

Određivanje citotoksičnosti krških lokava

Arh, Ema

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:465751>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Ema Arh
ODREĐIVANJE CITOTOKSIČNOSTI KRŠKIH LOKAVA
Završni rad

Rijeka, 2023. godina

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Ema Arh
ODREĐIVANJE CITOTOKSIČNOSTI KRŠKIH LOKAVA
Završni rad

Rijeka, 2023. godina

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Jadranka Vraneković

Završni rad obranjen je dana _____ u/na _____

_____, pred povjerenstvom u sastavu:

1. _____

2. _____

3. _____

Rad ima _____ stranica, _____ slika, _____ tablica, _____ literaturnih navoda

Sažetak

Uvod: Prema nacionalnoj klasifikaciji Republike Hrvatske krške lokve su male i privremene akumulacije vode koje mogu presušiti, a najčešće nastaju nakupljanjem kiše na vodonepropusnom ili polupropusnom tlu. Razlikujemo prirodne lokve i lokve nastale antropogenim djelovanjem. Proglašene su najvažnijim staništem Nature 2000. za očuvanje i održavanje bioraznolikosti.

Cilj rada: Cilj ovog istraživanja je procijeniti citotoksičnost vode dviju krških lokava na području Krasice pomoću *Allium cepa* testa.

Materijali i metode: Za uzorkovanje vode odabrane su dvije lokve na području Krasice, a uzorkovanje je provedeno 29.4.2023. na lokalitetu Veternjak i Hroljevo. Citotoksičnost vode u lokvama određena je temeljem rasta meristemskih stanica korjenčića luka i frekvencijom inhibicije rasta, osim toga utvrđeni su fizikalno kemijski parametri te kvaliteta zraka.

Rezultati: Statistički značajna razlika u rastu korijena luka ($p < 0,05$) utvrđena je u uzorcima vode iz lokve Hroljevo u odnosu na negativnu kontrolu. Na temelju stupnja inhibicije rasta korijena luka utvrđeno je da voda iz lokve Hroljevo spada u skupinu β -mezotoksičnih voda što upućuje na umjereno toksičnu vodu, dok voda iz lokve Veternjak spada u oligosaprobne vode što ukazuje na slabo onečišćenu vodu. Temeljem izmjerenih pH vrijednosti utvrđeno je da obje lokve pripadaju eutrofnom tipu staništa. Na dan uzorkovanja, kao i za cijeli tjedan prije uzorkovanja, na postaji za praćenje kvalitete zraka Krasica zabilježene su povišene vrijednosti sumporovodika (vrlo loše) kao i ozona (umjereno).

Zaključak: Biomonitoring u svrhu poboljšanja usluga ekosustava i vlastite održivosti te održavanja bioraznolikost trebao bi biti dio kontinuiranog praćenja kvalitete malih vodenih ekosustava.

Ključne riječi: *Allium cepa* test, biomonitoring, bioraznolikost, citotoksičnost, krške lokve

Summary

Introduction: According to the national classification of Croatia, karst ponds are small and temporary accumulations of water that can dry up and are usually formed by the accumulation of rain on impermeable or semi-permeable soil. They can occur naturally or through anthropogenic intervention and have been designated by Nature 2000 as the most important habitat for the conservation and maintenance of biodiversity. **The aim of this study** is to assess the water quality of two karst ponds in the Krasica region using the *Allium cepa* test.

Materials and methods: Two ponds in the localities of Veternjak and Hroljevo were selected for water sampling and sampling was carried out on 29 April 2023. The cytotoxicity of the water in the ponds was determined by the growth of meristem cells of onion roots, i.e. the frequency of growth inhibition. Physicochemical parameters (temperature and pH) and air quality were also determined

Results: A statistically significant difference was found in the growth of onion roots in the water samples from the Hroljevo pond compared to the negative control, indicating the possibility of the presence of cytotoxic substances in the water. Based on the degree of inhibition of onion root growth, it was found that the water from the Hroljevo pond belongs to the group of β -mesotoxic waters, indicating moderately toxic water, while the water from the Veternjak pond belongs to the oligosaprobic waters, indicating slightly polluted water. Based on the measured pH values, it was determined that both ponds belong to the eutrophic type of habitat. On the day of sampling, as well as during the entire week prior to sampling, elevated levels of hydrogen sulphide (very poor) and ozone (moderate) were measured at the air quality monitoring station in Krasica.

Conclusion: Biomonitoring to improve ecosystem services and own sustainability as well as to maintain biodiversity should be part of the continuous monitoring of the quality of small aquatic ecosystems.

Key words: *Allium cepa* test, biodiversity, biomonitoring, cytotoxicity, karst ponds

SADRŽAJ

1. Uvod	1
1.1. Kopnene vode	2
1.2. Bioraznolikost i očuvanje krških lokava	3
1.3. Utjecaj onečišćenja atmosfere na površinske vode	5
1.4. Biomonitoring	6
1.5. Allium cepa test	7
1.6. Karakteristike ispitivanog područja	9
2. Cilj rada	11
3. Materijali i metode	12
3.1. Mjesto uzorkovanja	12
3.2. Materijali	16
3.3. Metode	17
3.3.1. Allium cepa test	17
3.3.2. Određivanje fizikalno kemijskih karakteristika lokava	21
3.3.3. Statistička analiza	22
4. Rezultati	23
4.1. Određivanje fizikalno kemijskih karakteristika vode	23
4.2. Kvaliteta zraka na području Krasice	23
4.3. Određivanje inhibicije rasta korijena luka	25
4.4. Učestalost inhibicije rasta korijena luka	26
5. Rasprava	28
6. Zaključci	31
7. Literatura	32
8. Životopis	36

1. Uvod

Voda je glavna komponenta koja omogućava život na Zemlji. Više od dvije trećine Zemljine površine je voda i neophodna je komponenta svih živih bića. Pa tako, 71% Zemljine površine opada na vodu, a od toga čak 96.5% nalazimo u morima i oceanima, dok je samo 0.013% površinskih voda (rijeka, jezera, bare, lokve). Voda je temeljni sastojak svih živućih organizama, u vodi se odvijaju svi biološki procesi, važno je otapalo za enzime i metabolite te je glavni dio svih bioloških makromolekula (bjelančevine, nukleinske kiseline, polisaharidi). Osim toga voda sudjeluje u regulaciji tjelesne temperature svih toplokrvnih životinja, organizmi neprekidno uzimaju i otpuštaju vodu, a taj proces se naziva ciklus vode (1-2).

Voda se pojavljuje kao tekućina na površini Zemlje pod normalnim uvjetima, upravo je zbog toga stanište za mnoštvo biljaka i životinja. Površinska voda pod djelovanjem sunčevog zračenja stalno isparuje u atmosferu, a tamo se kondenzira i vrati na Zemlju u obliku padalina (snijeg, kiša, rosa, magla, tuča, inje,) ovaj proces se naziva kruženje vode u prirodi ili hidrološki ciklus. Isparavanje s tla, mora, podzemnih voda, kondenzacija, razvitak oblaka, padalina, nakupljanje vode na tlu u kopnenim vodama i morima te iznova njihovo isparavanje su procesi koji uzrokuju kretanje vode iz atmosfere na Zemlju i obrnuto. Oko jedne trećine oborina koje padnu na kopno otječu u oceane i mora, prvenstveno rijekama, manja količina vode se akumulira tvoreći kopnene vode (rijeke, jezera, bare i lokve) (3-4).

Raznolikost vrsta i ekosustava kopnenih voda najvažnije su odrednice bioraznolikosti. Mnoge biljne, ali i životinjske vrste u jednom dijelu životnog ciklusa ovise o vodi, dok ostale vrste kopnene vode koriste kao izvor vode i hrane. Brojni su hranidbeni lanci mnogih vrsta usko povezani s kopnenim vodama, što ukazuje na važnost očuvanja i zaštite kopnenih voda kao prirodnog staništa mnogih autohtonih vrsta tog područja (3-4).

1.1. Koprne vode

Koprne vode (NKS kod: A) općenito dijelimo na stajaćice (NKS kod: A.1.) i tekućice (NKS kod: A.2.). Prema vrsti nastanka mogu biti prirodnog ili ljudskog podrijetla. Vrste koprnih voda u Republici Hrvatskoj i njihova pripadajuća staništa regulirana su pravilnikom o popisu stanišnih tipova i karti staništa (5).

Površinske koprne vode s vidljivim strujanjem nazivaju se tekućice. U tekućicama nalazimo stalne, prolazne, umjetne i prirodne organizme koji su važni u održavanju hranidbenog lanca. U skupinu tekućica (A.2.) razlikujemo: izvore (A.2.1.), povremene vodotoke (A.2.2.), stalne vodotoke (A.2.3.), kanali (A.2.4.), vodopadi (A.2.5.), termalna vrela (A.2.6.), neobrasla i slabo obrasla obala tekućica (A.2.7.) (6).

Površinske koprne vode u kojima nema vidljivog protoka vode nazivamo stajaćicama (A.1.), mogu biti prirodnog ili antropogenog podrijetla. Razlikujemo 3 glavne kategorije stajaćica, a to su: stalne stajaćice (A.1.1.), povremene stajaćice (A.1.2.), neobrasla i slabo obrasla stajaćica (A.1.3.). Stalnim stajaćicama (A.1.1.) smatraju se ona vodena tijela prirodnog ili umjetnog podrijetla gdje je voda trajno očuvana, a njena razina može varirati, uz prisutnost pelagičke i bentoske zajednice. U kategoriju stalnih stajaćica (A.1.1.) razlikujemo: oligotrofna voda siromašna vapnencem (A.1.1.1.1), mezotrofna voda (A.1.1.1.2.), eutrofna voda (A.1.1.1.3.), oligotrofno-mezotrofna voda bogata vapnencem (A.1.1.1.4.), dno stalnih stajaćica (A.1.1.1.5.). Neobrasle i slabo obrasle stajaćice (A.1.3.) su obalna područja lokvi i stalnih slatkovodnih jezera koja su nastala uslijed djelovanja vjetra i valova, a mogu presušiti i nestati (6).

Povremene stajaćice (A.1.2.) su vodena tijela čija je glavna karakteristika da povremeno mogu presušiti, a mogu biti slatkovodna jezera, lokve ili dijelovi sličnih voda, sa prisutnom pelagičkom ili bentonskom zajednicom životinja. Dijelimo ih u nekoliko kategorija: povremeno oligotrofna stajaćica siromašna vapnencem (A.1.2.1.1.), povremena mezotrofna stajaćica (A.1.2.1.2.), povremena eutrofna stajaćica (A.1.2.1.3.), povremena oligotrofno-mezotrofna stajaćica (A.1.2.1.4.), dno povremenih stajaćica (vodena faza) (A.1.2.1.5.), neobraslo dno povremenih stajaćica (suha faza) (A.1.2.1.6.) (6).

Kategorije povremenih stajaćica razlikujemo i diferenciramo s obzirom na njihovu pH vrijednost. Pa tako povremeno oligotrofne stajaćice imaju pH u rasponu od 5 do 6, s zelenom do smečkastom prozirnom vodom, dok eutrofne stajaćice imaju obično pH veći od 7 s dosta mutnom vodom. Nadalje, povremeno mezotrofne stajaćice imaju pH koji poprima vrijednosti između 6-7, a povremeno oligotrofne-mezotrofne stajaćice imaju pH viši od 7.5, s uglavnom plavo-zelenom vodom uz visoki stupanj bistroće (6).

1.2. Bioraznolikost i očuvanje krških lokava

Krške lokve su vodena tijela koje spadaju u skupinu povremenih stajaćica (A.1.2.), to su male i privremene akumulacije vode koje mogu presušiti, najčešće nastaju nakupljanjem kiše na vodonepropusnom ili polupropusnom tlu. Mogu nastati prirodnim putem ili antropogenim djelovanjem (7-8).

Za nastanak većine lokvi s područja Primorsko- goranske županije zaslužan je čovjek. Gradnja lokvi potječe još iz brončanog doba kada se intenzivnije počelo razvijati stočarstvo, pa je održavanje umjetnih vodenih tijela bilo od presudne važnosti za opstanak stoke. Lokva bi se često gradila u krškoj vrtači (ponikvi) ili udubljenom terenu, a tlo bi se prekrivalo glinom kako bi se voda zadržala na tom području. Osim za stoku, lokve nastale antropogenim djelovanjem često su se koristile i kao izvor pitke vode za ljude. Upravo zbog toga takve lokve bi se često odvajale suhozidima radi sprječavanja ulaza životinja, ali i drugih ljudi (slika 1) (9).



Slika 1. Prikaz podijele lokve (preuzeto: <https://srdjanhulak.com/proizvod/lokva-diviska-baska2/>)

U lokvama i oko njih znatna je brojnost biljnog i životinjskog svijeta. Brojni su organizmi ovisni o lokvama kao jedinom izvoru vode na svom staništu ili su pak jednim dijelom svog životnog ciklusa ovisni i povezani s vodom lokvi. Često su staništa mnogim zajednicama mikroorganizama, biljaka i životinja, koja su autohtona i ugrožena. U Lokvama se često nalaze različite vrste rakova a neki od njih su: Vodenbuhe (*Daphniidae*), Triops (*Triopsidae*), Ciklope (*Cyclops scutifer*)... Nažalost, danas se sve više susrećemo sa sukcesijom lokvi, a time i njihovim nestajanjem. Razlog tome je prvenstveno, kako je i prije navedeno, činjenica da je većina lokvi antropogenog nastanka. Odlaskom ljudi iz ruralnih krajeva i napuštanjem stočarstva dolazi do neodržavanja i neadekvatnog korištenja lokvi. Upravo zbog toga dolazi do nestajanja vrlo važnog staništa za mnoge vrste. Iz svega navedenog njihovo održavanje i zaštita je ključan korak u očuvanju bioraznolikosti (9-10).

Među potpisnicama Konvencije o biološkoj raznolikosti Ujedinjenih naroda nalazi se upravo i Republika Hrvatska. U toj konvenciji bioraznolikost je definirana kao cjelokupnost svih živih organizama prisutnih na nekom staništu, a uključuje raznolikost na razini unutar vrsta, između

različitih vrsta i između različitih ekosustava. Upravo zbog toga je Europska ekološka mreža Natura 2000. kao prioritet stavila očuvanje malih krških lokava na mediteranskom području. Danas postoje mnogi projekti koji pokušavaju sačuvati i održati opstanak lokvi u Republici Hrvatskoj. Projekt Lokna osmišljen je u cilju očuvanja i održavanja lokvi kao staništa mnogim biljnim i životinjskim vrstama na području otoka Krka. Također, u Parku prirode Učka provode se razni projekti održavanja lokvi u svrhu očuvanja bioraznolikosti na tom području. Osim navedenih, očuvanje lokvi vrši se u cijeloj Hrvatskoj, pa se tako ekološka udruga Čiopa bavi među ostalim i očuvanjem krških lokava na Dubrovačkom području. Njihovo očuvanje ključno je za održavanje staništa i pripadajuće biocenoze (11-13).

1.3. Utjecaj onečišćenja atmosfere na površinske vode

Onečišćenje zraka može vrlo štetno utjecati na vodene i kopnene ekosustave. U atmosferi s lošom kvalitetom zraka, dolazi do kondenzacije vodene pare pri čemu onečišćene padaline (kiša, snijeg, tuča...) dopijevaju do površinskih voda, gdje dovode do njihovog onečišćenja. Veće koncentracije onečišćenja atmosfere dovest će i do znatnijeg zagađenja površinskih kopnenih voda, gdje može doći do narušavanja prirodnih staništa, a time i bioraznolikosti istih, a potencijalno i zdravlja čovjeka (14-15).

Upravo zato je EU radi boljeg usklađivanja standarda u pogledu kvalitete zraka osmislila Europski zeleni plan. Ovaj plan ima ulogu poboljšanja kvalitete zraka prema smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije. Smanjenje onečišćenje okoliša na razinu koja se smatra sigurnom po ljudsko zdravlje i ekosustave, glavni je cilj ovog akcijskog plana EU-a o nultom onečišćenju (13-16).

1.4. Biomonitoring

Biomonitoring je pojam kojim se opisuje način, odnosno skup metoda za praćenje stanja okoliša. Koristi se kako bi se identificirale i kvantificirale promjene u ekosustavima izazvane onečišćenjem, koji su nastali antropogenim utjecajem na okoliš. Cilj ovakvog praćenja je rano otkrivanje i prepoznavanje nepovoljnih promjena u okolišu uzrokovanih ljudskim djelovanjem (16-17).

U biomonitoringu se koriste brojni testovi za procjenu ukupne toksičnosti staništa. Testovi koji se koriste u tu svrhu nazivaju se biotestovi ili testovi toksičnosti. Pomoću tih testova procjenjuje se utjecaj djelovanja istraživanih uzoraka ili kemikalija na stanicu ili organizam, odnosno njihova citotoksičnost kao i i genotoksičnost. Stoga se u biotestovima mogu koristiti mikroorganizmi, stanice sisavaca, životinja i biljni organizmi. Uporaba različitih organizama pogodna je za korištenje zbog toga što organizmi biljnog i životinjskog podrijetla neće isto reagirati na onečišćenja. Osim toga uzima se u obzir i jednostavnost i efikasnost samog biotesta koji se koristi. Mnogo je biotestova koji se koriste u svrhu biomonitoringa, a neki od njih su Tubifeks test (organizam: *Tubifex tubifex*), Dafnia test (organizam: *Daphnia magna*), Gupi test (organizam: riba gupi), Test klijavosti (organizam: *Sinapis alba*), Lepidium test (organizam: *Lepidium sativum*), Allium cepa test (organizam: *Allium cepa*) (18-20).

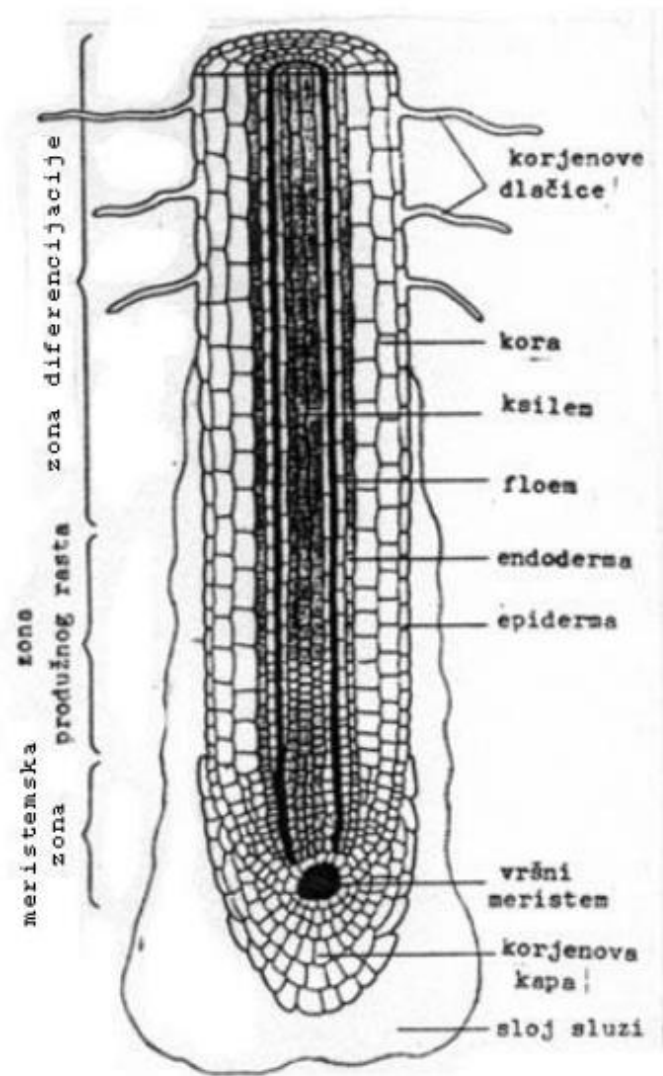
Postoje nekoliko vrsta biotestova, a najosnovnija je podjela na: statične, ponavljajuće i kontinuirane ili eksperimentalne testove. U statičnim biotestovima ispitivanja se provode u ispitivanom mediju (zraku ili vodi) koji se ne mijenja. Kod ponavljajućih biotestova ispitivani medij se povremeno mijenja, dok se kod kontinuiranih ili eksperimentalnih testova ispitivani medij mijenja kontinuirano kroz ispitivanje citotoksičnosti (21).

1.5. *Allium cepa* test

Allium cepa test kao testni organizam za procjenu kvalitete površinskih voda koristi biljku luk ili *Allium cepa* L. Ovaj organizam idealan je za evaluaciju zagađenja slatkovodnih ekosustava zbog prisutnosti enzima koji ima sposobnost pretvorbe promutagena u mutagen. Upravo zbog toga ovaj test se dugi niz godina koristi za ispitivanje citotoksičnosti, ali i genotoksičnosti slatkovodnih staništa. Osim toga ova biljka je idealni testni organizam zbog brzog rasta korijena, lake kultivacije i jednostavnosti primjene (22-24).

Meristemska zona luka okarakterizirana je stanicama koje imaju vrlo učestalu diobu, te su one vrlo osjetljive na spojeve koji uzrokuju citotoksičnost. Prisutnost kemijskih spojeva u slatkovodnim ekosustavima rezultirat će inhibicijom ili usporenim rastom meristemskih stanica (slika 2.) (25).

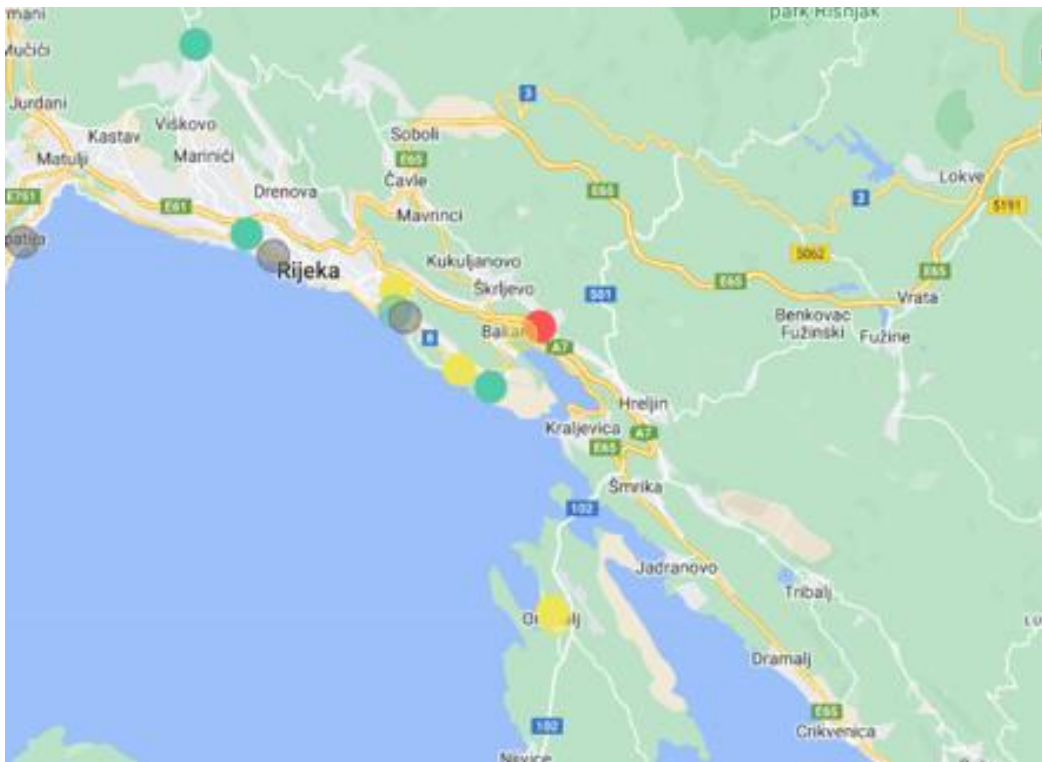
Supresija rasta korijena luka ali i mitotski indeks su mjere pomoću kojih se može procijeniti prisustvo citotoksične tvari u istraživanom uzorku. Mitotski indeks nam omogućuje procjenu frekvencije dijeljenja stanica, a ovisi o ukupnom razvoju korijena biljke. Rast korijena bit će sporiji od kontrolnog uzorka (pitka voda) ako testirani uzorak ima veće razine citotoksičnih spojeva budući da će niži mitotski indeks ukazivati na sporiji rast korijena (25-26).



Slika 2. Izgled korijena luka i njegova podjela (preuzeto: Fiziologija bilja, Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet)

1.6. Karakteristike ispitivanog područja

Krasica je naseljeno mjesto u Hrvatskoj, a nalazi se na području općine Bakar, na nadmorskoj visini od oko 190 m. Klima na ovom području je umjereno topla i vlažna, što pogoduje bioraznolikosti ovoga kraja. Krasica se nalazi u blizini nekoliko većih i prometnijih prometnica što dovodi do znatnijeg zagađenja zraka na tom području. Osim toga zbog strujanja zraka i lokacije samog naselja, često je izložena i utjecajem različitih industrija kako danas tako i u prošlosti, koje također negativno utječu na kvalitetu zraka na toj lokaciji (slika 3.) (27-30).



Slika 3. Položaj Krasice (preuzeto: <https://iszz.azo.hr/iskzl/postaja.html?id=243>)

Na područje grada Bakra i okolice intenzivno je utjecao rad i prisustvo koksare u razdoblju od 1971.-1994. (slika 4.). Proizvodio se koks koji je vrlo kalorično gorivo dobiveno umjetnim putem. Postupak dobivanja zasniva se na suhoj destilaciji kamenog ugljena ili lignita uz apsolutni ili kratkotrajni nedostatak zraka. Riječ je o tvrdoj, poroznoj tvari, koja je dobivena zagrijavanjem ugljena do vrlo visokih temperatura uz odsustvo zraka, a koristi se u dobivanju čelika, ali i željeza u visokim kotlovima. Dimnjak koksare srušen je tek 2005. godine, a posljedice na stanovništvo i

okoliš se osjete i danas. Potpuno uklanjanje i čišćenje svih objekata koksare završeno je tek 2019. godine što je znatno utjecalo na ekološko onečišćenje ovoga kraja (31.-32.)



Slika 4. Dimnjak koksare u Bakru (preuzeto: <https://www.novilist.hr/rijeka-regija/rijeka/bakru-otvorena-vrata-jaceg-razvoja-završen-likvidacijski-postupak-tvrtke-koksar-d-o-o/>)

U Zavodu za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije svakodnevno se vrši kontrola zraka na područjima Urinj, Paveki i Krasica. Određuje se vrijednost lebdećih čestica (PM_{10} i $PM_{2.5}$), koncentracije ozona, ugljikova monoksida, dušikovog dioksida, sumporovog dioksida... Procjena kvalitete zraka na području Republike Hrvatske svrstava se u dvije kategorije, pa tako razina 1 predstavlja bolju kvalitetu zraka, a na području Krasice kvaliteta zraka je na 2. razini. Upravo zbog toga važno je i dalje pratiti i kontrolirati kvalitetu zraka zbog prisutnosti različitih zagađivača na ovom području (27-30).

2. Cilj rada

Mjesto Krasica obzirom na svoj položaj u odnosu na prometnice i industrijska postrojenja koja se nalaze u okolici nije izuzeta od globalnog problema današnjice, a to je zasigurno na prvom mjestu, onečišćenje zraka. Obzirom na ciklus kruženja vode u prirodi, površinske vode sadrže i onečišćivače koji se primarno nalaze u atmosferi kao i one koji se slijevaju s površine. Lokve u okolici Krasice imaju važnu ulogu o očuvanju bioraznolikosti jer su stanište za razmnožavanje, rast i razvoj mnogobrojnih kukaca, gmazova i vodozemaca, ali i izvor vode za piće za mnogobrojne divlje životinjske vrste. Citotoksični agensi prisutni u lokvama dugoročno ili kratkoročno mogu imati utjecaj na spomenute vrste, a time i na bioraznolikost istraživanog područja.

Zato je cilj ovog istraživanja procijeniti ekološku kvalitetu voda dviju krških lokvi na području Krasice upotrebom *Allium cepa* testa.

Specifični ciljevi rada su:

- odrediti fizikalno-kemijske karakteristike vode (temperatura i pH vrijednosti)
- utvrditi kvalitetu zraka na postaji Krasica u razdoblju od 24.4.2023. do 29.4.2023. godine na temelju podataka s internetske stranice Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije <https://zzjzpgz.hr/usluge/monitoring/kvaliteta-zraka>
- procijeniti citotoksičnost vode u lokvama na dva lokaliteta Hroljevo i Veternjak na osnovi rasta meristemskih stanica korjenčića luka
- odrediti frekvenciju inhibicije rasta korjenčića luka i tip vode.

3. Materijali i metode

3.1. Mjesto uzorkovanja

Za uzorkovanje vode odabrane su dvije lokve na području Krasice, općina Bakar, koje se nalaze sjeverno istočno od mjerne stanice za kvalitetu zraka (<https://iszz.azo.hr/iskzl/postaja.html?id=243>) u smjeru vjetrova (jugozapad – sjeveroistok). Lokva Hroljevo smještena je na nižoj nadmorskoj visini od lokve Veternjak, te je lokva antropogenog podrijetla, dok je lokva Veternjak prirodnog nastanka. Obje su okružene urbaniziranim naseljem te se nalaze pod umjerenim antropogenim utjecajem. Upravo zbog svog položaja čest su izvor nepropisnog i nepravilnog odlaganja otpada (slika 5.), te su podložnije sukcesiji (slika 6.).



Slika 5. Otpad u lokvi Hroljevo



Slika 6. Sukcesija lokve Veternjak

Uzorkovanje je provedeno 29.4.2023. na lokalitetu Veternjak u 11:03 (slika 7.), te Hroljevo u 11:27 (slika 8.). Vrijeme je bilo sunčano sa temperaturom zraka od 20⁰C, tjedan kojem je prethodilo uzorkovanje je bio kišan. Uzorak vode je uzet je u plastične boce (slika 9.).



Slika 7. Mjesto uzorkovanja: Veternjak (29.4.2023)



Slika 8. Mjesto uzorkovanja Hroljevo (29.4.2023)



Slika 9. Primjer uzetog uzorka vode

3.2. Materijali

Za provedbu Allium cepa testa, lukovice su kupljene u trgovini Interspar, iz bio uzgoja proizvedenih u Nizozemskoj (slika 10.). Također u ispitivanju su korištene staklene posude od 0.3 L (slika 11.) i otopina bakar (II) sulfata koja je pozitivna kontrola.



Slika 10. Opis proizvoda za testiranje



Slika 11. Staklena posuda korištena za rast korjenčića luka

3.3. Metode

3.3.1. *Allium cepa* test

Lukovicama luka oprezno ispod vode odstraniti stari korijen i ostatke zemlje. Svaku lukovicu potom nasaditi u vodovodnu vodu tijekom 2 dana, pratiti klijanje i porast korijena (slika 12.). Tijekom klijanja potrebno je mijenjati vodu dva puta dnevno.



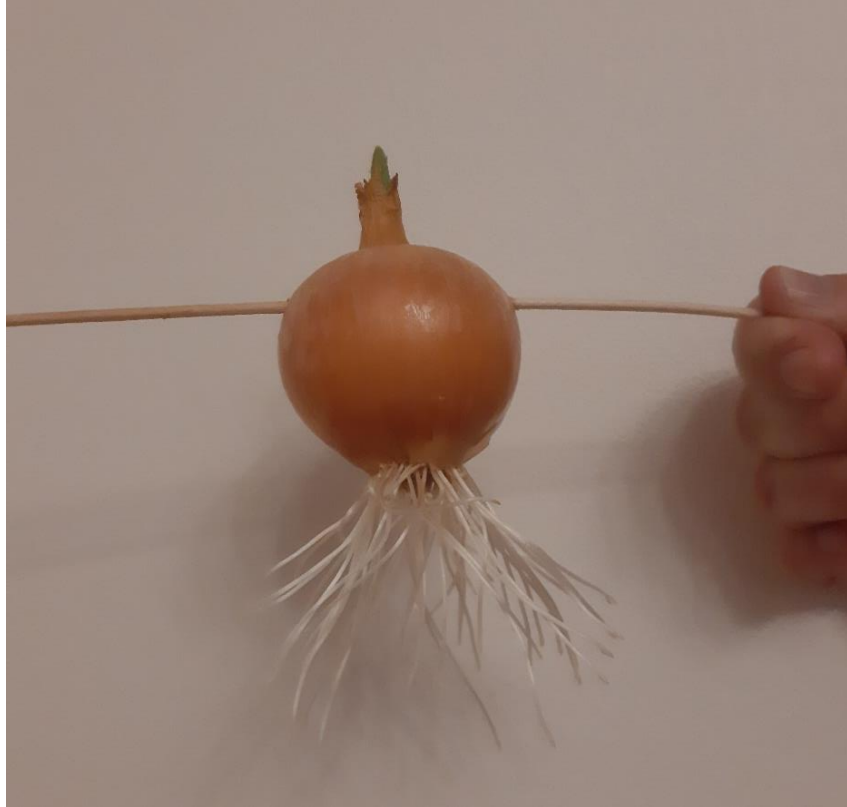
Slika 12. Porast korijena luka nakon dva dana u vodovodnoj vodi

Nakon 2 dana korjenčići luka proključaju na dužinu od 1,5-2 cm, lukovice sa sličnom duljinom korijena uzimaju se dalje za istraživanje, dok se ostale s izrazito duljim ili kraćim krojenima odbacuju (tablica 1.). Te vrijednosti korištene su dalje za izračunavanje porasta korijena luka u uzorcima voda.

Tablica 1. Prikaz porasta korijena luka tijekom dva dana izražen u cm

Prosječna duljina korijena nakon dva dana u vodovodnoj vodi	
Redni broj luka	duljine korijena/ cm
1	1,75
2	1,50
3	1,75
4	1,25
5	2,50
6	2,00
7	2,25
8	2,50
9	2,25
10	2,75
11	1,50
12	1,75
13	2,00
14	1,50
15	1,75
16	1,75

Prihvatljivim lukovicama odredi se duljina korijenja te se set od po četiri lukovice nasadi u četiri staklene posude. Ta svaki od slijedećih uzoraka: negativna kontrola (pitka vodovodna voda iz slavine) (slika 13.), uzorak 1 (Veteršnjak) (slika 14.), uzorak 2 (Hroljevo.) (slika 15). Njihov rast korijena prati se kroz 72 h.



Slika 13. Porast korijena luka tijekom 72 h u uzorku vodovodne vode



Slika 14. Porast korijena luka tijekom 72 h u uzorku vode s lokve Veternjak



Slika 15. Porast korijena luka tijekom 72 h u uzorku vode s lokve Hroljevo

Nakon kultiviranja lukovica tijekom 72 h izmjerena je dužina svakog korjenčića iz uzoraka koristeći milimetarski papir i ravnalo. U svakom uzorku lukovice odabrano je 10 reprezentativnih korjenčića, izračunata je srednja vrijednost za svaku lukovicu izražena u cm i rast korijena izražen u postotku s obzirom na razliku rasta negativne kontrole (100%).

Određivanje inhibicije rasta (IR) računa se pomoću podataka o postotku vrijednosti rasta korijena.

$$\%IR = 100\% - \% \text{ rasta korjenčića u odnosu na kontrolu}$$

Pomoću ovog podataka može se odrediti stupanj toksičnosti vode (tablica 2.).

Tablica 2. Stupanj toksičnosti ovisno o inhibicija rasta korijena

Stupanj toksičnosti	Inhibicija rasta korijena (%)
Eutoksičnost	90-100
Politoksičnost	70-90
α -mezotoksičnost	50-70
β -mezotoksičnost	30-50
oligotoksičnost	0-30

3.3.2. Određivanje fizikalno kemijskih karakteristika lokava

Prilikom uzorkovanja lokvi Veternjak i Hroljevo, na lokacijama se određivao pH i temperatura vode u lokvama. Isti parametri mjerili su se i kod negativne kontrole (pitke vodovodne vode iz slavine). Temperatura i pH izmjereni su pomoću „pH/TEMP-METER“ (slika 16.).



Slika 16. Uređaj za mjerenje temperature i pH vode (preuzeto: <https://www.probus.hr/trgovina/analiza-vode/ph-metri/4-u-1-ph-metar-pkt-5307-za-ph-ec-tds-temp/>)

Određivanje ovih parametara se koristilo za utvrđivanje tipa staništa po Nacionalnoj klasifikaciji Republike Hrvatske. Osim toga povišena temperatura u lokvama snižava kapacitet vode za otopljenim kisikom, ali ubrzava biološke procese.

3.3.3. Statistička analiza

Računalni program Social Science Statistics (<https://www.socscistatistics.com/>) i TIBCO Software Inc. (2020) Data Science Workbench, version 14. <http://tibco.com>. korišten je pri statističkoj obradi podataka. Razlike u rastu korijena luka testirane su t – testom za neovisne varijable i one-way ANOVA testom za više skupina. Statistički značajnim smatrani su rezultati koji su imali razliku na razini $p < 0,05$.

4. Rezultati

4.1. Određivanje fizikalno kemijskih karakteristika vode

Rezultati mjerenja fizikalno-kemijskih svojstava vode lokve Hroljevo i Veternjak prikazani su u tablici 3. Također izmjerene su iste vrijednosti i za pitku vodu temperatura je iznosila 19,5⁰C, a pH 7,65. Prema Nacionalnoj klasifikaciji Republike Hrvatske na temelju ovih parametara obje lokve imaju eutrofnu vodu.

Tablica 3. Temperatura i pH vrijednost

Uzorak	Temperatura (°C)	pH
Hroljevo	16,4 ⁰ C	7,43
Veternjak	15,8 ⁰ C	7,32

4.2. Kvaliteta zraka na području Krasice

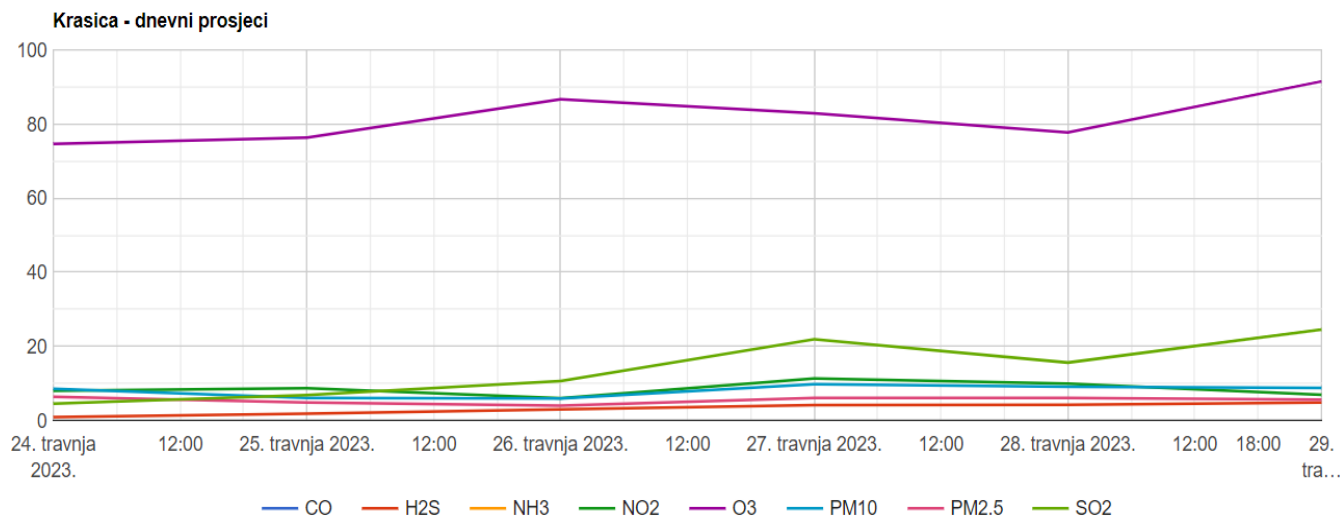
Tablica 4 prikazuje prosječne dnevne vrijednosti pojedinih zagađivača zraka na području Krasice na dan uzorkovanja (29.4.2023.), ali i za prethodne dane prije samog uzorkovanja (graf 1) (32) Razina indeksa na osnovi koncentracije u µg/m³ za H₂S je vrlo loša na dan uzorkovanja i za dane prije uzorkovanja vode (4.1-4.8). Također zabilježene su i povišene vrijednosti ozona (O₃) u atmosferi te su one svrstane u umjerena onečišćenja zraka (32).

Tablica 4. Koncentracije plinova ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) u atmosferi na mjernoj postaji Krasica u razdoblju od 24. travnja do 29. travnja 2023. godine.

Postaja Krasica						
Datum	H ₂ S	NO ₂	O ₃	PM ₁₀	PM _{2.5}	SO ₂
24.4.2023.	0.9	8	74.6	8.5	6.4	4.5
25.4.2023.	1.8	8.7	76.3	6.1	4.8	6.8
26.4.2023.	3	6	86.7	5.9	4	10.6
27.4.2023.	4.1	11.3	82.9	9.8	6.1	21.6
28.4.2023.	4.2	9.9	77.7	9.1	6.1	15.6
29.4.2023.	4.8	6.9	91.5	8.8	5.6	24.6

Razina indeksa (na osnovi koncentracije u $\mu\text{g}/\text{m}^3$) žuto: umjereno; ružičasto: loše; crveno: vrlo loše

Graf 1. Promjene u koncentraciji plinova u atmosferi na području Krasice



4.3. Određivanje inhibicije rasta korijena luka

U tablici 5 prikazana je srednja vrijednost i standardna devijacija rasta korijena luka u testiranom uzorku vode lokava i kontrolnoj pitkoj vodi. Određen je smanjeni rast stanica korijena luka u uzorku vode s Lokve Veternjak, a i u uzorku vode s Lokve Hroljevo u usporedbi s negativnom kontrolom odnosno pitkom vodom.

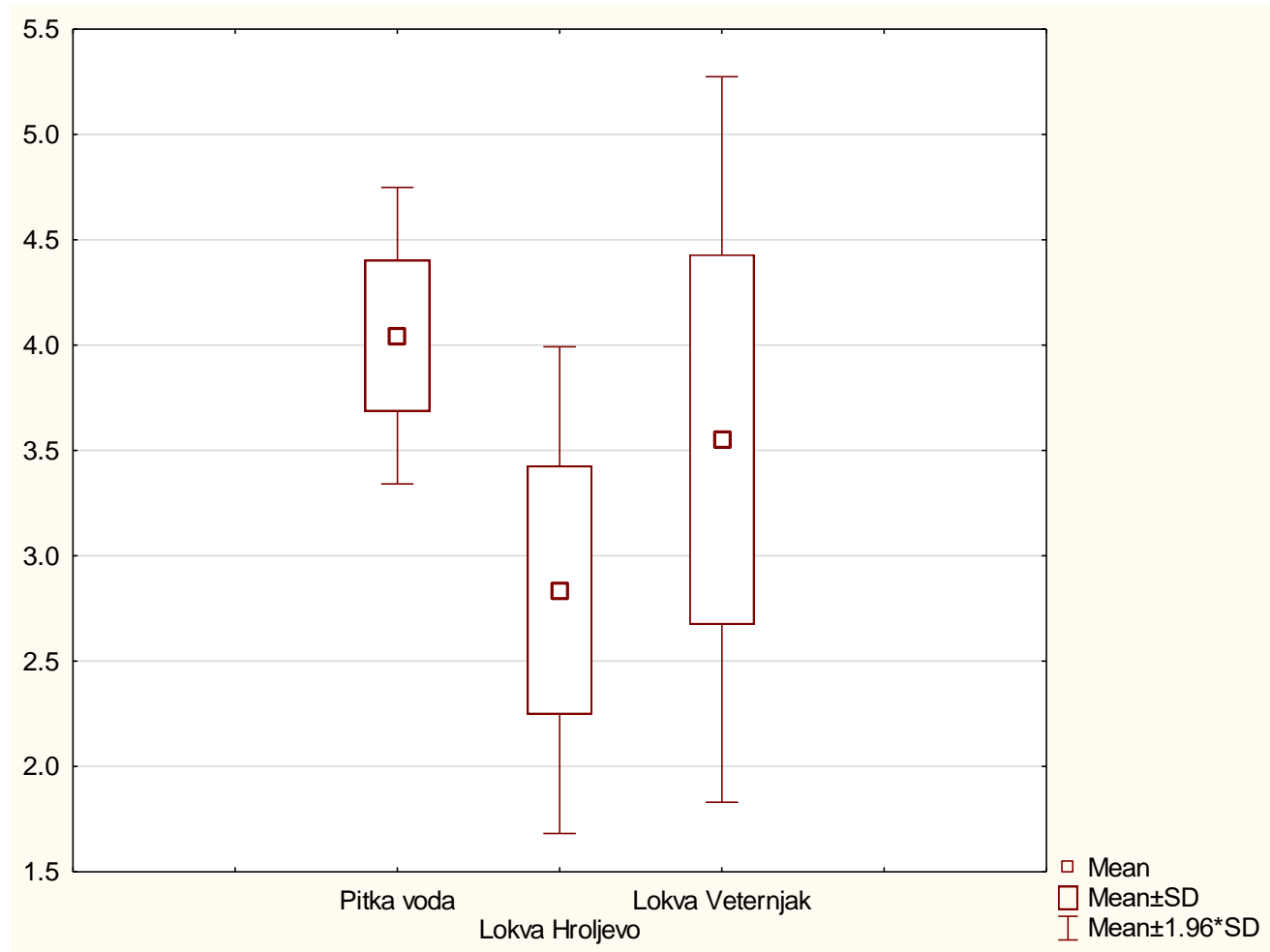
Tablica 5. Prikaz srednje vrijednosti i standardne devijacije te učestalosti rasta korijena u testiranim uzorcima vode

Uzorak:	Broj lukovica	Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Rast korijena (%)
Lokva Veternjak	4	3,55	0,88	88
Lokva Hroljevo	4	2,83*	0,56	70
Pitka voda – negativna kontrola	4	4,04	0,35	100

*statistički značajno u odnosu na negativnu kontrolu ($p < 0,05$)

Statistički značajno smanjeni rast korijena luka detektiran je u lukovica koje su tretirane uzorkom vode iz lokve Hroljevo u odnosu na kontrolnu pitku vodu ($p = 0,013$) (graf 2.). Razlike u rastu korjenčića luka između testiranih lokava kao ni između lokve Veternjak i pitke vode nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$).

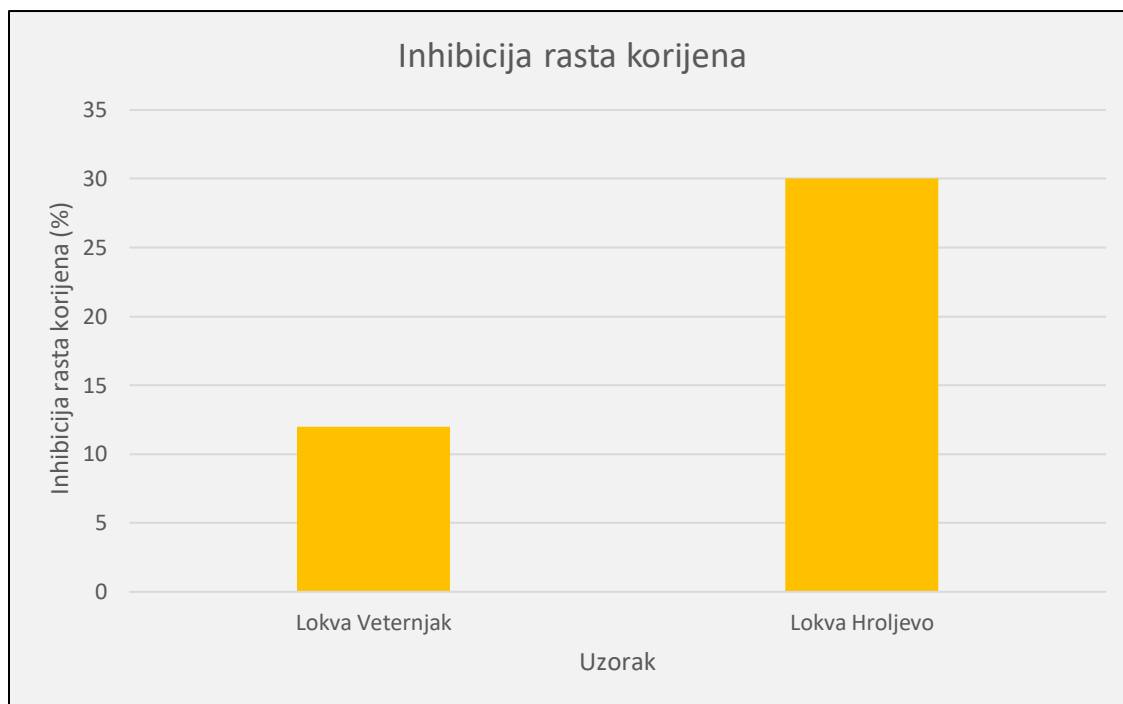
Graf 2. Promijene u rastu korijena luka za obje lokve



4.4. Učestalost inhibicije rasta korijena luka

Graf 3 pokazuje učestalost inhibicije rasta korijena luka koja je najveća u vodi lokve Hroljeva i iznosi 30% u odnosu na pitku vodu, dok je u lokvi Veternjak 12%. Voda lokve Hroljevo spada u β -mezotoksičnu vodu (umjereno toksične vode), dok voda lokve Veternjak spada u oligotoksičnu vodu (malo toksične vode) (33).

Graf 3. Inhibicija rasta korijena luka



5. Rasprava

U ovom radu je po prvi puta procijenjena citotoksičnost vode lokava Veternjak i Hroljevo na području Krasice koje su stanište mnogih insekata, a koriste ih i divlje životinje kao izvor pitke vode. Istraživanju se pristupilo zbog važnosti očuvanja i zaštite tih povremenih vodenih staništa i podizanja usluge ekosustava s ciljem održavanja bioraznolikosti obzirom da je to stanište pod pritiskom negativne sukcesije, odnosno zarastanja i nestanka.

Prema Nacionalnoj klasifikaciji staništa Republike Hrvatske stajaćice dijelimo i diferenciramo prema pH vrijednosti pa prema tom kriteriju obje ispitivane lokve imaju eutrofnu vodu. Temeljem uredbe o klasifikaciji vode, vrsta vode se određuje temeljem ekološke kakvoće voda, a namijenjen je za sve površinske vode (vodotoci, prirodna jezera, akumulacije i drugo) ali i za podzemne vode te mora (34). Prema toj uredbi karakteristika eutrofnih voda stajaćica je da je to prljavo siva do plavo-zelena zamućena voda koja nastaje zbog prisutnosti velikih količina fitoplanktona. Osim toga iznimno su bogate otopljenim alkalijama (pH tipično > 7), hranjivim tvarima (6). Razina trofije odnosi se na jačinu primarne produktivnosti kopnenih voda a obuhvaća oligotrofiju, mezotrofiju, umjerenu eutrofiju, eutrofiju i hipertrofiju. Eutrofna voda prihvaća visoke koncentracije organskih i anorganskih hranjivih tvari i ima nisku razinu prozirnost. U vodi se nalazi velika količina α -mezo-saprofitnih indikatora, te saprofitnih i koliformnih bakterija. Cvjetanje algi često se događa na površini stajaće vode, a uzrokovano je planktonskim algama te je najčešće pokazatelj drugih vrsta kopnenih voda. Pojačana razgradnja organske tvari ponekad može uzrokovati hipoksiju, a time i uginuće organizama, osobito prilikom plime kod stajaćih voda (34).

Osnovni abiotički čimbenik koji može biti ograničavajući čimbenik za održavanje biocenoze lokava je temperatura. Povećanjem temperature dolazi do smanjene sposobnosti vode za otapanjem plinova iz atmosfere, međutim povećanjem temperature ubrzavaju se biološki procesi u vodama, što zapravo ima dvosmjerno djelovanje. Naime ubrzanje bioloških procesa može rezultirati bržom potrošnjom otopljenih plinova u vodi, pa tako i kisika što može dovesti do hipoksije i uginuća organizama (35). Osim toga izmjerene vrijednost temperature utječu i na otapanje drugih plinova iz atmosfere u vodu, pa su tako na dan uzorkovanja izmjerene povećane vrijednosti određenih plinova u atmosferi na području Krasice. Srednja dnevna vrijednost koja je

najviše odstupala od prihvatljive na dan uzorkovanja ali i za dane koji su prethodili uzorkovanju odnosila se na vrijednost sumporovodika. Prema razini indeksa na osnovi koncentracije u $\mu\text{g}/\text{m}^3$ za H_2S , kvaliteta zraka je vrlo loša. Također zabilježene su i povišene vrijednosti ozona (O_3) u atmosferi koje ukazuju na umjerena onečišćenja zraka. Ostale vrijednosti koje su mjerene svrstane su prema razini indeksa u kategoriju dobre kvalitete zraka. S obzirom na vrijednosti temperature koje su zabilježene za navedene datume (tablica 4) možemo procijeniti da su se u lokvama također nalazili navedeni otopljeni plinovi u sličnim koncentracijama što svakako doprinosi i ekološkoj kvaliteti vode, a time može biti i uzrokom citotoksičnosti voda analiziranih lokava (32).

Mjerenjem rasta korijena luka u uzorcima vodovodne vode, vode iz lokava Hroljevo i Veternjak tijekom 72 h utvrđena je najveća inhibicija rasta korijena u uzorku vode s lokve Hroljevo. Veća inhibicija porasta stanica korijena luka je uočena na lokaciji lokve Hroljevo u usporedbi s lokvom Veternjak. Statistički značajan ($p < 0,05$) porast korijena luka zabilježen je u uzorku vode s lokve Hroljevo u odnosu na negativnu kontrolu tj. na pitku vodu. Inhibicija rasta korijena luka u uzorku vode s lokve Veternjak nije bila statistički značajna.

Statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u rastu korijena luka zabilježena je između uzorka vode iz lokve Hroljevo u odnosu na negativnu kontrolu tj. na pitku vodu. Rast korijena luka u uzorku vode s lokve Veternjak u odnosu na rast korijena u vodi lokve Hroljevo i kontrolnoj vodi nije bio statistički značajan ($p > 0,05$). Također za lokvu Hroljevo utvrđena je i značajna inhibicija rasta korijena. Učestalost inhibicije rasta korijena luka u uzorku vode s lokve Hroljevo iznosila je 30%, što ukazuje da ova lokva prema stupnju toksičnosti pripada u skupinu β -mezotoksičnih voda (umjereno toksičnih voda). U β -mezotoksičnim vodama biocenoza je oštećena, jer opstaju samo najrezistentnije vrste. Nadalje, učestalost inhibicije lokve Veternjak iznosila je 12%, a prema stupnju toksičnosti ova voda spada u skupinu oligotoksičnih voda tj. malo toksičnih voda (33). Ove vrijednosti ukazuju na veći stupanj citotoksičnosti lokve Hroljevo i potencijalno prisutnost otopljenih plinova u lokvi u većoj koncentraciji u odnosu na vodu iz lokve Veternjak. Blizina prometnica, prisustvo industrija (kako danas tako i prije), blizina luke Bakar za rasuti teret i nepropisno odlaganje otpada mogli bi biti jedan od mnogih razloga ovakvih rezultata prisutnosti citotoksičnih tvari u značajnoj količini na obje lokacije na području Krasice. Nadalje, lokva Hroljevo, za razliku od lokve Veternjak je antropogenog podrijetla. Međutim sve većim napuštanjem stočarstva na ovom području potreba za ovom lokvom kao izvorom vode za stoku se

smanjila, te je ova lokva često mjesto nepropisnog odlaganja otpada što sigurno utječe na prisustvo citotoksičnih tvari u značajnijoj količini u ovoj lokvi u odnosu na lokvu Veternjak. (slika 5). Naime, lokva Veternjak je prirodnog podrijetla te je sklona čestim presušivanjem. Zbog svog položaja nepristupačnija je ljudima te je idealna kao izvor vode za divlje životinje. Međutim zbog svojega položaja i strujanja zraka podložna je onečišćenju, a tome je razlog upravo onečišćenje zraka koje nastaje pod utjecajem industrija na ovom području. Osim navedenog zbog svoje nepristupačnosti prijeti joj zarastanje s okolnom biljnom vegetacijom, sukcesija, a na posljertku i nestajanje (slika 6). Ovaj proces mogao bi ugroziti bioraznolikost ovoga područja zbog nedostatka izvora vode.

Kao što je i prije navedeno povremene mediteranske lokve spadaju među prioritetne stanišne tipove Europske ekološke mreže Natura 2000. Krške lokve su staništa brojnim vodenim i močvarnim biljnim ali i životinjskim vrstama. Osim toga izvor su hrane i vode brojnim drugim vrstama čime uvelike pridonose biološkoj raznolikost područja. Upravo u tu svrhu osmišljeni su brojni projekti na području Republike Hrvatske, ali i na području Primorsko-goranske županije čiji je osnovni cilj održavanje lokava i sprječavanje njihove sukcesije radi očuvanja biljnog i životinjskog svijeta ovoga kraja. Projekt „Lokna“ već duži niz godina bavi se održavanjem i edukacijom stanovništva o važnosti lokava za cijelo područje otoka Krka. Osim navedenog bavi se i mapiranjem lokava na otoku i proučavanjem biljnih i životinjskih vrsta koje su usko vezane za lokve (9). U parku prirode Učka od ove godine započeo je projekt „*Still water revival*“ koji također radi na promoviranju lokava kao važnog staništa na području parka za održavanje i očuvanje bioraznolikosti (13). Očuvanje krških lokava vrlo je važno u cijeloj Primorsko-goranskoj županiji pa tako i na području Krasice i grada Bakra. Danas se sve više susrećemo s uništavanjem lokava i njihovim namjernim zatrpavanjem radi pretvorbe terena u građevinsko zemljište, a očuvanje bioraznolikosti, kulturno-povijesne baštine kraja stavlja se u drugi plan i često se zaboravlja. Održavanje krških lokava nije samo važno za zaštitu prirode, nego također može biti popularno izletište i mogućnost rekreacije za sve ljubitelje prirode, ali i za ljubitelje povijesti i kulture krškoga kraja. Ovo istraživanje sigurno je podloga za daljnja istraživanja tog značajnog staništa.

6. Zaključci

Temeljem dobivenih rezultata zaključujemo da je:

- 1.) Statistički značajna razlika u rastu korijena luka utvrđena u uzorcima vode iz lokve Hroljevo s obzirom na negativnu kontrolu što ukazuje na mogućnost prisutnosti citotoksičnih tvari u vodi.
- 2.) Utvrđenim stupnjem inhibicije rasta korijena luka utvrđeno je da voda iz lokve Hroljevo spada u skupinu β -mezotoksičnih voda što upućuje na umjereno toksičnu vodu. Također mjerenjem pH vode u lokvi Hroljevo utvrđeno je da lokva spada u eutrofno stanište.
- 3.) Utvrđenim stupnjem inhibicije rasta korijena luka utvrđeno je da voda iz lokve Veternjak spada u oligosaprobne vode što ukazuje na slabo onečišćenu vodu. Također mjerenjem pH vode u lokvi Veternjak utvrđeno je da lokva spada u eutrofno stanište.
- 4.) Na dan uzorkovanja kao i za cijeli tjedan prije uzorkovanja, na postaji za praćenje kvalitete zraka Krasica zabilježene su povišene vrijednosti sumporovodika (vrlo loše) kao i ozona (umjereno).
- 5.) Rezultati ukazuju na važnost biomonitoringa ispitivanih lokava te potrebu za sustavnim praćenjem i daljnjim istraživanjima u svrhu nadzora nad kvalitetom okoliša s ciljem održavanja bioraznolikosti staništa.

7. Literatura

1. Voda, Hrvatska enciklopedija, (Internet). Leksikografski zavod Miroslav Krleža, (ažurirano:2021.)(citirano:12.7.2023.)
dostupno:<http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=65109>
2. Britannica.org: Water, (Internet) (citirano: 12.7.2023.) (ažurirano: 26.6.2023.) dostupno: <https://www.britannica.com/science/water>
3. Verones F, Saner D, Pfister S, Baisero D, Rondinini C, Hellweg S. Effects of consumptive water use on biodiversity in wetlands of international importance. Environ Sci Technol. Environ. Sci. Technol. 2013 , 47 , 21 , 12248-12257 (Internet) 2. listopada 2013 (citirano: 27.6.2023.) dostupno: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es403635j>
4. Schlattmann A, Neuendorf F, Burkhard K, Probst E, Pujades E, Mauser W, Attinger S, von Haaren C. Ecological Sustainability Assessment of Water Distribution for the Maintenance of Ecosystems, their Services and Biodiversity. Environ Manage. (Internet) 2022 Aug; (citirano:27.6.2023.) dostupno: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35699739/>
5. Narodne novine: Pravilnik o popisu stanišnih tipova i karti staništa, NN 27/2021 (Internet) (ažurirano: 17.3.2021.) (citirano:12.6.2023.)
Dostupno: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2021_03_27_588.html
6. Nacionalna klasifikacija staništa RH (III. dopunjena verzija), 2009. (Internet) (ažurirano: 18.6.2013.)(citirano:12.6.2023.)
dostupno:<https://www.yumpu.com/xx/document/read/16271127/nacionalna-klasifikacija-stanista-rh-iii-dopunjena-verzija>
7. Barberio A. Bioassays with Plants in the Monitoring of Water Quality [Internet]. Water Treatment. InTech; 2013. (citirano: 15.6.2023.) dostupno: <http://dx.doi.org/10.5772/50546>
8. Anita Štrkalj ONEČIŠĆENJE I ZAŠTITA VODA (Internet) 2014. (citirano: 15.6.2023) dostupno: https://arhiva.simet.hr/hr/nastava/predavanja/preddiplomski-sveucilisni-studij-metalurgija/3-godina-preddiplomskog-studija/oneciscenje-i-zastita-voda/at_download/file
9. Krške lokve- Lokna, Javna ustanova prirode (Internet) (ažurirano:5.4.2015.) (citirano: 12.6.2023.) dostupno: <https://ju-priroda.hr/wp-content/uploads/2018/02/Karst-ponds-and-marsh-springs.pdf>

10. RH Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja, Zavod za zaštitu okoliša i prirode, Bioraznolikost (Internet) (ažurirano: 22.11.2017.) (citirano: 14.6.2023.) dostupno: <https://www.haop.hr/hr/tematska-podrucja/prirodne-vrijednosti-stanje-i-ocuvanje/bioraznolikost>
11. Krške lokve, Javna ustanova prirode (Internet) (citirano: 14.7.2023.) (ažurirano: 22.3.2023.) dostupno: <https://ju-priroda.hr/wp-content/uploads/2018/07/Krske-lokve-smanjeno.pdf>
12. Biomonitoring: Air Pollution Information System (Internet) (ažurirano: 13.4.2016.) (citirano: 17.6.2023.) dostupno: https://www.apis.ac.uk/overview/issues/overview_biomonitoring.htm
13. PP UČKA STILL WATER REVIVAL (Internet) (ažurirano: 30.6.2023.) (citirano: 12.7.2023.) dostupno: <https://www.pp-ucka.hr/projekt-still-water-revival>
14. Ekološka udruga Čiopa, Krške lokve (Internet) (ažurirano: 8.10.2012.) (citirano: 12.7.2023.) dostupno: http://www.ciopa.hr/krske_lokve.htm
15. European environment agency, U EU-u se broj preuranjenih smrti zbog onečišćenja zraka i dalje smanjuje, no potrebni su veći naponi za stvaranje netoksičnog okoliša (Internet) (ažurirano: 10.2.2021.) (citirano: 13.7.2023.) dostupno: <https://www.eea.europa.eu/highlights/u-eu-u-se-broj>
16. Državni hidrometeorološki zavod, Kvaliteta zraka u Republici Hrvatskoj (Internet) (ažurirano: 13.7.2023.) (citirano: 13.7.2023.) dostupno: https://meteo.hr/index_kz.php?tab=kz
17. Što je to biomonitoring? (Internet) (ažurirano: 29.10.2013.) (citirano: 18.6.2023.) dostupno: <http://www.bioteka.hr/modules/lexikon/entry.php?entryID=290>
18. European Agency for Safety and Health at Work, Definition of biomonitoring (Internet) (ažurirano: 1.9.2020.) (citirano: 17.6.2023.) dostupno: [https://oshwiki.eu/wiki/Biological_monitoring_\(biomonitoring\)](https://oshwiki.eu/wiki/Biological_monitoring_(biomonitoring))
19. Radić S, Stipanicev D, Vujčić V, Rajčić MM, Sirac S, Pevalek-Kozlina B. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the Allium cepa test. Sci Total Environ. 2010;408(5):1228-1233. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.11.055 (Internet) 1.2.2010. (citirano: 17.6.2023.) dostupno: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20018345/>

20. Bioassay Encyclopedia.com (Internet) (ažurirano: 18.5.2018,) (citirano:13.7.2023.)
dostupno:<https://www.encyclopedia.com/medicine/divisions-diagnostics-and-procedures/medicine/bioassay>
21. Ursula Cowgill; author; Adams, Chapman, Landis; editors; Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, (Internet) 10th edition, Eighth Symposium: a Symposium, Philadelphia, 1985., pp 193-212. (ažurirano:1998.) (citirano:1.7.2023.), dostupno:
https://books.google.hr/books?hl=hr&lr=&id=ObKeIJ8YHc8C&oi=fnd&pg=PA191&dq=%20dynamic+and+static+bioassays&ots=aM-Xdr0RC5&sig=IgseFh9xnoARIA69df848UorfXE&redir_esc=y#v=onepage&q=dynamic%20and%20static%20bioassays
22. Leme DM, Marin-Morales MA. Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. Mutat Res. 2009;682(1):71-81. doi:10.1016/j.mrrev.2009.06. (Internet) 2.7.2009. (citirano:5.7.2023.) dostupno: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19577002/>
23. Praktikum iz fiziologije bilja, Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet (Internet), Sarajevo 2012 (citirano: 3.7.2023.)
Dostupno: <https://www.scribd.com/doc/311756362/Praktikum-Fiziologija-biljaka>.
24. Cooper,G.M., Hausman,R.E., Stanica molekularni pristup, Medicinska naklada, Zagreb, 2010.
25. Špoljar, M. et al. (2022). Small Standing-Water Ecosystems in the Transitional Temperate Climate of the Western Balkans. In: Pešić, V., Milošević, D., Miliša, M. (eds) Small Water Bodies of the Western Balkans. Springer Water. Springer, Cham. 19.11.2021. pp. 21–51 (citirano: 7.7.2023.) dostupno: https://doi.org/10.1007/978-3-030-86478-1_2
26. KVALITETA ZRAKA NA PODRUČJU PRIMORSKO-GORANSKE ŽUPANIJE (Internet) (citirano: 14.7.2023.) (ažurirano: 31.12.2022.) dostupno: <https://zzjzpgz.hr/publikacije/kvaliteta-zraka-na-podrucju-pgz-u-2022/>
27. Krasica među tri mjesta u Županiji sa onečišćenim zrakom (Internet) (ažurirano:29.4.2020.) (citirano: 14.7.2023.) dostupno: <https://tunera.info/krasica-medu-tri-mjesta-u-zupaniji-sa-oneciscenim-zrakom/>
28. The Weather Channel (Internet) (ažurirano: 14.7.2023.) (citirano: 14.7.2023.) dostupno:<https://weather.com/hr-HR/forecast/air-quality/l/c0fec675b6a0d2da273463b3734315ccdea454fdf0e57725c9e3ecaa695d764a>

29. Zakon o zaštiti zraka NN 127/19, 57/22 (Internet) (ažurirano: 28.5.2022.) (citirano: 14.7.2023.) dostupno: <https://www.zakon.hr/z/269/Zakon-o-za%C5%A1titi-zraka>
30. Bakru otvorena vrata jačeg razvoja: Završen likvidacijski postupak tvrtke Koksar doo (Internet) (ažurirano: 31.5.2023.) (citirano: 17.7.2023.) dostupno: <https://www.novilist.hr/rijeka-regija/rijeka/bakru-otvorena-vrata-jaceg-razvoja-završen-likvidacijski-postupak-tvrtke-koksar-d-o-o/>
31. Grad Bakar u velikom investicijskom zamahu, pokreće aktivnosti za osnivanje nove poduzetničke zone (Internet) (ažurirano: 20.3.2023.) (citirano: 17.7.2023.) dostupno: <https://www.poslovni.hr/domace/grad-bakar-u-velikom-investicijskom-zamahu-pokrece-aktivnosti-za-osnivanje-nove-poduzetnicke-zone-4382315>
32. Zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije Kvaliteta zraka (Internet) (ažurirano:29.7.2023)(citirano:29.7.2023.) dostupno: <https://zzjzpgz.hr/usluge/monitoring/kvaliteta-zraka/>
33. Sládecek, V. (1973) System of Water Analysis from the Biological Point of View. Archiv für Hydrobiologie-Beiheft Ergebnisse der Limnologie, 7, 1-218.
34. Uredba o klasifikaciji voda- Narodne novine NN 77/1998 (ažurirano: 2.6.1998.) (citirano: 29.7.2023.) dostupno: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/1998_06_77_1037.html
35. PASSERINI, M., D., CUNHA-SANTINO, M., B., BIANCHINI JR., I., 2016. Oxygen availability and temperature as driving forces for decomposition of aquatic macrophytes. Aquatic Botany 130: 1 – 10 (ažurirano: travanj 2016.) (citirano: 28.7.2023.) dostupno:<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304377015300322>

8. Životopis

Ema Arh rođena je 14.4.2000. godine u Rijeci. Pohađala je Osnovnu školu Bakar u Bakru koju je završila 2015. godine. Iste godine upisala je i Prirodoslovnu i grafičku školu smjer Prirodoslovna gimnazija koju je završila 2019. godine. U 2020. godini upisuje se na sveučilišni prijediplomski studij Sanitarnog inženjerstva na Medicinskom fakultetu u Rijeci.