

KLAPAVICE IN TOKSIČNE MIKROALGE

MUSSELS AND TOXIC MICROALGAE

Jožef Stefan
Trst



RUDBECKS-
GYMNASIET

TERENSKO DELO FIELD WORK

Razdelili smo se v sedem skupin, vsaka si je izbrala postajo raziskovanja in opravila različne analize.

Najprej smo s pomočjo GPS-a ugotovili točne koordinate kraja vzorčenja (Slika 1 in Tabela 1).

Nato smo izmerili tudi nekatere fizikalne parametre zraka (Tabela 1).

Za merjenje smo uporabili multiparametrsko sondo STANDARD SF-21 (Slika 2) in izmerili temperaturo, vlago in osvetljenost.



Skupina Group	Koordinate vzorčenja Sampling coordinates	Temperatura (°C) Temperature (°C)	Vlaga (%) Humidity (%)	Osvetljenost (Lux x 10) Brightness (Lux x 10)
A	N 45°40' 37" E 13° 45' 9"	30	57,5	816
B	N 45°40' 37" E 13° 45' 10"	29,8	58,3	850
C	N 45° 40' 37" E 13° 45' 09"	30	56,7	919
D	N 45°40' 37" E 13° 45' 10"	30,9	54	830
E	N 45° 40' 36" E 13° 45' 11"	30,6	55,5	1130
F	N 45°40' 37" E 13° 45' 10"	28,3	60,8	1300
G	N 45°40' 38" E 13°45'10"	28,9	46,8	n.r.

Tabela 1: koordinate vzorčenja in parametri zraka
Table 1: sampling coordinates and air parameters

Drugo multiparametrsko sondo HANNA instruments HI9829 (Slika 3) smo uporabili za merjenje različnih kemijsko-fizikalnih dejavnikov vode, in sicer: temperaturo, pH, slanost, raztopljeni kisik, prevodnost, oksidoredukcijski potencial, suhi ostanek in motnost (Tabela 2).

First of all, we split up into seven groups. Every group chose a different spot (Figure 1) and recorded the coordinates of the exact location where all of the activities were performed. After that, every group measured and recorded water and air parameters (Table 1 and Table 2).

We used the HANNA instrument HI9829 (Figure 3) to measure the water parameters (temperature, pH, salinity, dissolved oxygen, conductivity, TDS-Total Dissolved Solids, and turbidity) and the STANDARD SF-21 multimeter (Figure 2) was used to measure the air parameters (temperature, humidity and brightness).

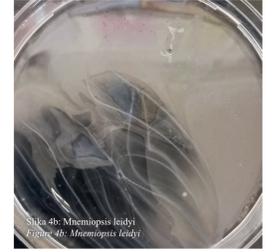


Skupina Group	A	B	C	D	E	F	G
Temperatura (°C) Temperature (°C)	23,8	23,83	23,89	23,8	23,8	23,9	23,8
Ph	8,11	8,12	8,11	8,11	8,11	8,12	8,11
Slanost (PSU) Salinity (PSU)	36,0	35,7	35,9	35,9	35,9	35,9	36,0
Raztopljeni kisik Dissolved oxygen	/	/	/	/	/	/	/
Prevodnost (mS/cm) Conductivity (mS/cm)	54,31	53,92	54,29	54,2	54,2	54,17	54,3
Redox potencial (mV) Redox potential (mV)	24,9	/	42,6	33,6	33,6	43,6	41,3
Suhi ostanek (ppt) Dry residue (ppt)	27,16	26,96	27,15	27,13	27,13	27,09	27,15
Motnost (FNU) Turbidity (FNU)	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 2: kemijsko-fizikalni parametri vode (vrednost raztopljenega kisika je bila stalno nihajoča, podatki so nezanesljivi; podatki o motnosti tudi ni verodostojni, verjetno so nastale težave v kalibriranju instrumenta)
Table 2: chemical and physical water parameters (dissolved oxygen not reliable)

Nato smo se osredotočili na raziskovanje morskih organizmov. Že na prostu oko smo opazili, da je v vodi prisotno zelo veliko število dveh vrst organizmov, ki smo jih identificirali kot *Mnemiopsis sp.* (Slika 4) in *Crescis acicula* (Slika 5). Prva je rebrača, ki spada v deblo *Ctenophora* in ki se v zadnjih letih bohoti v severnem Jadranu ter povzroča težave ne le ribičem, a tudi celotnemu morskemu ekosistemu. Te želatinske živalice ljudem niso nevarne, ker nimajo ožigalk, zato so za kopalce bolj psihološko kot resnično moteče. Ta vrsta pa ima veliko reproduktivno sposobnost (v enem letu lahko zleže do 8000 jajčec) in, ko se cezerno namnoži, uniči velik del planktona, ki je hrana za ribje mladice. Požira pa tudi ribja jajca in ličinke. *Crescis acicula* pa je mali mehkužec, ki ima ošiljeno školjko in ki se v velikih koncentracijah pojavlja v naših vodah pri višjih temperaturah. Tudi ta vrsta ni nevarna za človeka, a je lahko nadležna, ker s svojo igličasto strukturo bode kopalce.

After recording the physical and chemical parameters we focused our research on water organisms. As soon as we came to the shore, we immediately noticed a large amount of two sea water organisms floating in the water, *Mnemiopsis sp.* (Figure 4) and *Crescis acicula* (Figure 5). In recent years *Mnemiopsis leidyi*, a species of *Ctenophora*, has been periodically heavily reproducing in our gulf. The animal is not harmful to other organisms, however it becomes dangerous for the ecosystem, since it feeds on fish eggs and larvae, zooplankton, molluscs and even adult crustaceans. *Crescis acicula* is also not harmful to other organisms or humans, but it feeds on plankton and swimmers could get hurt if they touch their needle-shaped shell.



Sledilo je filtriranje vode, ki smo ga opravili na tri različne načine. Vsaka skupina je najprej filtrirala 20 L morske vode skozi dvojno najlonko, drugič pa enako količino skozi eno. Nazadnje smo 10 L vode filtrirali skozi filter papir (Slika 6). Po vsaki filtraciji smo filtre sprali najprej z destilirano vodo, da bi odstranili soli, in nato smo jih postavili v posodice z etanolom. Tako smo organizme fiksirali za nadaljnje laboratorijske analize.

Na izbranim mestu je vsaka skupina nabrala tudi deset klapavic (Slika 7). Klapavice smo stehali, izmerili dolžino in širino ter jih oštevilčili. Po opravljenih meritvah smo jim v plastične vrečke dodali morskovo vodo in vse pospravili v hladilnik za naslednje analize.

We used different filtration methods. The filters were paper (Figure 6) and tights (double and single layered). Also the amounts of filtered water were different: 10 L, 20 L or 50 L. After the filtration we rinsed the filtrates with distilled water and then we soaked them in ethanol to fix the organisms.

In the same location we retrieved 10 mussels per group (Figure 7). Later we weighed them and measured their length and width. Every sample was stored in its own plastic bag with a bit of seawater and put in the fridge.



DELAVNICA PROJEKTA ERASMUS+ ERASMUS+ PROJECT WORKSHOP

Dijaki trienja kemijsko-biološkega oddelka smo 7. septembra 2022 izvedli delavnico v Barkovljah pri TPK Sirena. Delavnica je vključena v projekt Erasmus+, pri katerem naša šola sodeluje z gimnazijo Rudbecksgymnasiet iz Örebro na Švedskem. Naš cilj je bil predvsem raziskovati klapavico vrste *Mytilus galloprovincialis*. Ta organizem je prisoten v našem zalivu in lahko filtrira do 2.000 L vode dnevno. V svojih prebavilih lahko zadržuje tudi toksine in onesnaževala, ki so morebitno prisotna v morski vodi. Želeli smo spoznati, če so v klapavicah prisotne toksične mikroalge, ki proizvajajo toksine DSP (*Diarrhetic Shellfish Poisoning*). Poleg tega smo s filtracijo vzorcev morske vode želeli izolirati in opazovati plankton.

On Wednesday, 7th September 2022, we went to TPK Sirena, where we started work for the project about mussels and toxic algae, which is included in the Erasmus+ project we are sharing with Rudbecksgymnasiet in Örebro, Sweden. Our goal was to retrieve and analyze the *Mytilus galloprovincialis*, a species of mussels present in the gulf of Trieste. This mollusc can filter up to 2.000 L of water per day and store toxins and pollutants present in it. Furthermore, through filtration we wanted to isolate and observe the plankton in the water.

LABORATORIJSKE ANALIZE LABORATORY ANALYSIS



Naslednji dan smo v šolskem laboratoriju pregledali vse zbrane vzorce in jih analizirali, začenši z opazovanjem filtratov.

Najlonke smo sprali z etanolom, da bi iz njih izločili organizme. Etanol smo po kapljicah kanili na predmetno stekelce in organizme opazovali z optičnim mikroskopom.

Iz filter papirja pa smo odstranili trdni ostanek s spatulo, ga naložili na stekelca in jih opazovali (Slika 8).

Najlonke so zadržale predvsem školjke *Crescis acicula*, ki so bile na dan vzorčevanja zelo številne, saj se je prav takrat pojavilo posebno cvetenje teh organizmov.

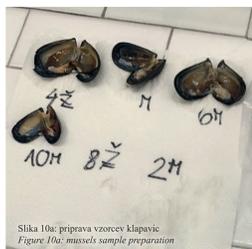
V filtratih smo opazili zelo nizko koncentracijo mikroplanktona. Vzroki bi lahko bili različni - od premajhne količine filtrirane vode do nezadostne povečave, ki nam jo omogočajo šolski optični mikroskopi, do resničnega pomanjkanja planktona v tem obdobju, ko se bohotita dve živalski vrsti, ki sta zelo požrešni. Med opazovanimi skupinami so vsekakor prevladovala kremenaste alge ali diatomeje, migetalkarji in različne vrste planktonskih ličink (Slika 9). Večine organizmov nismo mogli klasificirati do vrste ali rodu zaradi nezadostne povečave mikroskopa.

Filter papir je zadržal tudi manjše organizme, opazili smo v glavnem fitoplankton, organizmov pa tudi v tem primeru ni bilo mogoče razvrstiti.

The next day, in the school lab, we started with the analysis of solid residues from water filtrations (Figure 8). We prepared the glass slides by scraping the solid residue from the filters and spreading it on the glass slides. We detected mostly unicellular algae *Diatomea* and some *Ciliata* (Figure 9). The total amount of plankton organisms was quite low, probably because of the heavy presence of *Mnemiopsis sp.* and *Crescis acicula*, as they feed on microplankton. Another possible reason is that we did not filter enough water to perform a successful filtration, which usually requires more time.



V laboratoriju smo nadaljevali tudi z analizami morskih klapavic. Z noži smo jih odprli (Slika 10) in jim določili spol glede na barvo (oranžna-ženski spol, sivo/rumena-moški spol). Ločili smo školjko od mehkega dela in slednjeja stehali. Podatki, ki so bili pridobljeni na kraju vzorčenja in v laboratoriju, so podani v skupni tabeli (Tabela 3).



Skupina Group	A	B	C	D	E	F	G
Teža s školjko (g) Weight with shell (g)	7,8	6,7	25,2	11,0	12,0	12,0	17,2
Teža brez školjke (g) Weight without shell (g)	1,2	0,9	4,0	1,3	1,6	1,4	2,5
Dolžina (mm) Length (mm)	36,0	32,1	57,8	45,7	47,2	42,1	52,5
Širina (mm) Width (g)	17,8	16,7	35,2	24,0	26,0	23,7	29,6

Tabela 3: značilnosti klapavic (v tabeli so podane srednje vrednosti zbranih podatkov za vsako skupino)
Table 3: mussels characteristics (average value for every group)

Po končanem opazovanju klapavic smo prešli na iskanje mikroalg v njihovi notranjosti.

Z brzalko smo posrkali vodo iz klapavičnega hepatopankreasa in pridobljeno vsebino opazovali pod mikroskopom.

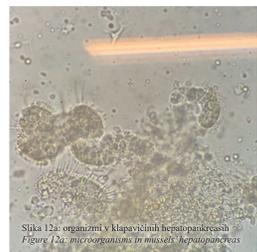
Iskali smo mikroalge, ki proizvajajo toksine DSP (*Diarrhetic Shellfish Poisoning*), med temi se posebno oklepne bičkarje rodu *Dinophysis* (Slika 11), ki se kopijo v klapavičnih prebavilih. Zastrupitev s temi toksini povzroča hude težave, saj so simptomi primerljivi s kolero. Simptomi so driska, hude bolečine v trebuhu in prebavilih ter bruhanje, zaradi katerih je tveganje dehidriranja zelo visoko. Na srečo simptomi minejo v nekaj dneh.



Med mikroskopiranjem vsebnosti klapavičnih hepatopankreasov smo opazili prisotnost različnih mikroorganizmov in organizmov, katerih točno kalsificiranje je zelo zahtevno.

V klapavah smo opazili prisotnost različnih vrst migetalkarjev, planktonskih polihetov, nekatere ličinke in enocelične alge, pretežno kremenaste (Slika 12). V njih nismo našli nobene toksične vrste.

We also opened the shells of the mussels (Figure 10), completed the measurements (Table 3), and looked for the hepatopancreas. It is a digestive organ that can accumulate heavy metals, toxins and pollutants. We extracted the liquid from the organ with a syringe and placed it on a glass slide. We observed the samples under the optical microscope. We were searching mostly for *Dinoflagellates* (Figure 11), which produce DSP toxins (*Diarrhetic Shellfish Poisoning* toxins) that cause nausea, vomit, diarrhea and abdominal pain. In our samples we found different types of microorganisms (Figure 12), like *Ciliata*, some unicellular algae, and different species of plankton larvae, no toxic species were observed.



ZAKLJUČKI CONCLUSIONS

Mednarodni projekt Erasmus+ je nam dijakom dal možnost, da se preizkusimo v raziskovanju morskega ekosistema v našem tržaškem zalivu. S terenskimi delom in laboratorijskimi analizami smo delno spoznali mikroskopsko življenje v morju in v morskih organizmih. Morski ekosistem je zelo kompleksen sistem, katerega znanstveno raziskovanje ni enostavno. Treba je razpolagati s primernimi instrumenti in izbrati ustrezne metode vzorčevanja, ki nam omogočajo, da dosežemo verodostojne rezultate. V trdnih ostankih filtriranja naših vzorcev vode smo našli, poleg številnih mehkužcev vrste *Crescis acicula*, predvsem kremenaste alge in migetalkarje. V klapavicah pa smo opazili prisotnost cele vrste različnih planktonskih ličink in diatomej; alg, ki proizvajajo toksine DSP pa nismo zasledili. Vzorcev in meritve na terenu so bile le prvi korak dalje izkušnje, ki se je nadaljevala v šolskem laboratoriju in je predstavljal uvod v znanstveno osnovano raziskovalno delo.

With this experience, linked to the Erasmus+ project, we learned the basis of fieldwork and laboratory analysis of the complex marine ecosystem of our Trieste gulf. Like other environmental matrices, sea water is a complex mixture, and its analysis requires adequate instruments and sampling techniques in order to achieve significant results. In the solid residues of sea water filtration we found a lot of *Crescis acicula* and mostly *Diatomea* and *Ciliata*; in the mussels we detected some *Ciliata* and plankton larvae, but we didn't find any presence of DSP producers.



Dijaki 3, 4 in 5: timski fotograf študentov in profesorjev iz gimnazije Rudbecksgymnasiet, DZJ J. Stefan, 7. septembra 2022, TPK Sirena, Barkovlje, Trst

