadna vodna kreša. Kodravi dristavec in lasastolistno vodno zlatico uvrščamo med potopljene makrofite, vse preostale pa med amfifite.

Opazimo, da različni makrofiti privzamejo na različnih vodotokih različne količine selena. Največ selena so privzele rastline, ki smo jih našli v reki Žerovniščici, nekoliko manj rastline iz reke Ižice, še manj iz reke Lipsenjščice in najmanj rastline iz potoka pri Rojah.

Razlogov za različen privzem Se pri različnih rastlinah je najverjetneje več in so odvisni od posameznega taksona, tipa zaledja ter same razpoložljivosti selena v substratu, v katerem izbrane rastline rastejo. Večinoma je koncentracija selena v tleh večja kot v vodi. A ker koncentracij Se v rečnem substratu nismo izmerili, tega ne moremo trditi z gotovostjo. Zaledje igra pomembno vlogo zato, ker se lahko v okolici posameznih vodotokov nahajajo

različni viri onesnaževanja. Na primer pri reki Lipsenjščici v zaledju prevladuje poljedelstvo, pri reki Žerovniščici pa živinoreja s pašništvom na prostem.

Povprečne izmerjene vsebnosti selen pri vseh vrstah iz Lipsenjščice so opazno manjše kot pri tistih iz reke Žerovniščice. Verjetno je razlog za to različno zaledje obeh rek. Reka Lipsenjščica teče med travniki, kjer nismo opazili druge oblike kmetijstva kot poljedelstvo. Reka Žerovniščica prav tako teče med travniki, le da smo tu poleg poljedelstva opazili še živinorejo ter pašo živali na prostem. Tako bi lahko bila vir onesnaževanja s selenom reke Žerovniščice kmetijska dejavnost - živinoreja (dodajanje selen v krmo živine).

Reka Ižica ima kraški izvir sredi naselja Ig. Za kraško površje je značilno, da se v podzemlje stekajo vode iz različnih področij, ki se navadno združijo in nekje drugje izbruhnijo na plano (npr. Ižica). Zaradi tega težko rečemo, ali so nekoliko višje koncentracije in vsebnosti selen v reki Ižici naravnega izvora (v višjih koncentracijah prisoten v kamninah in posledično v vodi in rastlinah) ali je selen prišel v naravni sistem s človekovim onesnaževanjem.

5.1.5 Pri rastlinah se pojavljajo razlike v privzemu selen tudi znotraj izbranega vodotoka

Na Žerovniščici smo si izbrali 6 vzorčnih mest, zato nas je zanimalo, ali makrofiti na teh mestih privzamejo različne količine selen. Kodravi dristavec je rasel na vseh šestih mestih.

Na mestu 1-Žerovniščica je bilo dno prodnato in precej poraščeno z različnimi višjimi vodnimi rastlinami ter algami in mahovi. Obrežje je bilo poraščeno z drevesi in grmovjem, voda je bila globoka okoli pol metra in je tekla dokaj počasi. Vodni jetičnik je privzel 410 ± 8 ngSe/gSS, kodravi dristavec pa 333 ± 2 ngSe/gSS. Alge iz rodu *Cladophora* so privzele 1050–1095 ngSe/gSS.

Mesti 2- in 2,2-Žerovniščica sta bili narazen slaba dva metra. Na mestu 2-Žerovniščica je bilo dno prodnato in redkeje poraščeno z makrofith, globina vode se je nekoliko zmanjšala,

tok pa se je povečal. Mesto 2,2-Žerovniščica je bilo v zalivčku na levem bregu, kjer sta bili v reko speljani dve cevi za odpadno vodo. Na desnem bregu je bil pašnik za konje, na levem pa ozek pas trave in dreves ob cesti.

Glede na mesto 1-Žerovniščica se je vsebnost selena v vodnem jetičniku iz mesta 2-Žerovniščica povečala za 42 %, v kodravem dristavcu pa je upadla za 48 %. Alge iz rodu *Cladophora* so privzele 670–790 ngSe/gSS, mah *Chiloscyphus polyanthos* pa 1140–1275 ngSe/gSS.

V kodravem dristavcu in vodnemu jetičniku iz mesta 2,2-Žerovniščica so vsebnosti selena glede na mesto 2-Žerovniščica narasle. V kodravem dristavcu se je vsebnost povečala za 23 %, v vodnem jetičniku pa za 28 %. Alge iz rodu *Cladophora* so privzele 1895–1930 ngSe/gSS.

Na mestu 3-Žerovniščica je reka postala nekoliko plitvejša in je imela hitrejši tok (brzice), dno je bilo bolj poraščeno z makrofiti in algami. Glede na mesto 2,2-Žerovniščica se je vsebnost selena v kodravem dristavcu povečala za 56 %, v vodnem jetičniku pa se je zmanjšala za 61 %. Alge iz rodu *Cladophora* so privzele 640–925 ngSe/gSS, alge iz rodu *Chara* pa 682 ± 11 ngSe/gSS.

Na mestu 4-Žerovniščica, ki je bilo obdano s travniki in njivami, je bilo na dnu že več mulja, samo obrežje je bilo bolj poraščeno z različnimi grmovnicami, tudi močvirskih rastlin je bilo več kot na prejšnjih vzorčnih mestih. Glede na mesto 3-Žerovniščica je vodni jetičnik privzel za 53 % več, kodravi dristavec pa za 35 %. Alge iz rodu *Cladophora* so privzele 1555–1565 ngSe/gSS, mah *Fontinalis antipyretica* pa 960–1020 ngSe/gSS. V porečju ruskih rek Vologda in Kostroma oblasti so Gapeeva in sod. (2010) v mahu *Fontinalis antipyretica* izmerili 0,16–1,43 $\mu\text{gSe/gSS}$, Vázquez in sod. (2007) pa so v enakem mahu iz rek po Španiji izmerili 0,19–1,68 $\mu\text{gSe/gSS}$.

Na mestu 5-Žerovniščica, ki je bilo prav tako obdano s travniki in njivami, je bilo dno reke prekrito z debelejšo plastjo mulja, voda je bila nekoliko globlja in počasnejša. Obrežje je bilo poraščeno s travami, grmovnicami in posameznimi drevesi, nekoliko manj je bilo

močvirskih rastlin in drugih makrofitev. Glede na mesto 4-Žerovniščica se je vsebnost selena v kodravem dristavcu povečala za 37 %. Mah *Chiloscyphus polyanthos* je privzel 1620–1730 ngSe/gSS.

Opazimo, da so se vsebnosti selena v rastlinah iz reke Žerovniščice spreminjale v smeri rečnega toka. V vodnem jetičniku smo izmerili največjo vsebnost Se na mestu 2,2-Žerovniščica, v kodravem dristavcu pa na mestu 3-Žerovniščica. Vzrok za večje vsebnosti selena v rastlinah iz teh dveh mest je verjetno onesnaževanje s komunalnimi odpadki iz kanalizacijski cevi ter samo zaledje (pašniki). To pomeni, da obstaja vir selena, preko katerega se reka onesnažuje (najverjetneje na mestih 2-, 2,2- in 3-), rastline pa nekaj Se privzamejo iz vode in nekaj verjetno tudi iz rečnega dna. Swift (2002) je ugotovil, da se vsebnost selena v rastlinskih tkivih lahko zmanjša, ko se preneha onesnaževanje z njim. To bi za rastline iz Žerovniščice lahko veljalo. Točnega razloga, zakaj so rastline vodnega jetičnika in kodravega dristavca na mestih 4- in/ali 5-Žerovniščica privzele nekoliko več selena, ne vemo. Jasonsmith in sod. (2008) so ugotovili, da lahko detrit vsebuje večje koncentracije selena kot živ rastlinski material, kar pomeni kopičenje Se v usedlinah.

Alge in mahovi iz Žerovniščice so privzeli več selena kot vsi ostali makrofiti, ki smo jih našli v reki Žerovniščici.

5.1.6 Vpliv rastne oblike rastline na akumulacijo selena

V izbranih vodotokih so amfifiti privzeli 50–880 ngSe/gSS. Vsi najdeni amfifiti, ki so bili vsi ukoreninjeni in popolnoma ali delno potopljeni, so privzeli več selena kot višje rastline drugih rastnih oblik. Njihova posebnost je zmožnost prilagoditve na številne okoljske razmere z različnimi rastnimi oblikami, saj lahko razvijejo kopenske in/ali vodne oblike (Trošt Sedej, 2005). Same rastline so najverjetneje večji del selena privzeli iz rečnega dna skozi šopast koreninski sistem, del pa preko potopljenih listov.

Mala vodna leča je edina predstavnik plavajočih makrofitev in je v izbranih vodotokih privzela 140–835 ngSe/gSS. Mala vodna leča ima steblo preobraženo v sploščene stebelne člene (liste pa zakrnele) in ni nikoli zakoreninjena (Martinčič in sod., 2007). Očitno je ves

selen privzela iz vode skozi sploščene stebelne člene in skozi korenine, ki so prosto v vodi. Ta rastlina se pogosto uporablja v terenskih in laboratorijskih ekotoksikoloških raziskavah (Smith in Kwan, 1989).

Kodravi dristavec, lasastolistna vodna zlatica, plavajoča vodna zlatica, vrsta iz rodu žabji las, navadni rogolist, vodna kuga in klasasti rmanec spadajo med submerzne makrofite. V izbranih vodotokih so privzeli 125–730 ngSe/gSS. Izmed sedmih vrst najdenih potopljenih makrofitov le ena ni bila zakoreninjena (navadni rogolist). Vsi submerzni makrofiti imajo značilne potopljene liste, ki so največkrat trakasti, lasasti ali pa drobno razcepljeni. Prednost takšnih listov je v povečanem razmerju med njihovo površino in prostornino, kar omogoča učinkovitejše sprejemanje in izmenjavo plinov, hranil in vode, sama absorpcija snovi pa poteka tudi preko celotne površine rastline (Wu in Guo, 2000).

Séverine in sod. (2011) trdijo, da potopljene, prostoplavajoče in zakoreninjene rastline, kot je na primer žabji las, lahko akumulirajo več težkih kovin kot na primer loček, ki je ukoreninjen, a ni v celoti potopljen. S to ugotovitvijo se glede Se skladajo tudi naši rezultati.

V izbranih vodotokih smo našli rastline iz rodu ježkov, ki jih uvrščamo med emerzne makrofite. Privzele so 9–530 ngSe/gSS. Te rastline imajo večji del stebela in asimilacijskih površin nad vodno gladino, korenine pa v vodi. Ob podrobnejšem pregledu Preglednic 5 in 6 lahko opazimo, da so vrste iz rodu ježek na mestu 4-Žerovniščica poleti in jeseni privzele manj selena kot pa so ga jeseni na mestu 5-Žerovniščica (poleti tu nismo vzorčili). Najverjetneje gre za vpliv podlage oziroma za samo razpoložljivost selena, sama starost rastlin pa verjetno pri tem nima tolikšnega pomena.

Na Sliki 6 so grafično predstavljene še vsebnosti selena za alge in mahove. Med alge smo uvrstili vrste iz rodov *Cladophora* in *Chara*, med mahove pa vrsti *Fontinalis antipyretica* in *Chiloscyphus polyanthos*. Parožnice in mahovi imajo razvite rizoidne, s katerimi so pritrjeni in skozi katere lahko črpajo hranila iz podlage. Hranila pa lahko sprejemajo tudi skozi preostalo površino rastline. V izbranih vodotokih so alge privzele 620–1560 ngSe/gSS, mahovi pa 410–1715 ngSe/gSS.

Za alge je značilna hitrejša rast kot za mahove, a se vseeno lahko obe vrsti bujno razrasteta. Poleg tega večina alg in mahov pozimi raste, medtem ko za večino višjih rastlin to obdobje ni primerno za rast in večinoma odmrejo. Več steljk alg in mahov pogosto raste tesno skupaj v nekakšnih gručah ali preprogah. V takšnih strukturnih oblikah se vodni tok nekoliko zmanjša, poveča se usedanje delcev, same rastline pa lahko preko tankih asimilacijskih površin lažje črpajo in izmenjujejo različne snovi. Morda jim vse to omogoča, da akumulirajo več snovi (tudi selena) in se posledično lahko tudi bolj razrastejo.

Kasneje smo pri obdelavi rezultatov in med samo razpravo ugotovili, da bi lahko naše delo izboljšali tako, da bi si na izbranih vodotokih izbrali več vzorčnih mest, saj bi tako lahko sledili spreminjanju koncentracije selena v vodi in vsebnostim v makrofitih. Pomagalo bi nam tudi, če bi imeli znane koncentracije selena v tleh oziroma v našem primeru v rečnih dnéh, saj bi le tako lahko izvedeli, ali katera rastlinska vrsta privzame več selena iz tal ali iz vode.

5.2 SKLEPI

V izbranih slovenskih vodotokih smo izmerili 0,03–0,23 $\mu\text{gSe/L}$, v odpadnih vodah iz mest 2,2-Žerovniščica in 3-Pšata pa 0,17–0,51 $\mu\text{gSe/L}$. V večini poletnih vzorcev vod smo izmerili do 50 % večje koncentracije selena kot v jesenskih vzorcih. Najmanj selena smo izmerili v potoku ob farmi v Ihanu, več pa v reki Žerovniščici, v potoku Kobila pri kmetiji Rangus, v rekah Lipsenjščica, Ižica in Pšata, v odpadni vodi iz mesta 2,2-Žerovniščica, v reki Krki in pritoku potoka Curek v Drami ter največ v odpadni vodi iz mesta 3-Pšata.

Rastna oblika vpliva na privzem selena, saj so največ selena privzeli amfifiti, nekoliko manj plavajoči makrofiti, še manj potopljeni in najmanj emerzni makrofiti.

Alge iz rodov *Cladophora* in *Chara* ter maha vrst *Fontinalis antipyretica* in *Chiloscyphus polyanthos* so v vseh vodotokih, kjer so se pojavili, privzeli več selena kot višje vodne rastline. Razlog za to je verjetno v njihovih anatomskih, morfoloških in fizioloških posebnostih in prilagoditvah.

Različni makrofiti so sposobni privzeti različne količine selena.

Različni makrofiti privzamejo različne količine selena na istem vodotoku. Razlogi za to so: različna sposobnost privzema selena iz medija, fiziološko stanje rastlin, starost rastlin (mlade, stare).

V reki Žerovniščici so se vsebnosti in koncentracije selena spreminjale tako v rastlinah kot v sami vodi v smeri rečnega toka. To pomeni, da obstaja vir selena, preko katerega se reka onesnažuje (najverjetneje na mestih 2-, 2,2- in 3-). Tako so bile na mestu, kjer se začne onesnaževanje, vrednosti največje in so se zmanjšale dolvodno. Seveda ne smemo pozabiti, da ima vodotok tudi samočistilno sposobnost, ki jo omogočajo življenjska združba in različne snovi.

Makrofiti iste vrste so v različnih vodotokih privzeli različne količine selena. Verjetni razlog za to je matična podlaga, po kateri teče nek vodotok, kmetijska dejavnost v zaledju vodotoka (pašništvo, živinoreja, poljedelstvo).

6. POVZETEK

Makrofiti so vse makroskopsko vidne vodne rastline, ki so za uspešno rast v vodnem okolju razvile nekatere posebne anatomske in morfološke prilagoditve. V vodnem ekosistemu služijo kot primarni proizvajalci kisika, mnogim organizmom služijo kot vir hrane, mnogim pa nudijo zaščito ter življenjski prostor, vplivajo na hitrost vodnega toka, vključeni so v procese biološke filtracije in bioremediacije.

Dandanes so vsa vodna okolja bolj ali manj podvržena raznim načinom onesnaževanja – od biološkega do kemijskega. Tako lahko v vodah najdemo tudi višje koncentracije selen, ki so lahko naravnega izvora (pronicanje iz matične podlage, vulkanski izbruhi, ...) ali pa antropogenega (uporaba v živilnoredi in poljedelstvu, industrija, rudarstvo, ...). Selen je kemijski element, ki je znan po dvoreznem delovanju, saj v majhnih koncentracijah deluje na organizme ugodno, v visokih koncentracijah pa je toksičen tako za rastline, kot za živali in ljudi.

Namen našega dela je bil ugotoviti, koliko selen lahko privzamejo makrofiti na izbranih slovenskih vodotokih, ali ga katere vrste privzamejo več ter v kakšnih koncentracijah se pojavlja v izbranih vodotokih.

Delo smo začeli z zbiranjem vzorcev rastlin in vod na devetih vodotokih na Dolenjskem in Notranjskem. V letu 2009 smo opravili tri terenska vzorčenja – prvo 16. aprila, drugo 27. julija, tretje pa 15. in 16. oktobra. V reki Žerovniščici smo si izbrali 6 vzorčnih mest, ki so si sledila po toku navzdol od 1-, 2-, 2,2-, 3-, 4- do 5-, našli pa smo 6 vrst višjih rastlin, v reki Ižici smo našli 10 vrst, v reki Lipsenjščici 5, v reki Pšati smo na vzorčnih mestih 1-, 2- Pšata našli 3 vrste, na mestu 3-Pšata (odcedni jarek, ki ni bil povezan s samo reko) smo odvzeli le vzorec vode, v reki Krki pri Otočcu ter v potoku v Rojah smo našli po dve vrsti, le po eno vrsto smo našli v potok ob farmi v Ihanu, v pritoku potoka Curka pri Drami ter v potoku Kobilica pri kmetiji Rangus.

Vzorci smo prinesli na Institut Jožef Stefan, na Odsek za znanosti o okolju, in jih očistili. Rastlinske vzorce smo nato posušili v liofilizatorju ter zmleli v ahatnem mlinčku. Vzorce

vod smo prefiltrirali, jim dodali 0,5 ml konc. HNO_3 ter jih do uporabe shranili v hladilniku. Pred samim merjenjem vsebnosti oz. koncentracij seleni v vzorcih, smo opravili celokupni razkroj vzorcev in nato redukcijo. Kot referenčni material smo uporabili Spinach Leaves, NIST 1570a, s certificirano vsebnostjo seleni. Standardne raztopine, ki so bile v enakem kislinem mediju kot vzorci, smo pripravljali iz natrijevega selenata (Na_2SeO_4). Tedensko smo pripravljali delovne raztopine s koncentracijo 100 ngSe/g, dnevno pa raztopine z nižjimi koncentracijami seleni. Meritve smo opravljali s pretočnim sistemom HG-AFS. Ker smo v vodah izmerili nizke koncentracije seleni, smo meritve opravili še z ICP-MS metodo, pri kateri je meja zaznavnosti nižja.

Najdene makrofite smo razdelili na 4 rastne oblike. Največ seleni so privzele amfibijske rastline (50–880 ngSe/gSS), plavajoči makrofiti (140–835 ngSe/gSS), potopljeni makrofiti (125–730 ngSe/gSS) in najmanj močvirske rastline (9–530 ngSe/gSS). Alge, ki smo jih našli na izbranih vodotokih, so privzele 620–1560 ngSe/gSS, mahovi pa 410–1715 ngSe/gSS.

Makrofiti iste vrste privzemajo na različnih vzorčnih mestih različne količine seleni. Verjetni razlog za to je vpliv matične podlage po kateri teče določen vodotok, saj so koncentracije v vodi v neposredni povezavi s koncentracijami v tleh in tudi zaledje, po katerem teče potok. Pri tem pa lahko ukoreninjeni makrofiti absorbirajo hranila iz rečnih sedimentov in/ali vode.

Različni makrofiti privzamejo različne količine seleni na istem vodotoku. Razlogi za to so: različne sposobnosti privzema seleni iz okoliškega medija pri različnih vrstah, samo fiziološko stanje rastlin, starost rastlin (mlade, stare), osvetljenost rastlin, dovzetnost rastlin za polutante lahko vpliva na njihovo fiziološko stanje.

V izbranih slovenskih vodotokih smo izmerili 0,03–0,21 $\mu\text{gSe/L}$, v dveh odpadnih vodah pa 0,17–0,51 $\mu\text{gSe/L}$. V večini poletnih vzorcev vod smo izmerili za do 50 % večje koncentracije seleni kot v jesenskih vzorcih.

7. LITERATURA

Agrawal, K., Patel, K. S., Shrivastava, K. 2009. Development of surfactant assisted spectrophotometric method for determination of selenium in waste water samples. *Journal of Hazardous Materials*, 161: 1245–1249

Ambrožič, Š., Cvitanich, I., Dobnikar Tehovnik, M., Gacin, M., Grbovič, J., Jesenovec, B., Kozak Legiša, Š., Krajnc, M., Mihorko, P., Poje, M., Remec Rekar, Š., Rotar, B., Sodja, E. 2008. Kakovost voda v Sloveniji. Agencija RS za okolje.
<http://www.arso.gov.si/vode/poro%C4%8Dila%20in%20publikacije/kakovost%20voda/Kakovost%20voda-SLO.pdf> (11. 1. 2011)

Atherton, I., Bosanquet, S., Lawley, M. 2010. Mosses and Liverworts of Britain and Ireland. A field guide. British Bryological Society: 856 str.

- a) <http://www.bbsfieldguide.org.uk/content/fontinalis-antipyretica> (23. 2. 2011)
- b) <http://www.bbsfieldguide.org.uk/content/chiloscyphus-polyanthospallesens> (23. 2. 2011)

Baker, A. J. M., Brooks, R. R. 1989. Terrestrial higher plants which accumulate metallic elements – a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1: 81–126

Baudo, R., Galanti, G., Guilizzoni, P., Varini, P. 1981. Relationship between heavy metals and aquatic organism in lake Mezzola hydrographic system (Northern Italy), 4. Metal concentration in six submerged aquatic macrophytes. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.* 39: 203–225

Boyd, C. E. 1970. Production, mineral nutrient accumulation and pigment concentration in *Typha latifolia* and *Scripus americanus*. *Ecology*, 51: 285–290

Brenčič, J., Lazarini, F. 1995. Splošna in anorganska kemija. Ljubljana, DZS: 220 str.

Bruns, I., Friese, K., Markert, B., Krauss, G.-j. 1997. The use of *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. as a bioindicator for heavy metals. 2. Heavy metal accumulation on physiological reaction of *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. in active biomonitoring in the River Elbe. The Science of the Total Environment, 204: 161–176

Brown, T. A., Shrift, A. 1982. Selenium: Toxicity and tolerance in higher plants. Biological Reviews, 57 (1): 59–84

Buser, S. 2009. Geološka karta Slovenije 1:250.000 (*Geological Map of Slovenia 1:250.000*). Geološki zavod Slovenije, Ljubljana

Centralni vodo..., JP VODOVOD-KANALIZACIJA d.o.o. (30. 10. 2012)
<http://www.jh-lj.si/vo-ka/informacije/kaksno-vodo-pijemo/centralni%20vodovod> (30. 10. 2012)

Chen, T., Zheng, W., Yang, F., Bai, Y., Wong, Y-S. 2006. Mixotrophic culture of high selenium-enriched *Spirulina platensis* on acetate and the enhanced production of photosynthetic pigments. Enzyme and Microbial Technology, 39: 103–107

Combs, Jr. G. F. 2001. Selenium in global food System. British Journal of Nutrition, 85: 517–547.

Cvitanič, I., Dobnikar Tehovnik, M., Gacin, M., Grbović, J., Jesenovec, B., Kozak - Legiša, Š., Krajnc, M., Kuhar, U., Mihorko, P., Poje, M., Remec - Rekar, Š., Rotar, B., Sever, M., Sodja, E. 2010. Ocena ekološkega in kemijskega stanja voda v Sloveniji za obdobje 2006 do 2008. Ministrstvo za okolje in prostor Republike Slovenije, Agencija RS za okolje.

<http://www.arso.gov.si/vode/poro%C4%8Dila%20in%20publikacije/kakovost%20voda/Ocena%20stanja%20voda%2020062008.pdf> (13. 1. 2012)

Dhillon, K. S., Dhillon, S. K. 2003. Distribution and management of seleniferous soils. Advances in Agronomy, 79: 119–184

Díaz, J. P., Navarro, M., López, H., López, M. C. 1996. Selenium (IV) and (VI) levels in potable, irrigation and waste waters from an industrial zone in southeastern Spain. *The Science of the Total Environment*, 186 (1996): 231–236

Foster, L. H., Sumar, S. 1995. Selenium in the environment, food and health. *Nutrition & Food Science*, 5: 17–23

Fournier, E., Adam-Guillermin, C., Potin-Gaztner, M., Pannier, F. 2010. Selenate bioaccumulation and toxicity in *Chlamydomonas reinhardtii*: influence of ambient sulphate ion concentration. *Aquatic Toxicology*, 97: 51–57

Galeas, M., Zhang, L. H., Freeman, J. L., Wegner, M., Pilon-Smits, E. A. H. 2007. Seasonal fluctuations of selenium and sulfur accumulation in selenium hyperaccumulators and related nonaccumulators. *New Phytologist*, 173: 517–525

Gapeeva, M. V., Dolotoc, A. V., Chemeris, E. V. 2010. Prospects of using mosses (*Fontinalis antipyretica* Hedw. and *Phylaisia polyantha* (Hedw.) Bruch et al.) as indicators of environmental contamination with heavy metals. *Russian Journal of Ecology*, 41: 28–31

Germ, M., Stibilj, V., Kreft, I. 2007. Metabolic Importance of Selenium for Plants. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 1(1): 91–97

Gupta, U. C., Winter, K. A. 1975. Selenium content of soils and crops and the effect of lime and sulfur on plant selenium. *Can. J. Soil Sci.*, 55: 161–166

Hartikainen, H., Xue, T. 1999. The promotive effect of selenium on plant growth as triggered by ultraviolet irradiation. *Journal of Environmental Quality*, 28: 1272–1275

Heider, J., Baron, C. in Böck, A. 1992. Coding from a distance: dissection of the mRNA determinants required for the incorporation of selenocysteine into protein. *EMBO Journal*, 11: 3759–3766.

Hutchinson, G. E. 1975. A treatise on Limnology. Volume III. Limnological Botany. New York, John Wiley & Sons: 660 str.

Janauer, G. 2002. MIDCC. Multifunctional Integrated Study Danube Corridor and Catchment. Guidance in the Assessment of Aquatic Macrophytes in the River Danube, in Water Bodies of the Fluvial Corridor, and in its Tributaries.

<http://www.midcc.at/> (11. 6. 2012)

Janauer, G. A. 2001. Is what has been measured of any direct relevance to the success of the macrophyte in its particular environment? Scientific and legal aspects of biological monitoring in freshwater, J. Limnol., 60 (I): 33–38

Jasonsmith, J. F., Maher, W., Roach, A. C. in Krikowa F. 2008. Selenium bioaccumulation and biomagnification in Lake Wallace, New South Wales, Australia. Marine and Freshwater Research, 59: 1048–1060

Jogan, N., Kotarac, M. in Lešnik, A. 2004. Opredelitev območij evropsko pomembnih negozdnih habitatnih tipov s pomočjo razširjenosti značilnih rastlinskih vrst [končno poročilo].

http://www.ckff.si/dokumenti/n2k/509_555.pdf (13. 1. 2011)

Kahakachchi, C., Boakye, H. T., Uden, P. C. Tyson, J. F. 2004. Chromatographic speciation of anionic and neutral selenium compound in Se-accumulating Brassica juncea (Indian mustard) and in selenized yeast. Journal of Chromatography A, 1054 (2004) 303–312

Krajinovič, M. 1983. Sadržaj selenata u zemljištima i hranivima iz različitih regiona Jugoslavije te njegovo usvajanje kod jagnjadi. Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, VTOZD za živinorejo: 78 str.

Kunli, L., Lidong, Y., Qi, Z., Lingmei, G. 1997. Distributing Pattern of Iodine and Selenium in the Daba Mountain Area, Shaanxi, P. R. China. *Environmental Geology: Proceedings of the 30th International Geological Congress*, vol. 24: 218–228

Läuchli, A. 1993. Selenium in plants: uptake, functions, and environmental toxicity. *Botanica Acta*, 106: 455–468

Lenz, M., Lens, P. N. L. 2009. The essential toxin: The changing perception of selenium in environmental sciences. *Science of the total environment*, 407: 3620–3633

Lee, B. J., Worland, P. J., Davis, J. N., *et al.* 1989. Identification of a selenocysteyl-tRNA^{Ser} in mammalian cells that recognises the nonsense codon, UGA. *Journal of Biological Chemistry*, 264: 9724–9727

Li, H. F., McGrath, S. P., Zhao, F. J. 2008. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist*, 178 (1): 92–102

Lin, Z.-Q., Cervinka, V., Pickering, I. J., Zayed, A., Terry, N. 2002. Managing selenium-contaminated agricultural drainage water by the integrated on-farm drainage management system role of selenium volatilization. *Water Research*, 36 (12): 3150–3160

Martinčič, A., Wraber, T., Jogan, N., Podobnik, A., Turk, B., Vreš, B., Ravnik, V., Frajman, B., Strgulc Krajšek, S., Trčak, B., Bačič, T., Fischer, M.A., Eler, K., Surina, B. 2007. *Mala flora Slovenije: ključ za določevanje praprotnic in semenk*. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 967 str.

Marschner, H. 2002. *Mineral nutrition of higher plants*. 6th edition. Amsterdam, Boston, London, Academic Press: 887 str.

Mechora, Š., Cuderman, P., Stibilj, V., Germ, M. 2011. Distribution of Se and its species in *Myriophyllum spicatum* and *Ceratophyllum demersum* growing in water containing Se (VI). *Chemosphere*, 84: 1636–1641

Mildred E. Mathias Botanical Garden. University of California, Los Angeles. Aquatic plants. (16. 6. 2011)

<http://www.botgard.ucla.edu/html/botanytextbooks/lifeforms/aquaticplants/fulltextonly.html> (30. 9. 2011)

Ng, B. H. in Anderson, J. W. 1987. Synthesis of selenocysteine by cysteine synthase from selenium accumulator and non-accumulator plants. *Phytochemistry*, 17: 2069-2074

Odpadne vode – kakovost voda v vodotokih. 2007.

http://www.evon.si/Download/VodnaKnjiga/VK_9_Kakovost_voda_v_vodotokih.pdf (12. 3. 2011)

Pellegrin, V., Juretschko, S., Wagner, M. in Cottenceau, G., 1999. Morphological and Biochemical Properties of a *Sphaerotilus* sp. Isolated From Paper Mill Slimes. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (1): 156–162

Petek, I., Pinter, U., Ferjančič, Š., Plečnik, M., Nartnik, M., Pivk, G., Gradišar, R., Mlinar, S., Merkuža, M., Šabec, L., Macarol, B., Buda, K. 2006. Študija ureditve I. faze odvajanja in čiščenja komunalne odpadne in padavinske vode na območju povodja srednje in zgornje Ljubljane.

http://www.kp-logatec.si/pdf/studija_obcin.pdf (2. 5. 2012)

Pirc, S., Šajn, R. 1997. Vloga geologije v ugotavljanju kemične obremenitve okolja. Projekt Evropskega leta varstva narave 1995: Kemizacija okolja in življenja – do katere meje. Ljubljana, Slovensko ekološko društvo: 165–185

Pitna voda. 2011. Zavod za zdravstveno varstvo Ljubljana.

<http://www.zzv-lj.si/higiena-in-zdravstvena-ekologija/pitna-voda> (24. 8. 2011)

Poročilo o kakovosti jezer za leto 2005. 2006. Ministrstvo za okolje in prostor, ARSO.

http://www.arso.gov.si/vode/jezera/jezera_2005.pdf (14. 4. 2012)

Poročilo o kakovosti jezer za leto 2006. 2007. Ministrstvo za okolje in prostor, ARSO.
http://www.arso.gov.si/vode/jezera/porocilo_jezera2006.pdf (14. 4. 2012)

Pravilnik o pitni vodi, Uradni list RS, št. 19/2004. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano (Ur.l. RS, št. 35/2004, 26/2006, 92/2006 in 25/2009).
http://zakonodaja.gov.si/rpsi/r03/predpis_PRAV3713.html (12. 3. 2011)

Pravilnik o zdravstveni ustreznosti krme, Uradni list RS, št. 20/1996. Ministrstvo za kmetijstvo in prostor.
<http://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?urlid=199620&stevilka=1147> (12. 3. 2011)

Prilagoditve vodnih rastlin. 2010. Prirodoslovno društvo Slovenije.
<http://www.proteus.si/?q=node/58> (31. 5. 2011)

Rascio, N., Navari-Izzo, F. 2010. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science* 180: 169–181

Reilly, C. 1996. *Selenium in Food and Health*. 1st edition. Blackie Academic & Professional, 338 str.

Roy, G., Kanta Sarma, B., Phadnis, P. P., Mugesh, G. 2005. Selenium-containing enzymes in mammals: Chemical perspectives. *Journal of Chemical Sciences*, 117 (4): 287–303

Samecka-Cymerman, A., Kempers, A. J. 1996. Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macrophytes around Wrocław, Poland. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35 (3): 242–247

Schwartz, K., Foltz, C. M. 1957. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *Journal of the American Chemical Society*, 79: 3292–3293

Séverine, L., El-Mufleh, A., Gérente, C., Chazarenc, F., Andrès, Y., Béchet, B. 2011. Potential of Aquatic Macrophytes as Bioindicators of Heavy Metal Pollution in Urban Stormwater Runoff. *Water, Air & Soil Pollution*, 223: 877–888

Shardendu, S., Salhani, N., Boulyga, S. F., Stengel, E. 2003. Phytoremediation of selenium by two helophyte species in subsurface flow constructed wetland. *Chemosphere*, 50: 967–973

Singh, M., Singh, N., Relan, P. S. 1981. Adsorption and Desorption of Selenite and Selenate Selenium on Different Soils. *Soil Science*, 132 (2): 134–141

Smith, S., Kwan, M. K., H. 1989. Use of aquatic macrophytes as a bioassay method to assess relative toxicity, uptake kinetics and accumulated forms of trace metals. *Hydrobiologia*, 188/183: 345–351

Smrekar, A. A. 2000. Cerkniško polje kot primer poseljenega kraškega ranljivega območja. *Geographica Slovenica*, 33/I: 117–156

Smrkolj, P. 2003. Ugotavljanje selenia in njegove porazdelitve v izbranih živilih z metodo hidridne tehnike atomske fluorescenčne spektrometrije. Magistrsko delo. Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 117 str.

Smrkolj, P., Stibilj, V. 2004. Determination of selenium in vegetables by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 512: 11–17

Strokovne podlage za Strategijo prostorskega razvoja Občine Šentjernej, I. Analiza stanja in teženj v prostoru, 2005, Topos d.o.o.

http://www.sentjernejsi.si/gradiva/dokumentacija/prostorski_razvoj/2008/opn_08/3_PRILOGE/priloga_3/SP_strateske_podlage/SP_generalni_tekst_koncept.pdf (11. 1. 2011)

Suarez, D. L., Grieve, C. M., Poss, J. A. 2003. Irrigation method affects selenium accumulation in forage *Brassica* species. *Journal of Plant Nutrition* 26 (1): 191–201

Swift, M. C. 2002. Stream ecosystem response to, and recovery from, experimental exposure to selenium. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 9: 159–184

Terry, N., Zayed, A. M., de Souza, M. P., Tarun, A. S. 2000. Selenium in higher plants. *Annual Review on Plant Physiology and Molecular Biology*, 51: 401–432

Thomson, C. D. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58: 391–402

Trošt Sedej, T. 2005. *Ekologija rastlin: priročnik za vaje*. Ljubljana, Študentska založba: 81 str.

Turner, R. J. in Finch J. M. 1991. Selenium and the immune response. *Proceedings of the Nutrition Society*, 50: 275–285

Vardanyan, L. G., Ingole, B. S. 2006. Studies in heavy metal accumulation in aquatic macrophytes from Sevan (Armenia) and Carambolim (India) lake system. *Environment International*, 32: 208–218

Vázquez, M. D., Fernández, J. Á., Real, C., Villares, R., Aboal, J. R., Carballeira, A. 2007. Design of an aquatic biomonitoring network for an environmental specimen bank. *Science of the Total Environment*, 388: 357–371

Vogrinčič, M. 2008. Razporeditev selena v navadni ajdi (*Fagopyrum esculentum* Moench). Diplomsko delo, Ljubljana, Univerza v Ljubljani

Vičar, Z. 2002. Program pretvarja GAUSS-KRUGERJEVE KOORDINATE v geografske koordinate (načeloma na cm natančno ali na 1/10000 loč. sek.).
<http://www2.arnes.si/~gljsentvid10/krugeoz3.htm> (10. 6. 2012)

Vrhovšek, D. 1985. *Sladkovodne alge – ali jih poznamo?* Ljubljana, DZS: 117 str.

VODNA DIREKTIVA EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA 2000/60/EC z dne 23. oktobra 2000 o določitvi okvira za ukrepe Skupnosti na področju vodne politike. 2009. Bruselj, 77 str.

Wikipedia, Lipsenjščica (5. 3. 2010)

<http://sl.wikipedia.org/wiki/Lipsenj%C5%A1%C4%8Dica> (11. 1. 2011)

Wikipedia, Pšata (7. 6. 2011)

<http://sl.wikipedia.org/wiki/P%C5%A1ata> (11. 1. 2011)

Wikipedia, Žerovniščica (14. 8. 2010)

<http://sl.wikipedia.org/wiki/%C5%BDerovni%C5%A1%C4%8Dica> (11. 1. 2011)

Wu, L. in Guo, X. 2000. Selenium Accumulation in Submerged Aquatic Macrophytes *Potamogeton pectinatus* L. and *Ruppia maritima* L. from Water with Elevated Chloride and Sulfate Salinity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51: 22–27

Zhao, C., Ren, J., Xue, C., Lin, E. 2005. Study on the relationship between soil selenium and plant selenium uptake. *Plant and Soil*, 277: 197–206

Zhu, Y.-G., Pilon-Smits, E. A. H., Zhao, F.-J., Williams, P. N., Meharg, A. A. 2009. Selenium in higher plants: understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation. *Trends in Plant Science*, 14/8: 436–442

Žnidarčič, D. 2011. Selen in njegove zvrsti v okolju. *Acta agriculturae Slovenica*, 97/1: 73–83

ZAHVALA

Ob zaključku študija se želim zahvaliti vsem, ki ste me spremljali na tej poti in mi pri tem polepšali in olajšali potovanje.

Mentorici, doc. dr. Mateji Germ, sem hvaležna za priložnost obdelave izbrane tematike ter za vse vzpodbudne besede, ki so me hrabrile od začetka do konca.

Somentorici, prof. dr. Vekoslavi Stibilj, se zahvaljujem za zanimivo in nepozabno delo na Institutu Jožef Stefan ter za vso pomoč, pridobljena znanja in izkušnje.

Posebna zahvala gre moji družini, ki me je tekom študija podpirala, svetovala in mi vselej stala ob strani.

Fantu Mateju in njegovi družini sem prav tako hvaležna za podporo in vzpodbudo, ki ste mi jo nudili vse do zaključku študija.

PRILOGE

Priloga A: Rezultati preliminarnih raziskav iz leta 2008.

datum vzorčenja	oznaka vzorca		*POVP (ngSe/L)	*STDEV (ngSe/L)		POVP (ngSe/gSS)	STDEV (ngSe/gSS)	
14.3.2008	Ihan	Voda	0,23		Rastlinska vrsta	<i>Spirogyra</i> sp.	269	5
	Ihan-dno		0,27	0,03		<i>Cladophora</i> sp.	363	7
	Pšata		0,91	0,01		<i>F. antipyretica</i>	785	82
							<i>P. arundinacea</i>	61
23.4.2008	Ig		0,05					
			0,09	0,02				
	Ig **		0,17			<i>Tribonema</i> sp.	533	38
	Ig ***		0,14	0,01		<i>F. antipyretica</i>	749	19
	Lipe		0,17	0,01				
			0,36	0,01				
	Lipe **		0,15	0,01		<i>Tribonema</i> sp.	682	4
			0,70	0,01				
	Pitna voda		0,01			<i>Spirogyra</i> sp.		
25.10.2008	Dolenje Vrhpolje		0,02			mah	374	3
	Drama		0,40					
			0,03	0,02				
	Roje		0,03					
	Otočec		0,16	0,04				
	Otočec		0,05	0,01				
							<i>C. demersum</i>	381
	kmetija Rangus		0,13	0,03				

*POVP – povprečje, STDEV – standardni odklik

**voda, v kateri so bile alge

***voda, v kateri je bil mah

Priloga B: Povprečne vsebnosti selena (ng/gSS) v makrofilih in združenih različnih vrstah, ki smo jih vzorčili 16. 4. 2009.

oznaka vzorca		*POVP (ngSe/L)	*STDEV (ngSe/L)			POVP (ngSe/gSS)	STDEV (ngSe/gSS)
I-Žerovniščica	Voda	0,05		Rastlinska vrsta			
II-Žerovniščica		0,24			mah, <i>M. scorpioides</i>	1456	83
III-Žerovniščica		0,30	0,04		<i>Cladophora</i> sp. <i>P. crispus</i>	3706	294
					<i>V. anagallis-aquatica</i>	1245	3
IV-Žerovniščica		0,04	0,01				
V-Žerovniščica		0,03	0,01		<i>Cladophora</i> sp.	721	16
VI-Žerovniščica		0,10			<i>R. hydrolapathum</i>	471	30
					<i>Cladophora</i> sp.	2737	644
VII-Žerovniščica		0,10	0,01				
A-Lipsenjščica		0,13	0,03		<i>F. antipyretica</i> <i>M. scorpioides</i> , mah, <i>P. crispus</i> , <i>R. trichophyllus</i> , <i>Sparganium</i> sp.	240	63
1-Ižica		0,18	0,02		<i>Callitriche</i> sp.	212	9
2-Ižica		0,76	0,02		<i>F. antipyretica</i> , <i>Tribonema</i> sp.	791	28
3-Ižica		0,54	0,01		<i>N. officinale</i>	817	61
a-Pšata		0,39	0,02				
b-Pšata		0,29	0,09				
c-Pšata		0,60	0,00		<i>F. antipyretica</i> , mah	444	31
		0,75	0,03				
d-Pšata		0,06	0,00				
1-Ihan		0,05	0,01				
2-Ihan		0,14	0,09		<i>L. minor</i> , mah	144	7
3-Ihan		0,11	0,01		alge	727	8

*POVP – povprečje, STDEV – standardni odklik

Opisi vzorčnih mest, vzorčenje 16. 4. 2009:

Vzorčno mesto na Lipsenjščici je enako kot julija in oktobra leta 2009 in je opisano v Preglednici 2.

Vzorčno mesto 1-, 2- in 3-Ihan je pri farmi v Ihanu in je opisano v Preglednici 2. Na mestu 1-Ihan smo odvzeli vodo, na mestih 2- in 3-Ihan pa vodo in rastline.

Vzorčni mesti 1- in 2-Ižica sta v Igu pri nekdanji pralnici, 3-Ižica pa je na sredini vasi Ig.

Vzorčna mesta na reki Žerovniščici:

- I-Žerovniščica je 200 m dolvodno od kmetije (je enako mestu 4-Žerovniščica). Odvzeli vodo.
- II-Žerovniščica je dolvodno od kmetije (je enako mestu 4-Žerovniščica). Nabrali rastline.
- III-Žerovniščica je 200 m dolvodno od mostu v Žerovnici, vzporedno s kmetijo na desnem bregu (je enako mestu 3-Žerovniščica). Nabrali rastline.
- IV-Žerovniščica je 200 m dolvodno od mostu v Žerovnici, vzporedno s kmetijo na desnem bregu (je enako mestu 3-Žerovniščica). Odvzeli vodo.
- V-Žerovniščica je 100 m dolvodno od mostu v Žerovnici. Odvzeli izcedno vodo iz cevi (je enako mestu 2,2-Žerovniščica).
- VI-Žerovniščica je 100 m dolvodno od mostu v Žerovnici, takoj za izlivom dveh cevi z izcedno vodo (je enako mestu 2-Žerovniščica). Nabrali rastline.
- VII-Žerovniščica je 100 m dolvodno od mostu v Žerovnici, takoj za izlivom dveh cevi z izcedno vodo (je enako mestu 2 -Žerovniščica). Vzeli vodo in sediment.

Vzorčna mesta na reki Pšati:

- a-Pšata je pri goveji farmi, odvzeli izcedno vodo in sediment (je enako mestu 3-Pšata).
- b-Pšata je pod malim (lesenim) mostom, kamor se izceja izcedna voda (je enako mestu 2-Pšata). Odvzeli vodo in nabrali rastline.
- c-Pšata je gorvodno od mest a- in b-Pšata, 100 m dolvodno od betonskega mostu (je enako mestu 1-Pšata). Nabrali rastline.
- d-Pšata je gorvodno od mest a- in b-Pšata, 100 m dolvodno od betonskega mostu (je enako mestu 1-Pšata). Odvzeli vodo.

Priloga C: Povprečne vsebnosti selena (ng/gSS) v algah, bakterijah in mahovih, ki smo jih vzorčili 27. 7. 2009 in 16. 10. 2009.

Vzorčno mesto	Vrsta	*POVP (ngSe/gSS)	*STDEV (ngSe/gSS)
julij 2009			
Lipsenjščica	<i>F. antipyretica</i>	609	3
1-Pšata	<i>F. antipyretica</i>	491	6
2-Pšata	<i>S. natans</i>	497	42
2-Žerovniščica	<i>Cladophora</i> sp.	731	57
3-Žerovniščica	<i>Cladophora</i> sp.	880	28
4-Žerovniščica	<i>F. antipyretica</i>	992	30
oktober 2009			
Lipsenjščica	<i>Cladophora</i> sp.	639	20
	<i>F. antipyretica</i>	1196	5
Ižica	<i>F. antipyretica</i>	621	20
	<i>Mougeotia</i> sp., <i>Spirogyra</i> sp., <i>Vaucheria</i> sp.	519	15
1-Žerovniščica	<i>C. polyanthos</i>	1207	66
	<i>Cladophora</i> sp.	1073	21
2,2-Žerovniščica	<i>Cladophora</i> sp.	1913	17
3-Žerovniščica	<i>Chara</i> sp.	1004	27
	<i>Cladophora</i> sp.	682	11
4-Žerovniščica	<i>Cladophora</i> sp.	1560	3
5-Žerovniščica	<i>C. polyanthos</i>	1678	52
1-Pšata	<i>F. antipyretica</i>	418	7
2-Pšata	<i>S. natans</i>	512	

*POVP – povprečje, STDEV – standardni odmik

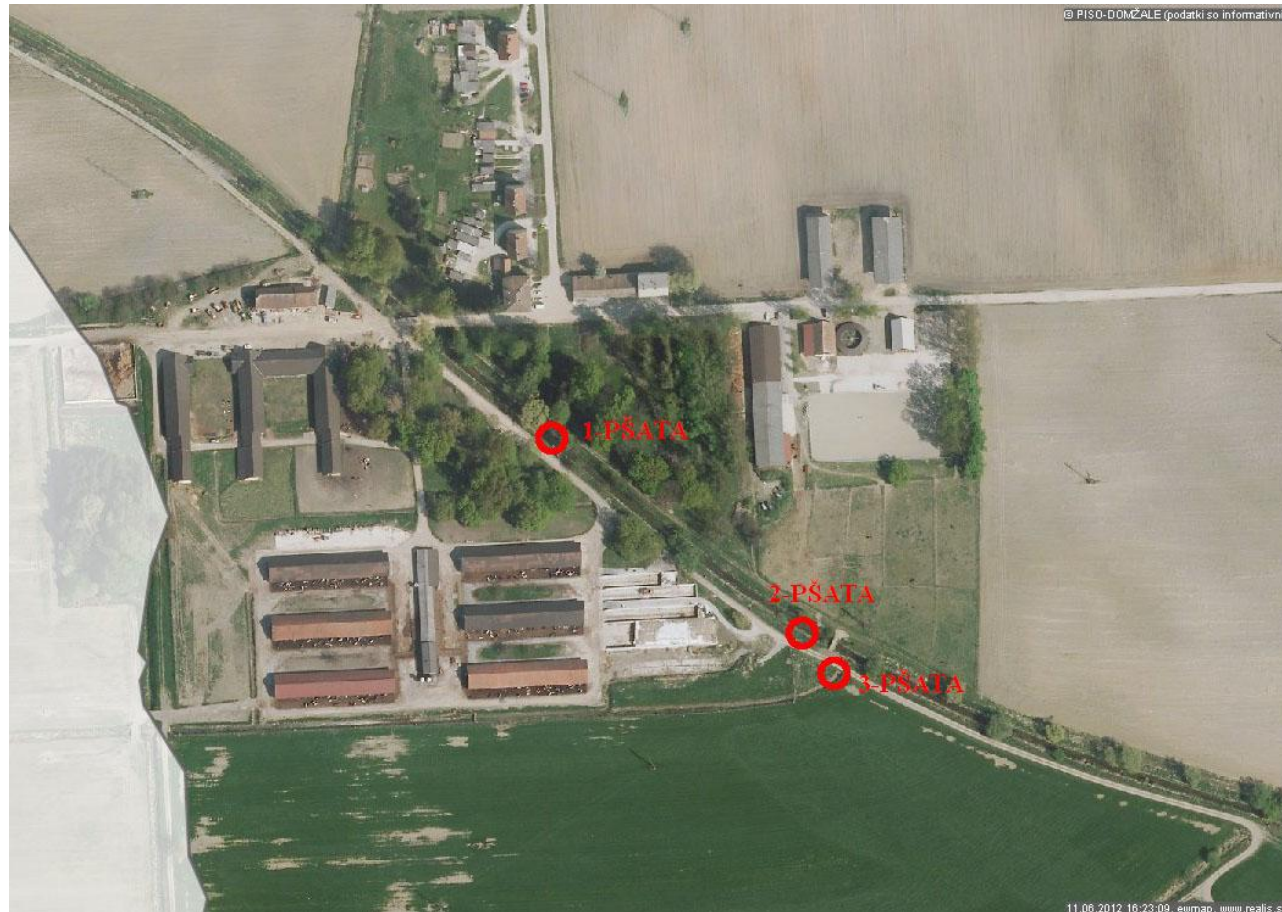
Opisi vseh vzorčnih mest so zbrani v Preglednici 2.

Priloga D1: Pregledna karta območij raziskave.



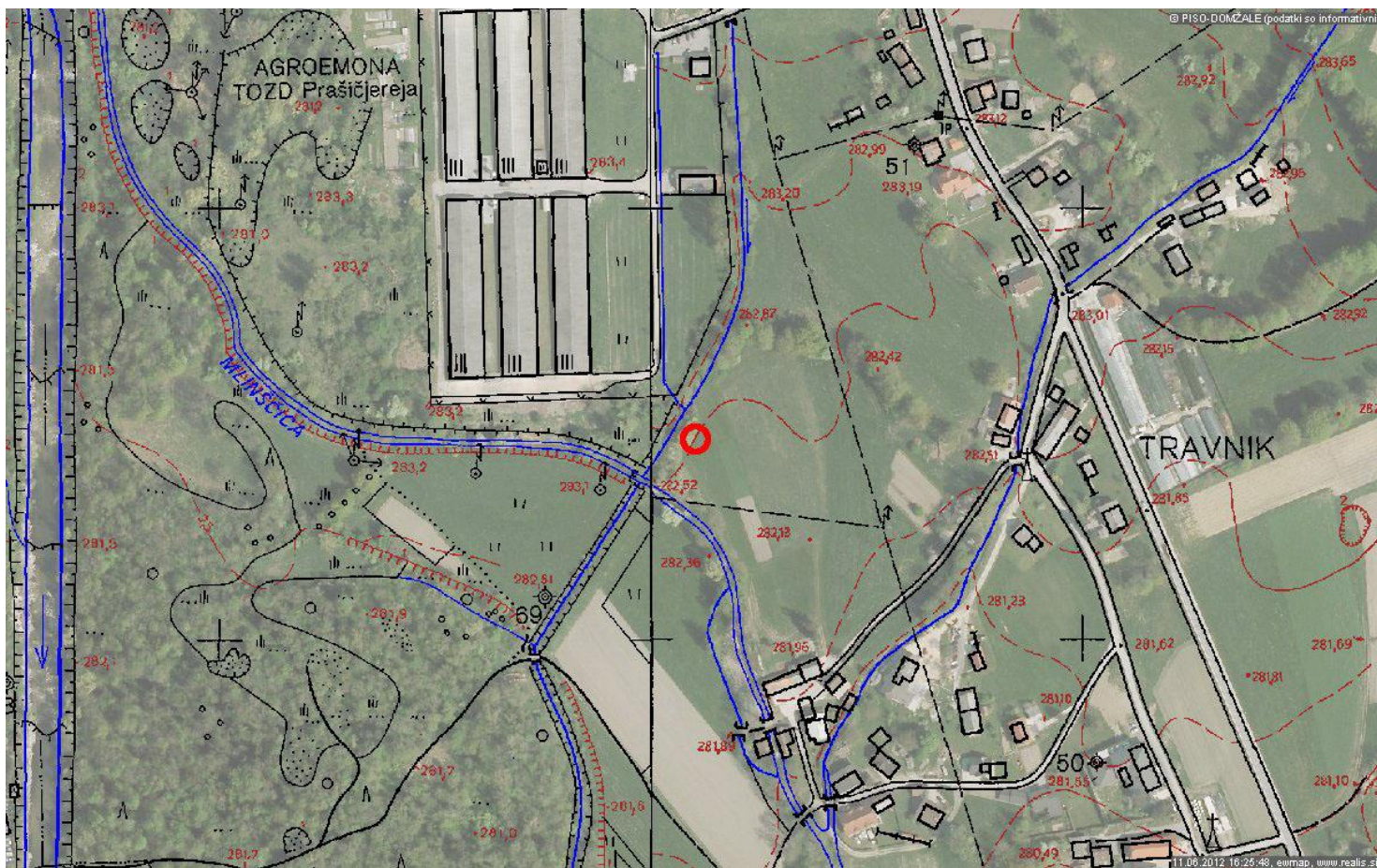
Vir: Google Earth (7. 1. 2011)

Priloga D2: Območje reke Pšate z označenimi vzorčnimi mesti 1-, 2- in 3- Pšata.



Vir: PISO-DOMŽALE (<http://www.geoprostor.net/piso>, 11. 6. 2012)

Priloga D3: Območje potoka pri farmi v Ihanu z označenim vzorčnim mestom.



Vir: PISO-DOMŽALE (<http://www.geoprostor.net/piso>, 11. 6. 2012)

Priloga D4: Območje reke Ižice v Igu z označenim vzorčnim mestom.



Vir: PISO-IG (<http://www.geoprostor.net/piso>, 11. 6. 2012)

Priloga D5: Območje reke Žerovniščice v Žerovnici z označenimi vzorčnimi mesti 1-, 2-, 2,2-, 3-, 4- in 5-Žerovniščica.



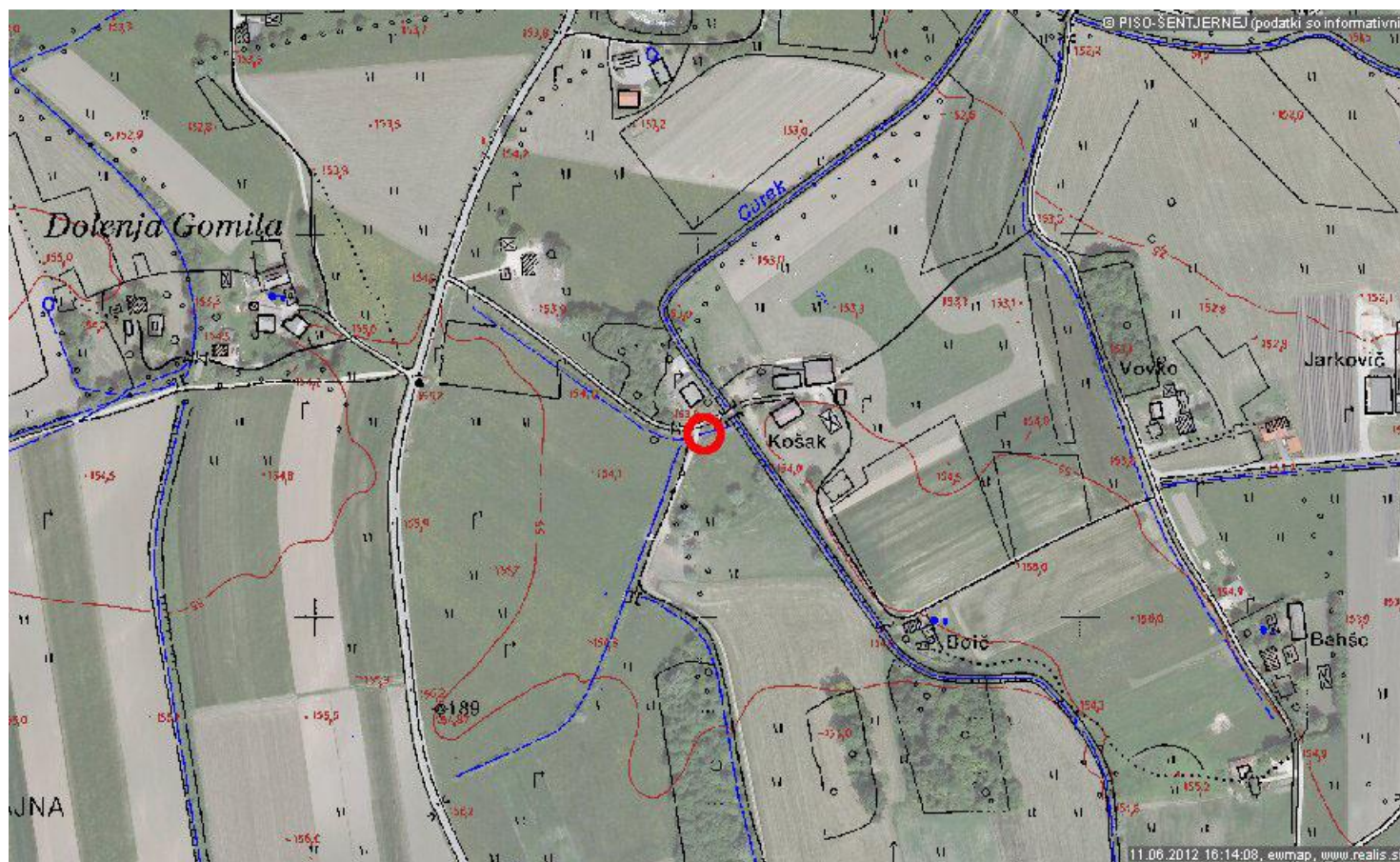
Vir: Google Maps (<https://maps.google.si/maps?hl=sl>, 16. 6. 2012)

Priloga D6: Območje reke Lipsenjščice v Lipsenju z označenim vzorčnim mestom.



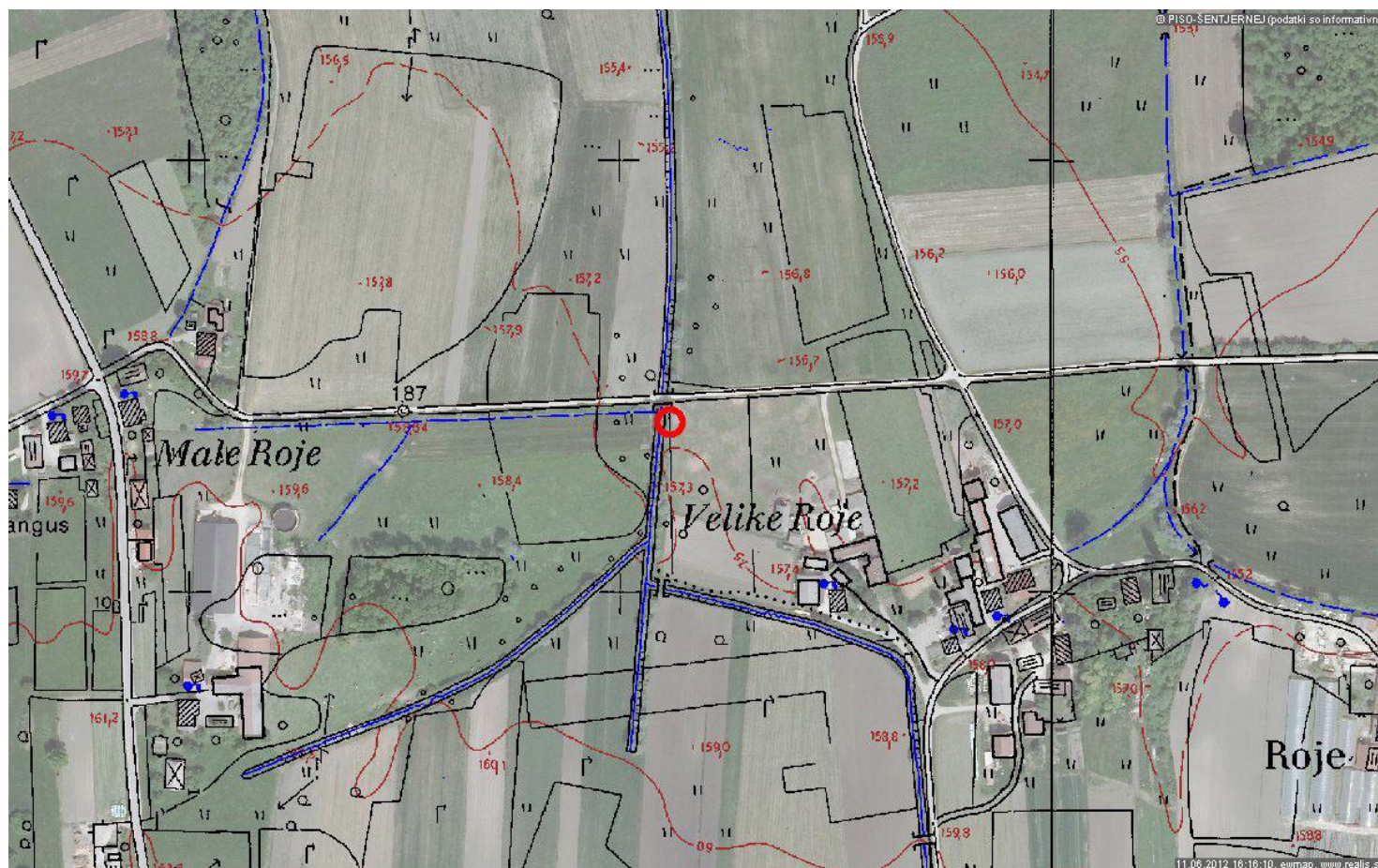
Vir: Google Maps (<https://maps.google.si/maps?hl=sl>, 16. 6. 2012)

Priloga D7: Območje potoka Curek v Drami z označenim vzorčnim mestom.



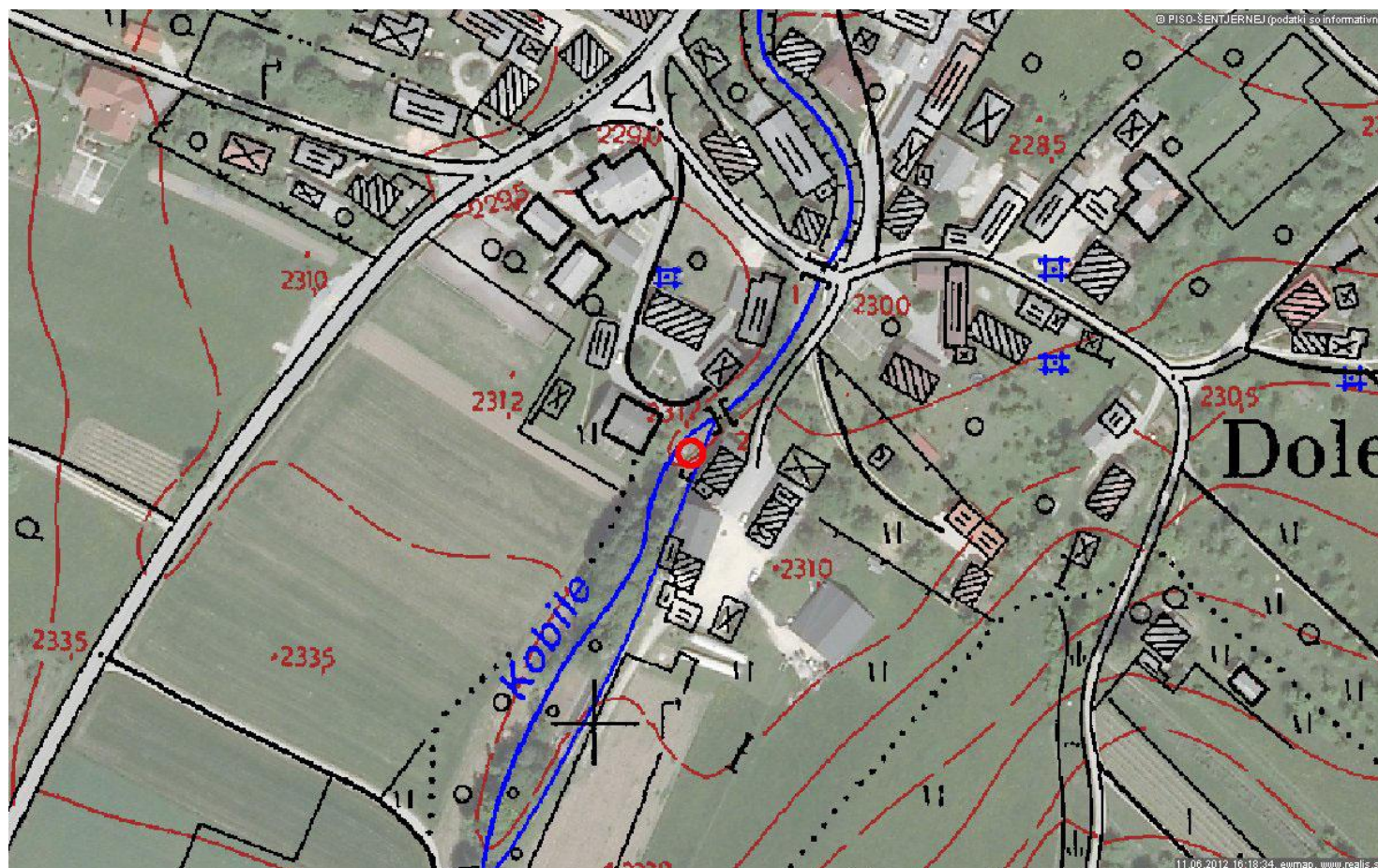
Vir: PISO-ŠENTJERNEJ (<http://www.geoprostor.net/piso>, 11. 6. 2012)

Priloga D8: Območje potoka v Rojah z označenim vzorčnim mestom.



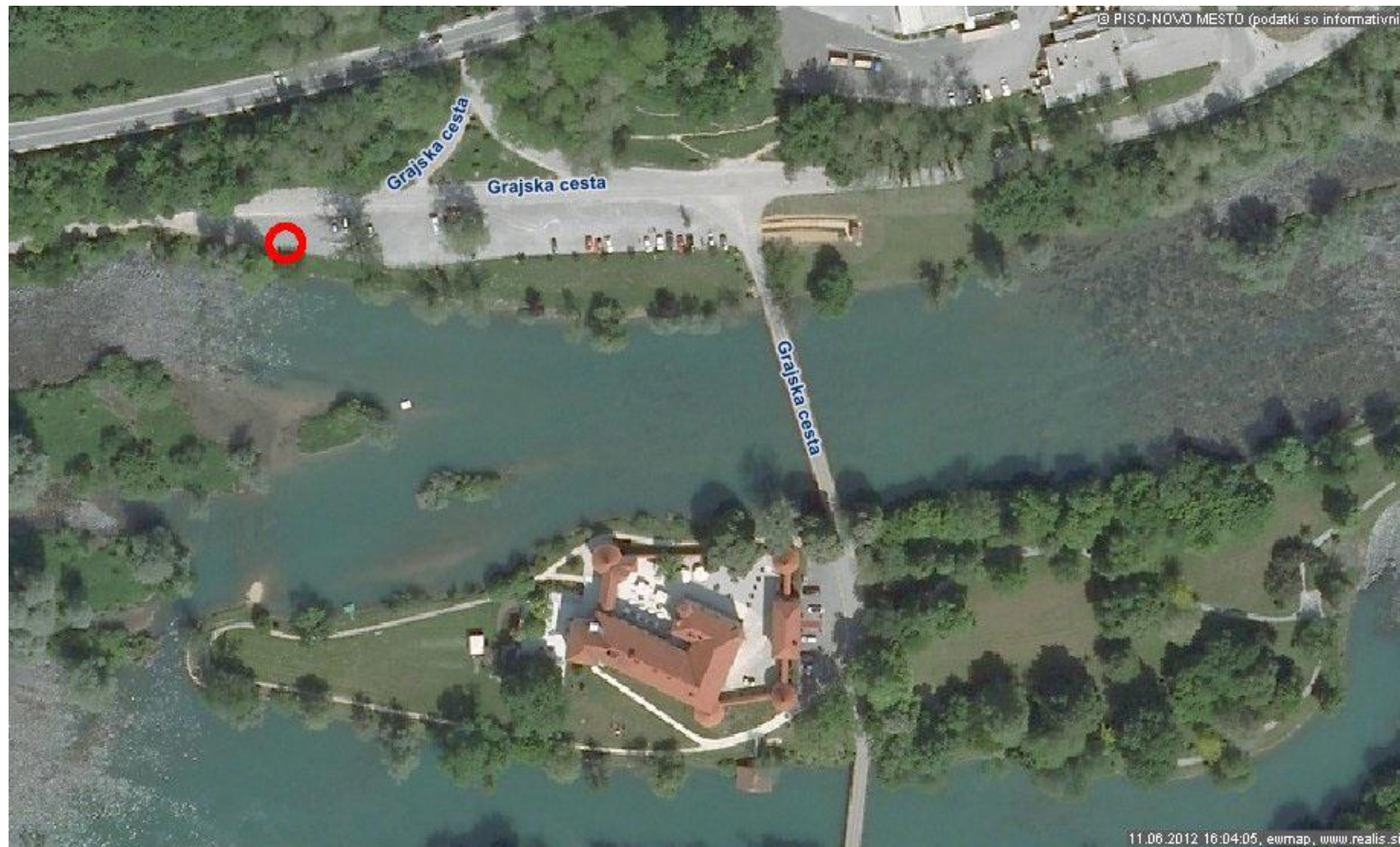
Vir: PISO-ŠENTJERNEJ (<http://www.geoprostor.net/piso>, 11. 6. 2012)

Priloga D9: Območje potoka Kobile pri farmi Rangus v Dolenjem Vrhopolju z označenim vzorčnim mestom.



Vir: PISO-ŠENTJERNEJ (<http://www.geoprostor.net/piso>, 11. 6. 2012)

Priloga D10: Območje reke Krke pri Otočcu z označenim vzorčnim mestom.



Vir: PISO-NOVO MESTO (<http://www.geoprostor.net/piso>, 11. 6. 2012)

