



Interreg
Alpine Space
Eco-AlpsWater



EUROPEAN UNION

European Regional Development Fund

Alpske vode & eDNA

2021

BROŠURA ZA ŠIRŠO JAVNOST



Eco-AlpsWater

Inovativno ekološko vrednotenje in strategija upravljanja z vodami za zaščito ekosistemskih storitev v alpskih jezerih in rekah

UREDNIKA

Tina Eleršek & Nico Salmaso

AVTORJI

BESEDILO Katarina Novak, Aleksandra Krivograd Klemenčič, Nataša Dolinar, Tadeja Šter, Maša Zupančič, Tina Eleršek, Ute Mischke, Hans Rund, Nico Salmaso. Del besedila je povzet po članku: Maša Zupančič, Nove metode spremljanja stanja voda, Življenje in tehnika, letnik LXXII, oktober 2021

RECENZIJA Hans Rund, Anja Bubik

SLIKE arhiv Agencije RS za okolje & Nacionalni inštitut za biologijo (Maša Zupančič, Tina Eleršek)

ILUSTRACIJE Mateja Pivk (artinfoto.si)

SHEMATSKI PRIKAZI Tine Eleršek

GRAFIČNA OBLIKA Tina Eleršek

IZDAL IN ZALOŽIL Nacionalni inštitut za biologijo

Avtorske pravice © Nacionalni inštitut za biologijo 2021

Elektronska izdaja

Ljubljana, 2021

INFO tina.elersek@nib.si

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani

[COBISS.SI-ID 84234755](https://nib.si/COBISS.SI-ID/84234755)

ISBN 978-961-7144-02-4 (PDF)

Vsi poznamo eMAIL,
eKNJIGO, eDENARNICO ...
vendar eDNA je nekaj
povsem drugačnega! 😊
Tukaj boste izvedeli več o
tem!

Interreg
Alpine Space
Eco-AlpsWater
European Regional Development Fund





Vsebina

Uvod in pilotna območja EAW	3
Vpliv človeka na ekosisteme celinskih voda	6
Tradicionalno vrednotenje ekološkega stanja	7
Kaj je ekološko stanje?	7
Fitobentos	9
Fitoplakton	10
Ribe.....	11
Ekološko stanje in analiza okoljske DNA	12
Molekularna laboratorijska knjižnica in tiskarna	14
Prihodnost ocenjevanja biološkega stanja voda	16



Vsi posegi v okolje se odražajo v zdravju naših voda.



Uvod in pilotna območja EAW

Celinske vode predstavljajo le nekaj odstotkov vse svetovne vode, vendar pa je njihova vloga na našem planetu neprecenljiva. Te vode so eden najdragocenejših naravnih virov na Zemlji, hkrati pa so močno ogrožene zaradi človekovih aktivnosti. Številna površinska vodna telesa so obremenjena z onesnažili in degradirana, kar vpliva na zmanjšanje ekološke vrednosti okolja. Kvaliteta in čistost vodnih virov sta v prvi vrsti pomembni za zagotavljanje pitne vode, poleg tega pa sta ključni tudi za higieno in zdravstveno oskrbo, kmetijstvo, industrijo, rekreacijo, turizem in druge ekosistemske storitve. Osnova za učinkovito upravljanje z vodnimi viri je redno spremljanje stanja voda, ki nam omogoča zaznavanje sprememb v okolju. Le tako lahko namreč pravočasno zaznamo poslabšanje stanja in ustrezno ukrepamo.

Spremljanje ekološkega stanja voda lahko poteka s tradicionalnimi ali sodobnimi metodami, vendar pa je potrebno slednje najprej razviti, jih optimizirati in izvesti temeljito primerjavo rezultatov s tradicionalno in preverjeno metodo. Ravno s tem se ukvarja projekt [Eco-AlpsWater](#) (EAW), kjer je konzorcij 12 partnerjev iz alpskih držav poskrbel za razvoj najnovejših znanstvenih pristopov, jih preizkusil na pilotnih območjih in zatem pridobljena znanja in izkušnje povezal z odločevalci in upravljalci voda.

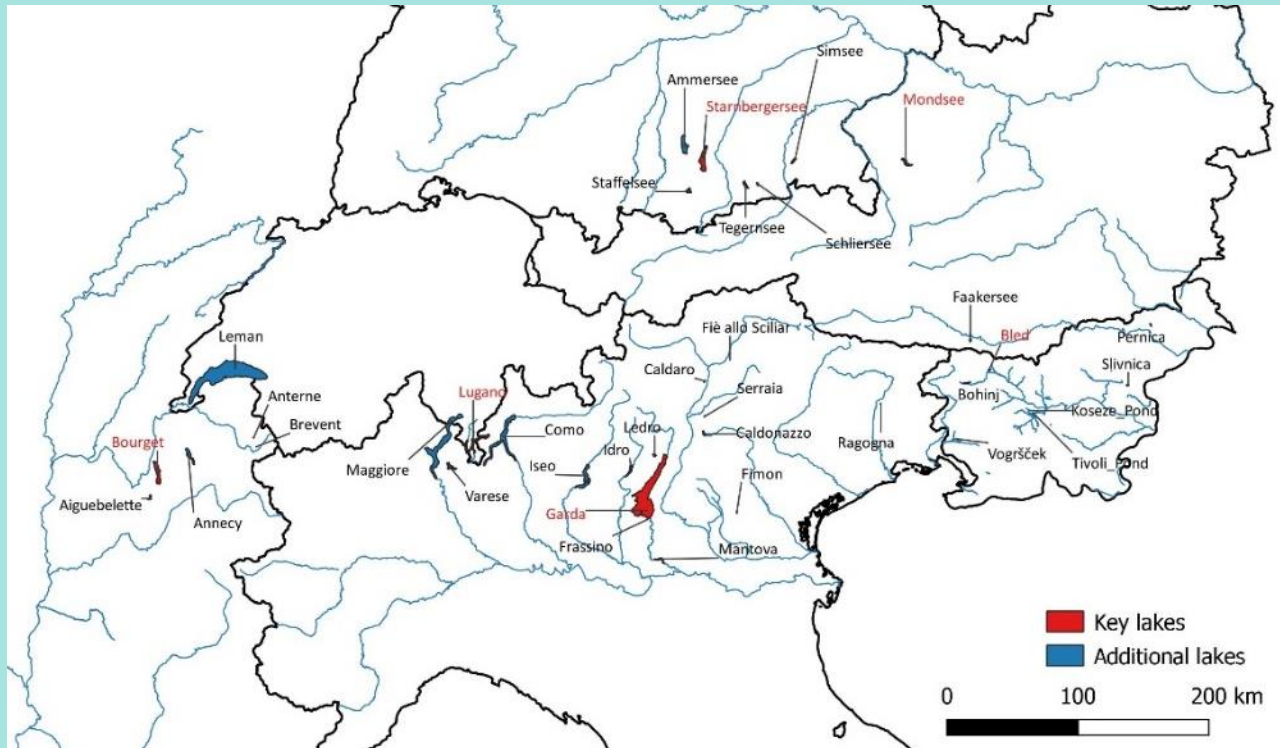
Eco-AlpsWater (EAW) spletna stran nudi veliko slikovnega in video gradiva:

<https://www.alpine-space.org/eco-alpswater>

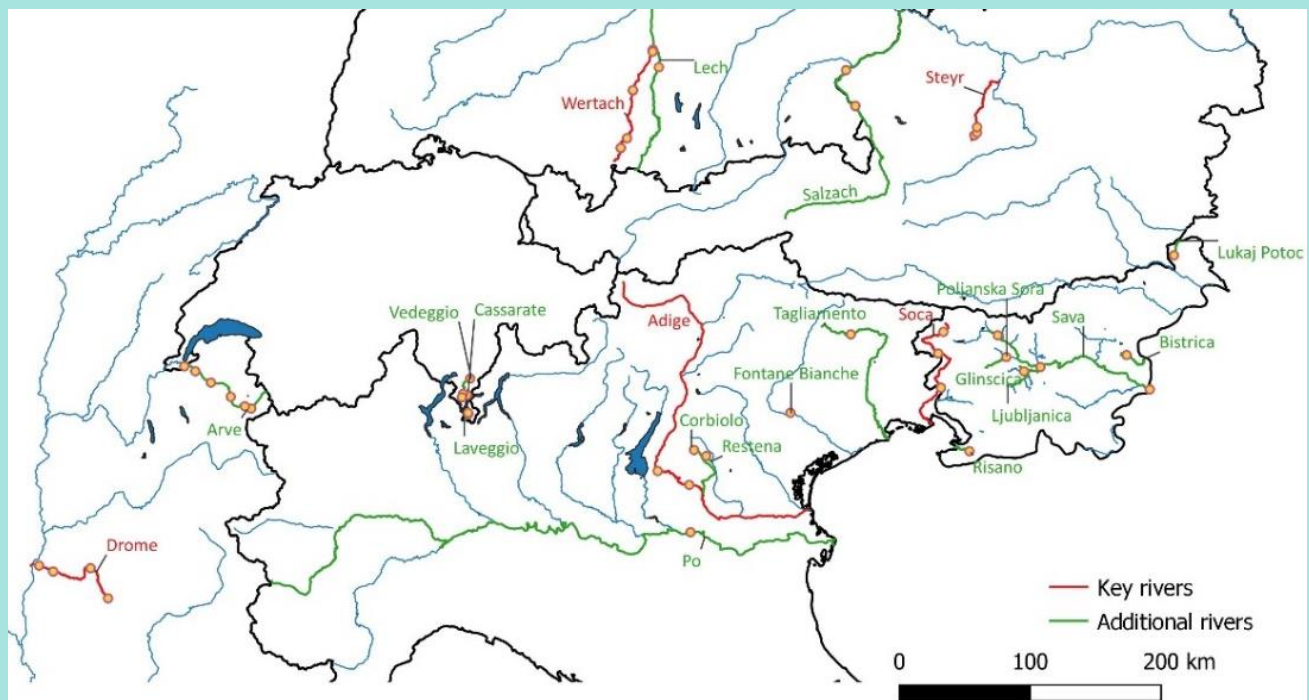
Kratek projektni video:

<https://www.youtube.com/watch?v=VIKk9LVRqho>

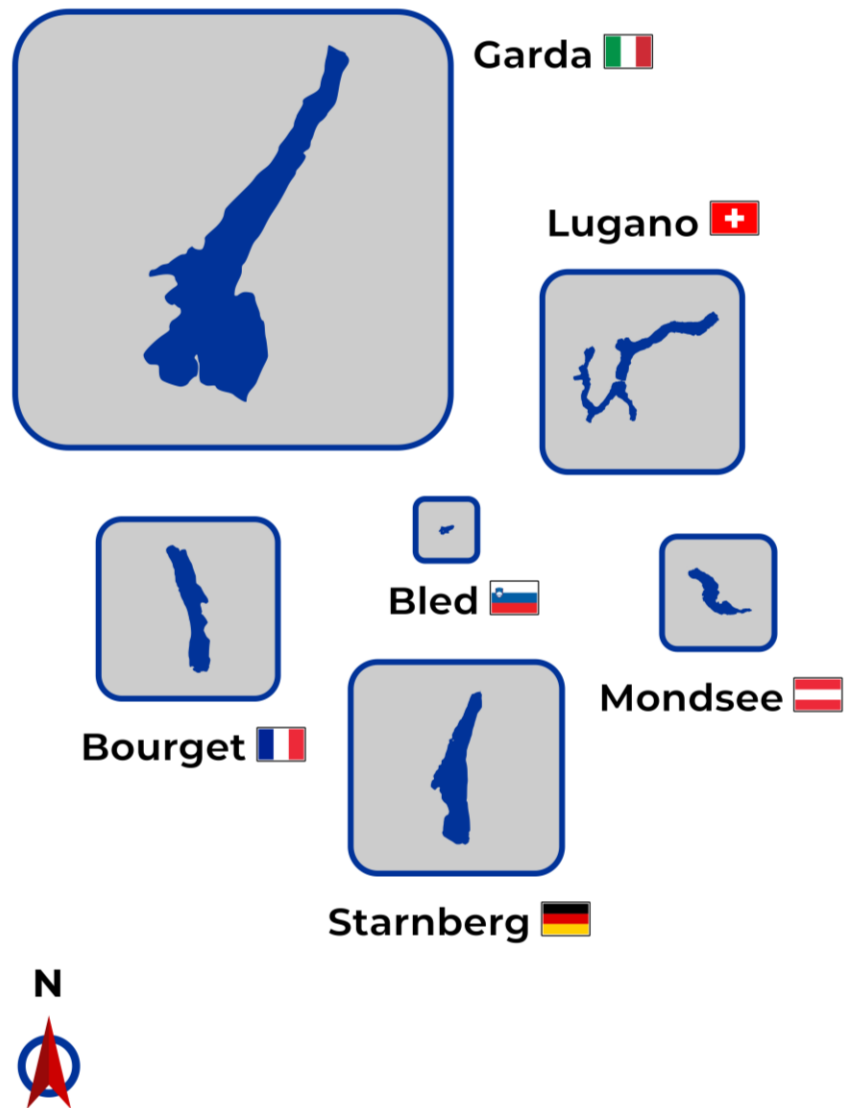
Akronim projekta EAW predstavlja Inovativno ekološko oceno in strategijo upravljanja voda za varstvo ekosistemskih storitev v alpskih jezerih in rekah. Glavni cilj tega evropskega projekta je izboljšati tradicionalne pristope spremljanja ekološkega stanja voda z uporabo naprednih tehnik sekvenciranja DNA, kot je metabarkodiranje (prepoznavanje vrst v okoljskem vzorcu na podlagi kratkih odsekov DNA). Novi pristop uporablja visoko zmogljivost sekvenčne analize za analizo DNA bakterij, mikroskopskih alg in preostalih mikroorganizmov ter večjih vodnih rastlin in živali, vključno z ribami (okoljska DNA, v angleškem jeziku *environmental DNA* ali eDNA). Nove metode dovoljujejo hitro in stroškovno bolj učinkovito identifikacijo vrst, obdelavo in shranjevanje podatkov ter pridobivanje informacij (dostop do velikih baz podatkov).



EAW ključna jezera: Blejsko jezero, Bourget, Garda, Lugano, Mondsee in Starnberg.



EAW ključne reke: Adige, Drome, Soča, Steyr in Wertach.



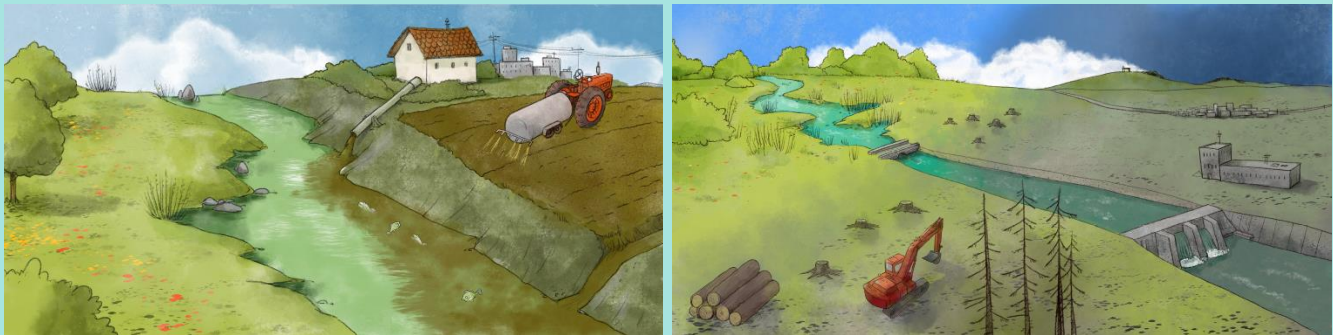
Ključna jezera v Avstriji, Franciji, Italiji, Nemčiji, Sloveniji in Švici so bila vzorčena vsak mesec, pridobljeno je bilo čez 180 vzorcev. Ta jezera pa so si po velikosti in biokemijskih značilnostih zelo različna. Zato je bilo odvzetih še 150 vzorcev iz dodatnih vodnih teles na območju alpske regije v vseh omenjenih državah, kar pomeni, da je bilo skupno analiziranih več kot 330 vzorcev.



Vpliv človeka na ekosisteme celinskih voda

Ljudje imamo s svojim načinom življenja in poseganjem v okolje znaten vpliv na kakovost voda, naravne procese ter na zgradbo in obliko tekočih ter stoječih voda. Vpliv človeka lahko vodno okolje tako zelo spremeni, da se prisotni organizmi niso več sposobni prilagoditi novim razmeram. To vodi v spremembo na ravni združb, saj se število avtohtonih vrst zmanjša ali te celo izginejo. Nakar nastalo vrzel v združbi zapolnijo nove vrste, med drugim tudi invazivne. To ima lahko negativne posledice za ekosistem in ekosistemske storitve.

Ekosistem sestavljajo organizmi in neživo okolje, s katerim so ti organizmi povezani. **Vodni ekosistem** sestavljajo organizmi, ki živijo v ali na vodi, in njihovo neživo okolje – voda, sediment, obrežni pas in podobno. Primeri vodnih ekosistemov celinskih voda so potoki, reke, mlake, ribniki, jezera in mokrišča.



Primeri poseganja človeka v vodna okolja: intenzivna raba prostora, obremenjevanje s hranili in organskimi snovmi z iztoki odpadnih voda, spiranje površin, cest in zraka, izsuševanje, namakanje, gradnja zidov, pragov in pregrad.

Ljudje že od nekdaj izkoriščamo vodni in obvodni prostor. Z razvojem kmetijstva, industrije in urbanizacije smo izsušili številna mokrišča in poplavne ravnice, za zaščito pred poplavami pa smo izravnali struge rek, zgradili jezove in jih marsikje obdali s protipoplavnimi zidovi. Z intenzivno rabo prostora pogosto spreminjamo značilne obrežne pasove rek in jezer, poleg tega pa spreminjamo kemijsko stanje vodnih teles. Primer tega je eutrofikacija (obremenitev s hranili iz kmetijstva in odpadnih voda), ki lahko povzroči cvetenje alg.



Tradicionalno vrednotenje ekološkega stanja

Kaj je ekološko stanje?

Za izboljšanje in/ali ohranjanje stanja voda je treba poznati in redno spremljati njihovo stanje. V ta namen tudi alpske države izvajajo **monitoring** voda v skladu s predpisi na nacionalni (CH-WPO) ali evropski ravni (WFD) in vrednotijo **ekološko stanje voda**. Ocena nam pove, v kakšnem stanju so vodni ekosistemi in njihovi organizmi, kot so mikroalge, rastline in živali. Ker so nekatere vrste pomembni indikatorji za določevanje stanja vodnih teles, je zelo pomembno, da se te vrste natančno in objektivno določi. Poleg biološkega sta pomembna tudi kemijski in hidrološki vidik, saj le kombinacija vseh treh omogoča bolj celostno oceno ekološkega stanja. Projekt EAW se osredotoča na izboljšanje metod za vrednotenje biološkega vidika. Poleg tega se izvajajo dodatni nadzorni ukrepi za odgovore na druga vprašanja, na primer, **ali je voda varna za kopanje, primerna za pitje, zalivanje in drugo uporabo**.

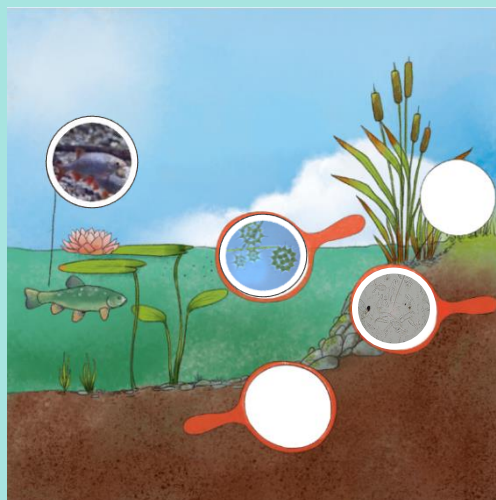


Tradicionalna ocena ekološkega stanja se ponazarja s petstopenjsko barvno lestvico, normativni opis posameznega razreda pa izhaja iz Okvirne direktive EU o vodah (WFD).



Za ponazoritev ekološkega stanja se uporablja barvna lestvica, ki sega od zelo dobro (modra barva) do zelo slabo (rdeča barva). V Evropi so upravljalci voda sklenili skupni cilj, da bodo vsa vodna telesa v dobrem ali zelo dobrem ekološkem stanju. Primerjava dejanskega stanja s pričakovanim naravnim stanjem nam pove, kolikšno odstopanje je nastalo zaradi človekovih dejavnosti.

Vode se med seboj razlikujejo (na primer glede značilnosti toka, gibanja/premikanja sedimenta, zasenčenosti, globine ali koncentracije hranil) in vsak tip voda ima svojo značilno vrstno sestavo rastlin in živali. Jezera in reke so razvrščene v različne **tipe vodnih teles**. Na primer, alpska jezera se po značaju razlikujejo od nižinskih jezer in se jih ocenjuje z drugimi indikatorji in mejnimi vrednostmi hranil.



Vsak biološki element kakovosti se različno odziva na različne obremenitve in spremembe v vodnem ekosistemu, zato nam lahko služi kot indikator razmer. V projektu EAW smo za analize izbrali fitobentos, fitoplankton in ribe.

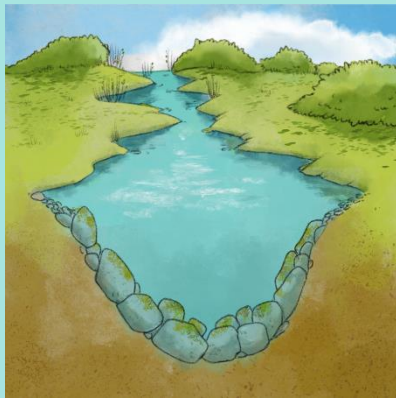
Prisotnost ali odsotnost določenih organizmov je dober indikator ekološkega stanja določenega življenjskega okolja; tem organizmom zato pravimo **indikatorski organizmi** ali **bioindikatorji**. Ti organizmi potrebujejo za rast in razmnoževanje ozko določene razmere in so zelo občutljivi za spremembe, kar pomeni, da se v primeru spremenjenega življenjskega prostora tam ne pojavljajo več ali pa se spremeni njihova pogostost.

Za podrobnejše informacije o vzorčenju različnih bioloških elementov kakovosti (fitobentos, fitoplankton in ribe), obiščite spletno stran projekta EAW z [dokumenti](#). Vzorčenje si lahko ogledate tudi na [videoposnetkih](#), ki so na voljo na spletni strani projekta EAW.



Fitobentos

Fitobentos so alge (na primer zelene alge, evglenofiti, rdeče alge, rumene alge, kremenaste alge) in cianobakterije, ki živijo v stiku s podlago (kamni, makrofiti, korenine, ostanki lesa in rastlin). V projektu EAW smo se osredotočili predvsem na fitobentoško združbo kremenastih alg oz. diatomej, ki imajo zunanjo celično steno (lupinico) iz kremena.



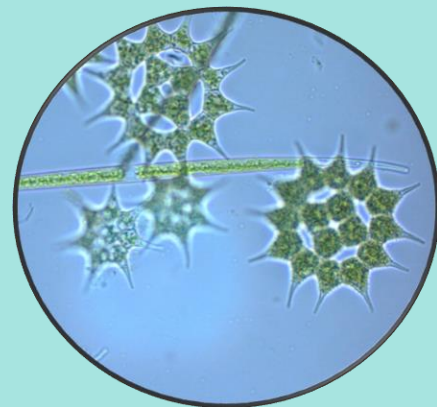
V reki ali jezeru naberemo kamne in obrast alg s ščetko postrgamo v posodico. V laboratoriju s kislino odstranimo organsko snov v celicah, tako da ostanejo le kremenaste frustule (lupinice). Iz očiščenega vzorca pripravimo mikroskopski preparat. Pod svetlobnim mikroskopom določimo prisotne vrste diatomej in njihovo številčnost.

Različne vrste diatomej ločimo po obliki in strukturi kremenastih lupinic. Zaradi splošne razširjenosti diatomej in njihovega hitrega odziva na spremembe v okolju jih uporabljamo za vrednotenje ekološkega stanja, saj so dober kazalnik kakovosti vode. Na podlagi indikatorskih vrst v vzorcu in njihove pogostosti izračunamo trofični in saprobni indeks ter ekološko stanje za obremenitev s hranili (trofičnost) in organsko obremenitev (saprobnost).



Fitoplankton

Fitoplankton je zelo velika in vrstno bogata skupina alg in cianobakterij. Vsem je skupen zeleni pigment – klorofil a, ki je nosilec primarne produkcije v stoječih vodah in ga lahko uporabimo za približek njihove mase. Čeprav lahko nekatere plavajo s pomočjo bička ali nadzorujejo svoj položaj s plinskimi mehurčki, pa v večini na njihovo gibanje vpliva tok vodnih mas. Zato je fitoplankton pomemben predvsem v počasi tekočih in stoječih vodah, kjer lahko povzroča cvetenje alg s toksini. Pred vzorčenjem je potrebno s posebnim diskom ugotoviti globino, na kateri je še dovolj svetlobe za uspevanje fitoplanktona – to je tista globina, do katere vzorčimo fitoplankton. Tradicionalna metoda je časovno zelo potratna, poleg tega pa mora imeti biolog še veliko znanja o morfoloških značilnostih za določevanje posameznih vrst. Vzorci v planktonski mreži vsebujejo koncentrat živih celic, ki niso primerne za štetje, saj je mreža selektivna glede večjih celic.



Vzorke fitoplanktona se s posebnim vzorčevalnikom zajame v celotnem vodnem stolpcu (do globine, kamor še prodre svetloba). Vzorec se zaščiti in pobarva z raztopino lugola za čas shranjevanja do analize. Pod svetlobnim mikroskopom se prešteje celice fitoplanktona in zabeleži volumne celic vsake vrste, ki so v razponu od $2 \mu\text{m}^3$ do $50\,000 \mu\text{m}^3$.

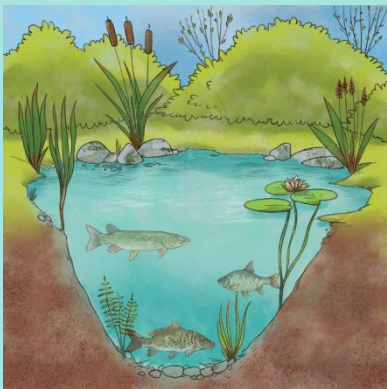
V vzorcu, ki smo ga pridobili z vzorčevalnikom, določimo številčnost prisotnih vrst fitoplanktona. Na podlagi celičnega biovolumna in številčnosti lahko določimo skupni biovolumen fitoplanktona v vzorcu. Na podlagi vrstne sestave, številčnosti, skupnega celičnega biovolumna, vsebnosti klorofila a in indikatorskih vrednosti posameznih vrst izračunamo multimetrijski indeks fitoplanktona in ekološko stanje, ki je večinoma povezano z obremenitvami hranil v jezerih (trofično stanje).



Ribe

Ribe so pogosto končni člen prehranjevalne verige v vodnih ekosistemih, zato so indikator stanja celotnega vodnega ekosistema. Zaradi daljše življenjske dobe so občutljive za dolgoročne spremembe v okolju. Ribe odražajo stanje vodotoka gorvodno in dolvodno ter stanje pritokov, saj se zaradi selitvenih vzorcev in rabe različnih habitatov v različnih življenjskih obdobjih ali delih dneva aktivno premikajo. Zato so še posebno občutljive za hidromorfološke spremembe voda.

Vzorčenje poteka z elektroribolovom v jezerih in rekah ter z mrežami z različnimi velikostmi luknjic v pelagičnem (osrednji del, kje je voda globoka) in litoralnem (priobalnem) območju jezer. Metodo elektroribolova izvajajo za to usposobljeni ribiči, ki uporabljajo električne impulze in s tem začasno omrtvičijo ribe, da jih lahko polovijo iz vode. Nato jih preštejejo, določijo vrste, stehtajo in izmerijo njihovo dolžino. Po izvedenih meritvah omrtvičene ribe premestijo v kad s svežo vodo, kjer si opomorejo, preden jih izpustijo v mirno območje blizu brežin reke ali jezera. Nekatere vrste rib je zaradi njihovega habitata težko uloviti z elektroribolovom (npr. bentoške vrste, ki živijo pri dnu, in pelagične vrste, ki živijo v globoki vodi). Pri teh vrstah se uporablja mreže za lovljenje, žal pa je to zelo invaziven pristop, saj večina ulovljenih rib pogine.



Ribe odražajo stanje vodotoka gorvodno in dolvodno ter stanje pritokov. Še posebej so občutljive za hidromorfološke spremembe voda.

Na podlagi vzorčene površine, števila in podatkov o dolžini in teži rib izračunamo številčnost vrste in biomaso na hektar vodotoka. Z meritvijo dolžine dobimo vpogled v starostno sestavo in s tem reprodukcijski uspeh združbe rib. Na podlagi zbranih podatkov izračunamo ustrezne indekse in ekološko stanje za splošno degradiranost voda.



Ekološko stanje in analiza okoljske DNA

Vsi organizmi v vodi puščajo svoje genetske sledi, ki nam lahko povejo ključne informacije o ekološkem stanju okolja. Raziskovalci si prizadevajo, da bi se naučili te sledi prebrati s pomočjo sekvenciranja okoljske DNA (prosta DNA in DNA v mikroorganizmih).



DNA (deoksiribonukleinska kislina) je nosilka genetskih informacij pri vseh živih bitjih.
eDNA (okoljska DNA) je celoten genski material, ki ga najdemo v nekem okolju.

Vse analize se začnejo z vzorčenjem. Za potrebe molekularnih analiz potrebujemo vzorec vode ali biofilma (skupka mikroorganizmov, pritrjenega na trdno podlago), iz katerega izoliramo okoljsko DNA. V vodnem okolju so prisotni številni organizmi, od virusov in bakterij do rastlin ter vodnih živali, pa tudi občasni obiskovalci – ljudje ali njihovi domači ljubljenci. Vsi ti organizmi v okolju puščajo molekule svoje DNA. Z izrazom "okoljska DNA" (eDNA) imamo torej v mislih celoten dedni material vseh organizmov, ki so (ali so bili) v tem okolju prisotni. Ta genetski material lahko izhaja neposredno iz celic mikroorganizmov, ki jih vzorčimo skupaj z vodo (npr. mikroskopske alge ali bakterije). Pri večjih organizmih (npr. ribe ali ljudje) pa se prenaša v okolje preko telesnih izločkov, odmrle kože, dlak in podobno, ter se lahko v obliki prostih molekul DNA v vodnem okolju ohrani več dni ali celo več tednov. Če se DNA ujame v sedimentih na dnu vodnih teles, pa lahko tam ostane tudi več let ali desetletij; v nekaterih primerih tudi več tisočletij, kar odpira vrata paleoekološkim raziskavam.

Okoljska DNA, ki jo pridobimo iz vodnega vzorca, skriva številne odgovore na ekološka vprašanja; le prebrati jih moramo znati. DNA je dolga veriga nukleotidov; posameznih črk A, T, G in C, ki predstavljajo štiri različne dušikove baze (adenin, timin, gvanin in citozin). Genetsko abecedo torej sestavljajo zgolj štiri črke, ki tvorijo vse življenje na našem planetu. Če je posamezen nukleotid ena črka, so posamezni kodoni (sklopi treh nukleotidov) besede, vsak gen pa je svoj stavek. Vsak organizem v sebi nosi knjigo, ki se imenuje genom – njegov celoten genetski zapis. Ta knjižna prisposoba, ki je povzeta po delu Genom avtorja Matta Ridleyja, nam bo pomagala pri razumevanju genetskega zapisa in molekularnih metod.



Če bi prebrali celoten genom vsakega organizma, bi lahko brez dvoma prepoznali njegovo identiteto; vrsto, podvrsto, včasih tudi geografski izvor ali druge značilnosti. Vendar pa je branje celotnega genoma (poznano kot področje genomike) dolgotrajno, predvsem pa vodi v ogromne količine podatkov. V vsakem vzorcu lahko pričakujemo številne različne vrste organizmov. Če bi v vsakem vzorcu želeli prebrati celotne genome vseh prisotnih organizmov, bi obdelava in shranjevanje tako velike količine podatkov predstavljala ogromen izziv.



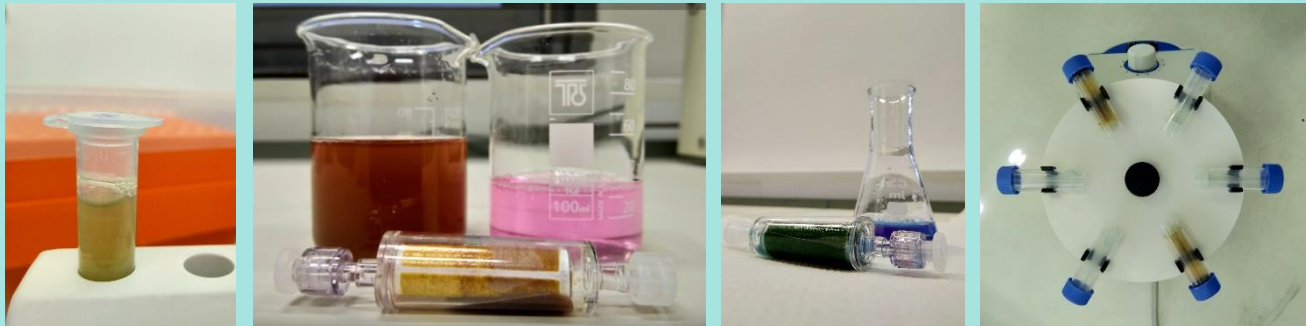
Za določanje ekološkega stanja nas ne zanimajo vsi organizmi v vodi, temveč le izbrane skupine organizmov. Namesto da bi prebrali knjigo od začetka do konca, preberemo le njen kratek odsek – tak, ki je edinstven pri vsaki vrsti.

Poleg tega nas za določanje ekološkega stanja ne zanimajo vsi organizmi v vodi, temveč le izbrane skupine organizmov. Namesto da bi prebrali knjigo od začetka do konca, zato preberemo le njen kratek odsek – tak, ki je edinstven pri vsaki vrsti. Za vsako skupino organizmov je bila izbrana določena regija genetskega zapisa, na podlagi katere lahko ločimo posamezne vrste med seboj. Za bakterije je to na primer en del gena 16S rDNA, ki nosi zapis za manjšo podenoto ribosoma. Zaporedje nukleotidov v tej regiji mora biti med različnimi vrstami dovolj raznoliko, da omogoči razlikovanje med njimi, hkrati pa znotraj iste vrste dovolj ohranjeno, da lahko vse njene predstavnike prepoznamo kot isto vrsto. Za takšne regije se je uveljavil izraz črtne kode oziroma barkode, zaradi česar se postopek branja nukleotidnega zaporedja izbranih odsekov DNA imenuje tudi barkodiranje. Ko ta postopek izvedemo na celotni združbi organizmov (s pomočjo eDNA), uporabljamo izraz metabarkodiranje.



Molekularna laboratorijska knjižnica in tiskarna

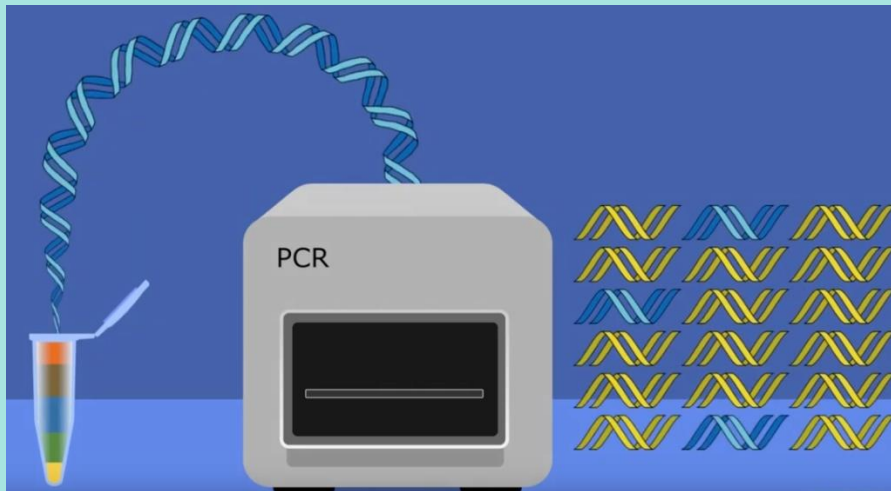
To ni klasična knjižnica, kjer si izposojamo knjige, temveč gre za laboratorijsko knjižnico, kjer iščemo točno določene besedne zveze in jih nato »pomnožimo« ali »natisnemo«. Ko izberemo ustrezno regijo za organizme, ki nas zanimajo, moramo ta odsek DNA pomnožiti v čim več kopij. V vzorcu, ki vsebuje celotne genetske zapise vseh prisotnih organizmov, namreč naš izbrani odsek predstavlja zanemarljivo majhen delež v množici milijonov in milijonov zapisov (nukleotidov), zato ga ne moremo ločeno analizirati. Predstavljajte si, da bi morali iz kupa debelih knjig v vsaki izmed njih poiskati določeno besedno zvezo, prepoznati razlike v teh besednih zvezah med posameznimi knjigami in iz svojih opažanj sestaviti poročilo. Zveni kot dolgotrajna in mukotrpa naloga.



Deli molekularne laboratorijske knjižnice in tiskarne.

Raziskovalci za to uporabljajo molekularno orodje, ki združuje ukaze »išči«, »kopiraj« in »prilepi« – imenuje se verižna reakcija s polimerazo (PCR) in lahko v uri ali dveh iz nekaj kopij naše preučevane regije DNA ustvari več milijard kopij. To naredi tako, da posnema enake pogoje, kot se zgodijo med pomnoževanjem DNA v živi celici. Pri tem igrajo ključno vlogo kratki fragmenti zaporedja nukleotidov, ki opravljajo vlogo funkcije »išči«. Ker so oblikovani tako, da se ujemajo s prvimi in zadnjimi nekaj črkami besedne zveze, ki jo iščemo, bodo v celotni knjigi prebrali le izbrani del in ignorirali vse ostale nepotrebne informacije. Drugi glavni igralec pri pomnoževanju zaporedij pa je encim polimeraza, ki opravlja funkciji »kopiraj« in »prilepi«, enako kot se dogaja prav ta trenutek v celicah vašega telesa. Razlika je le v tem, da se v živih celicah ob njihovi delitvi podvojuje celoten dedni zapis, v laboratorijski reakciji pa le izbrani del zaporedja DNA.

Po takšni reakciji pomnoževanja predstavlja naše preučevano zaporedje DNA veliko večino v vzorcu, ostala DNA pa le še zanemarljiv delež.



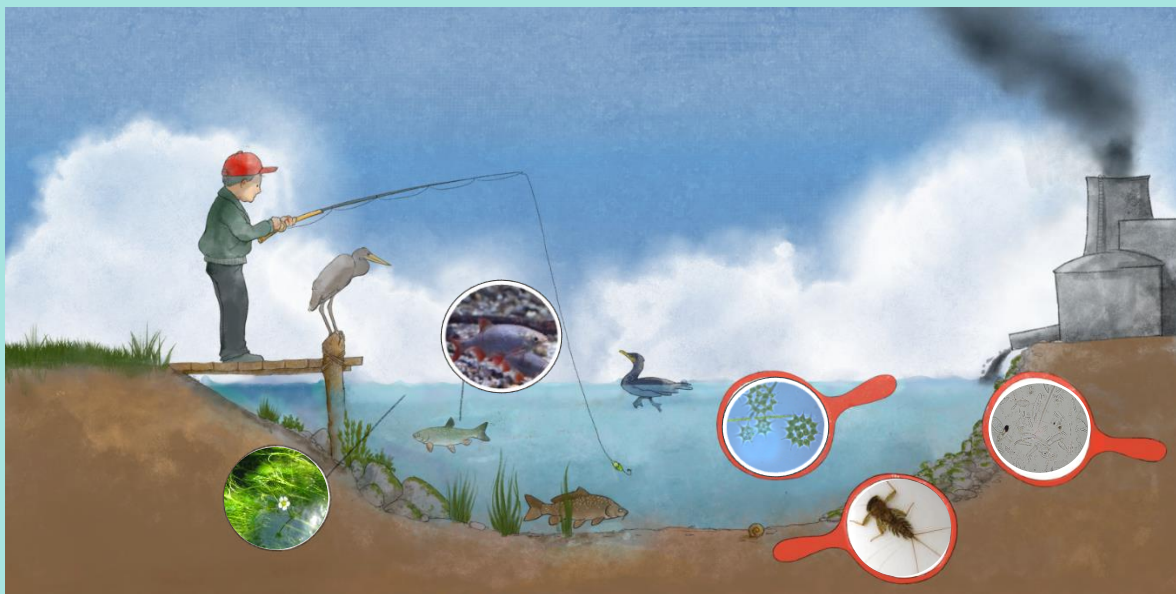
Pomnoževanje izbranih (rumenih) regij DNA.

Zdaj imamo namesto debele knjige, polne za nas neuporabnih informacij, mapo polno identičnih kopij besedne zveze, ki nas zanima. To besedno zvezo – naš izbrani odsek DNA – moramo zdaj le še prebrati, kar storimo v postopku, imenovanem sekvenciranje DNA. Po sekvenciranju DNA imamo pred seboj ogromno število črk (nukleotidov), ki sestavljajo zaporedja posameznih vrst. Ker pa nam – tako kot pri tujem jeziku – samo zaporedje črk ne pomeni nič, potrebujemo slovar. Tu si pomagamo z referenčnimi knjižnicami, obsežnimi bazami bioloških podatkov, kjer so shranjena zaporedja nukleotidov številnih vrst organizmov, pridobljena s sekvenciranjem DNA v sklopu raziskovalnih projektov. Prevajanje zaporedja nukleotidov v sezname vrst organizmov poteka s pomočjo različnih algoritmov; kot bi v brskalnik v spletnem slovarju vpisali tujo besedo, ta pa bi vam vrnil njen pomen v vam razumljivi obliki. Ko to naredimo za vsa prebrana zaporedja nukleotidov, je rezultat seznam vseh identificiranih vrst organizmov, prisotnih v vzorcu. Še vedno pa obstajajo številne vrste organizmov, ki v referenčnih knjižnicah še nimajo svojega vnosa; njihovega genetskega zapisa ne poznamo. To se dogaja predvsem pri tistih mikroskopskih organizmih, katerih gojenje v laboratoriju je zelo težavno ali nemogoče. Takšne pomanjkljivosti v referenčnih knjižnicah močno otežujejo bioinformatično obdelavo rezultatov barkodiranja.



Prihodnost ocenjevanja biološkega stanja voda

Največji potencial tako imenovanega molekularnega monitoringa se skriva v večji občutljivosti metod, določevanju vrst brez da bi jim pri tem škodovali (npr. ribe), v prihranku časa in znižanju stroškov (npr. zaradi možnosti analize večjega nabora vzorcev v krajšem času) in tudi bolj zanesljivemu napovedovanju morebitnih sprememb v okolju (predvsem zaradi možnosti analize večjih naborov podatkov). Lahko si predstavljamo, kakšen napor je izvesti celoten monitoring rib s postavljanjem mrež na vseh globinah v jezerih v primerjavi s filtriranjem nekaj litrov vode. Tehnologija sekvenciranja DNA se hitro razvija, cena postopka pa s tem pada. V primerjavi s časovno potratnim določanjem indikatorskih vrst na podlagi morfoloških meril v tradicionalnem monitoringu so molekularne metode visoko zmogljive in omogočajo vzporedno analizo številnih vzorcev v kratkem času. Poleg tega bi lahko omogočile tudi zaznavanje manj številčnih vrst, ki jih je s tradicionalnimi metodami težko ali celo nemogoče zaznati.



Indikatorske vrste najdemo znotraj vseh elementov za določanje ekološkega stanja voda po tradicionalni metodi: fitoplankton, fitobentos in makrofiti, bentoški nevretenčarji in ribe. Molekularna orodja kažejo, da lahko najdemo indikatorske vrste tudi v drugih skupinah organizmov. Vodni ekosistem je namreč veliko bolj kompleksen, kot ga lahko trenutno zaznamo s tradicionalnimi metodami.

Uvajanje novih metod na osnovi DNA seveda ne bo tako enostavno. Spremljanje ekološkega stanja temelji na dolgih časovnih vrstah podatkov, za primerjavo katerih je ključnega pomena, da so bili pridobljeni z isto metodologijo. Poleg tega je za vsak tip vodnega telesa posebej



opredeljeno referenčno stanje – takšno, kjer ni opaziti vpliva človeka ali je ta zelo majhen, – ki služi kot izhodišče za določanje kakovosti. Prehod na molekularni monitoring se zato ne more zgoditi čez noč. Najprej je potrebno sistematično ovrednotiti zanesljivost teh metod in primerljivost njihovih rezultatov z rezultati tradicionalnih metod, posodobiti obstoječe biološke indekse in referenčne pogoje ter prilagoditi postopke vzorčenja, da bodo zadostili potrebam molekularnih analiz po aseptičnem delu.

Številni raziskovalni projekti in mreže znanstvenih inštitucij po vsem svetu se osredotočajo na ta vprašanja in nekatere države so že začele z vpeljavo barkodiranja DNA v program monitoringa ekološkega stanja voda. Prva evropska država, ki je naredila ta korak, je bila Združeno kraljestvo, ki je pred nekaj leti razglasilo začetek molekularnega monitoringa za skupino organizmov kremenaste alge, ene ključnih bioindikatorjev v vodnih okoljih. Vendar pa je zaradi že omenjenih nejasnosti potrebno nove metode uvajati postopno, saj naj bi te v prvi vrsti dopolnjevale in ne povsem nadomestile do sedaj uveljavljenega pristopa. Molekularni monitoring še ni uveljavljen v vseh alpskih državah, vendar že potekajo raziskave, ki kažejo, da je zelo smotrn, da bi se nekaj časa tradicionalni in molekularni monitoring izvajala vzporedno.

Molekularne metode imajo v monitoringu ekološkega stanja voda velik potencial, le čas in številne raziskave pa bodo pokazale, kako jih lahko najbolj smiselno uporabimo. S tem, ko bodo tradicionalne metode monitoringa posodobljene, bo življenje (voda) veliko bolj razumljivo. Kratkoročni cilj raziskovalcev je za vse tipe vodnih teles in za vse biološke elemente vzpostaviti najbolj optimalno strategijo, ki bo s kombinacijo tradicionalnih in molekularnih metod dosegla celovit vpogled v dejansko stanje ekosistema z najnižjim vložkom časa in denarja. Treba je poudariti, da molekularne metode verjetno nikoli ne bodo povsem nadomestile tradicionalnih in da bo potreba po usposobljenih strokovnjakih za morfološko določanje vrst še dolgo prisotna.

Ne smemo pozabiti, da gre za nova orodja, a naši glavni cilji ostajajo enaki: zaščititi naše vodne vire in zagotoviti čisto vodo celotnemu prebivalstvu tudi v prihodnosti.



Lepo vabljeni, da se včlanite se v našo EAW Alpine Network mrežo na naslovu:

<https://www.alpine-space.org/projects/eco-alpswater/en/project-results/eaw-alpine-network>

in spremljate naše EAW aktivnosti še naprej!



Interreg
Alpine Space
Eco-AlpsWater



European Regional Development Fund



Ta brošura je nastala v okviru projekta Eco-AlpsWater, ki ga delno financira Evropska unija iz evropskega sklada za regionalni razvoj (podpora EU: 1.447.666,54 €). Projekt se je izvajal v okviru programa transnacionalnega sodelovanja INTERREG Območje Alp za obdobje 2014–2020.

