

GIMNAZIJA IN SREDNJA ŠOLA RUDOLFA MAISTRA KAMNIK
Novi trg 41 a, 1241 Kamnik

RAZISKOVALNA NALOGA

Vpliv delcev asfalta na rastline graha in kopenske rake mokrice

Področje: Ekologija z varstvom okolja



AVTORJI:

Brina Vita Mauhar
Tajda Adrovič Flisar
Žan Hace

MENTORJA:

asist. dr. Andraž Dolar, mag. prof. biol.
Cirila Jeras, prof. biol.

Kamnik, 2025

ŠOLA:

Gimnazija in srednja šola Rudolfa Maistra Kamnik

Novi trg 41 a, Kamnik

1241 Kamnik

Telefon: 01 830 32 00

NASLOV NALOGE:

Vpliv delcev asfalta na rastline graha in kopenske rake mokrice

PODROČJE:

Ekologija z varstvom okolja

AVTORJI:

Brina Vita Mauhar

Elektronska pošta: brinavita.mauhar@gmail.com

Žan Hace

Elektronska pošta: zan.hace@gmail.com

Tajda Adrovič Flisar

Elektronska pošta: a.tajda.adrovicflisar@gmail.com

MENTORJI:

asist. dr. Andraž Dolar, mag. prof. biol.

Elektronska pošta: andraz.dolar@gssrm.si

Cirila Jeras, prof. biologije

Elektronska pošta: cirila.jeras@gmail.com

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujemo mentorjema Cirili Jeras prof., in dr. Andražu Dolarju, prof. za dragocene nasvete, ter strokovno podporo in pomoč pri izvedbi te raziskovalne naloge. Vaša pripravljenost deliti svoje znanje ter vaš čas sta bistveno pripomogla k oblikovanju in izvedbi raziskave.

Posebna zahvala gre tudi prof. Majdi Zabrič, ki nam je nudila pomoč pri laboratorijskem delu in Ariani Godicelj, ki je z nami delila teoretična znanja. Vajina podpora nam je bila v veliko pomoč in spodbudo skozi celoten proces.

Hvala vsem, ki ste kakorkoli prispevali k nastanku te naloge.

Tajda Adrovič Flisar, Žan Hace, Brina Vita Mauhar

POVZETEK

Dandanes se človeštvo sooča s številnimi okoljskimi problemi, ki so posledica delovanja in vpliva različnih antropogenih onesnažil. Vedno več poudarka se namenja raziskavam učinkov plastike, težkih kovin, naprednih materialov in klimatskih sprememb na ljudi in okolje. Pozablja pa se na materiale, ki jih že dolgo časa uporabljamo in so vse bolj prisotni v okolju. Primer takšnega materiala je asfalt, ki se v globalni civilizaciji in tudi izven nje vedno več uporablja za gradnjo cestne infrastrukture.

Promet, rekonstrukcije cestišč in okoljski dejavniki vodijo v drobljenje asfalta na manjše delce. Ti delci asfalta se v okolje odlagajo v velikih količinah in se posledično kopičijo v tleh. Za asfaltne delce zaenkrat še ni znano, kakšna je njihova usoda v okolju in kako vplivajo na žive organizme. Zato je bil cilj raziskave analizirati kako se rastline graha (*Pisum sativum*) in kopenski raki mokrice (*Porcellio laevis*) odzovejo na delce asfalta v zemlji.

V raziskavi smo testirali 60 semen graha in 120 mokric kot testne organizme, ki smo jih izpostavili različnim testnim koncentracijam delcev asfalta v zemlji.

Ugotovili smo, da delci asfalta negativno vplivajo na rastline graha in živali mokrice. Pri rastlinah izpostavljenih višjim koncentracijam delcev asfalta v zemlji smo opazili slabšo kaljivost, daljše korenine, povečano število listnih rež, ki so bile manjše in pa spremenjeno pH vrednost zemlje. Pri živalih smo zaznali spremembe v prehranjevanju, kar pomeni direktni negativni učinek testnega materiala na organizem, medtem ko opažene spremembe v krvni sliki odražajo stres, ki ga povzročajo delci asfalta.

Ključne besede: delci asfalta, rastline graha, mokrice, stresni odziv, izpostavitve asfaltu v zemlji, pH zemlje

ABSTRACT

Nowadays, humanity faces numerous environmental issues resulting from the actions and influence of various anthropogenic pollutants. Increasing attention is being given to researching the effects of plastics, heavy metals, advanced materials, and climate changes. However, materials that have long been in use and are increasingly present in the environment are often overlooked. One such material is asphalt, which is being used more and more for road construction in global civilization and beyond.

Traffic, road reconstructions, and environmental factors lead to the fragmentation of asphalt into smaller particles. These particles are deposited into the environment and accumulate in large quantities in the soil. The fate of asphalt particles in the environment and their effects on living organisms are not yet well understood.

The aim of this study is to analyze how pea plants (*Pisum sativum*) and woodlice (*Porcellio laevis*) respond to asphalt particles in the soil. In the research, we used 60 pea seeds and 120 woodlice as test organisms, exposing them to different test concentrations of asphalt particles in the soil.

We found that asphalt particles negatively affect both pea plants and woodlice. In plants exposed to higher concentrations of asphalt particles, we observed lower germination rates, longer roots, an increased number of leaf stomata, which were smaller, and changes in soil pH. We observed changes in the animals' feeding habits, which indicates a direct negative effect of the test material on the organism, while the changes observed in the blood count reflect the stress caused by the asphalt particles.

Keywords: asphalt particles, peas, woodlice, stress response, asphalt exposure in soil, soil pH

KAZALO VSEBINE

ZAHVALA.....	II
POVZETEK	III
ABSTRACT	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO SLIK.....	VIII
KAZALO TABEL.....	X
KAZALO GRAFOV	XI
1. UVOD	- 1 -
1.1. NAMEN IN CILJI NALOGE.....	- 1 -
1.2. HIPOTEZE	- 1 -
1.2.1. RASTLINE	- 1 -
1.2.2. ŽIVALI	- 1 -
1.3. PREDHODNE RAZISKAVE	- 2 -
1.4. RAZLAGA KRATIC	- 4 -
2. TEORETIČNI DEL.....	- 5 -
2.1. ASFALT IN NJEGOVA SESTAVA	- 5 -
2.1.1. AGREGATI.....	- 5 -
2.1.2. BITUMEN	- 5 -
2.2. POSKUSNI ORGANIZMI.....	- 10 -
2.2.1. RASTLINE GRAHA (<i>Pisum sativum</i>).....	- 10 -
2.2.2. KOPENSKI RAK ENAKONOŽEC (<i>Porcellio laevis</i>)	- 22 -
3. PRAKTIČNI DEL.....	- 29 -
3.1. PRIPRAVA ASFALTA	- 29 -
3.2. POSKUSI Z RASTLINAMI	- 31 -
3.2.1. NAČRT POTEKA EKSPERIMENTA.....	- 31 -

3.3.2. DELO V ŠOLSKEM LABORATORIJU	- 32 -
3.3.3. MERJENI PARAMETRI.....	- 34 -
3.3. POSKUSI Z MOKRICAMI	- 38 -
3.3.1. NAČRT POTEKA EKSPERIMENTA	- 38 -
3.3.2. VZGOJA POSKUSNIH ŽIVALI	- 38 -
3.3.3. POGOJI IN DELO V ŠOLSKEM LABORATORIJU	- 39 -
3.3.4. MERJENI PARAMETRI.....	- 44 -
4. REZULTATI DELA NALOGE	- 49 -
4.1. REZULTATI RASTLIN GRAHA	- 49 -
4.1.1. VPLIV DELCEV ASFALTA NA KALITEV	- 49 -
4.1.2. VIŠINA RASTLIN V ČASU POSKUSA	- 50 -
4.2.3. DOLŽINA KORENIN IN CELOTNE RASTLINE NA KONCU POSKUSA .	- 52 -
4.1.4. LISTNE REŽE.....	- 53 -
4.1.5. VREDNOST pH ZEMLJE	- 55 -
4.2. MOKRICE.....	- 56 -
4.2.1. PREŽIVETJE.....	- 56 -
4.2.2. LEVITVE.....	- 57 -
4.2.3. SPREMEMBA MASE.....	- 58 -
4.2.4. PREHRANJEVANJE	- 59 -
4.2.5. HEMOCITI.....	- 60 -
5. ANALIZA REZULTATOV.....	- 62 -
5.1. RASTLINE GRAHA.....	- 62 -
5.1.1. VPLIV DELCEV ASFALTA NA KALITEV SEMEN	- 62 -
5.1.2. VIŠINA RASTLIN V ČASU POSKUSA	- 63 -
5.1.3. DOLŽINA KORENIN, STEBLA IN CELOTNE RASTLINE	- 63 -
5.1.4. LISTNE REŽE.....	- 64 -
5.1.5. PH ZEMLJE.....	- 65 -

5.2. MOKRICE.....	- 66 -
5.2.1. PREŽIVETJE.....	- 66 -
5.2.2 LEVITVE.....	- 67 -
5.2.3. SPREMEMBA MASE.....	- 67 -
5.2.4. PREHRANJEVANJE	- 67 -
5.2.5. HEMOCITI.....	- 68 -
6. ZAKLJUČEK.....	- 69 -
6.1. OVREDNOTENJE HIPOTEZ	- 69 -
6.1.1. RASTLINE	- 69 -
6.1.2. ŽIVALI	- 70 -
6.2. PREDLOGI ZA NADALJNJE RAZISKAVE IN RAZMISLEK.....	- 71 -
6.3. ZAKLJUČEK	- 72 -
7. VIRI IN LITERATURA	- 73 -
8. PRILOGA.....	- 84 -

KAZALO SLIK

Slika 1: Prikaz deleža elementov v bitumnu (vir: Rahabitumen, 2025).....	- 6 -
Slika 2: Delitev kemičnih komponent v bitumnu (Rahabitumen, 2025).....	- 7 -
Slika 3: Prikaz deleža PAH delcev v bitumnu (Raha Bitumen Co, 2025).....	- 8 -
Slika 4: Strjen naravni bitumen (Wikipedia, 2024).....	- 9 -
Slika 5: Predelava bitumna (Rahabitumen, 2025).....	- 9 -
Slika 6: Razširjenost zelenega graha za leto 2023 po podatkih (FAOSTAT, 2023).....	- 10 -
Slika 7: Razširjenost zelenega graha za leto 2023 po podatkih (FAOSTAT, 2023).....	- 10 -
Slika 8: Prikaz grahovitih listov (Dreamstime, 2025).....	- 11 -
Slika 9: Prikaz rastline graha s koreninami (vir: Žan Hace, 2025).....	- 13 -
Slika 10: Razvoj grahovitih strokov (Černe, 1997).....	- 13 -
Slika 11: Prikaz podzemne kalitve (Stockley, 1994).....	- 14 -
Slika 12: vezava vode na talni delec (vir: (Velikonja, 2019).....	- 15 -
Slika 13: Delovanje listne reže (Vodnik, 2012).....	- 17 -
Slika 14: Prikazana biodostopnost elementov pri pH 4-9 (Taiz in sod., 2010).....	- 19 -
Slika 15: Prikaz kationske izmenjevalne kapacitete (vir prof. Maček, 2025).....	- 20 -
Slika 16: Prikaz vode in delcev prsti ob korenini (Taiz in sod., 2010).....	- 21 -
Slika 17: Porcellio laevis na kosu lesa (WIKIPEDIA, 2025).....	- 22 -
Slika 18: Telesna zgradba kopenskega raka enakonožca (Mršić, 1997).....	- 23 -
Slika 19: Telesna zgradba kopenskega raka enakonožca (Mršić, 1997).....	- 24 -
Slika 20: Psevdotraheje na eksopoditih zadkovih nožic: (British Myriapod and Isopod Group, 2025).....	- 24 -
Slika 21: Vrste hemocitov (Dolar, 2021).....	- 25 -
Slika 22: Vrste hemocitov pod mikroskopom (Dolar, 2021).....	- 25 -
Slika 23: Imunski odziv (Dolar in sod., 2021).....	- 26 -
Slika 24: Prikaz razvojnega kroga mokrice (Sans Vertigo, 2018).....	- 27 -
Slika 25: Slika fino zmlatega asfalta pod mikroskopom (vir: Žan Hace).....	- 29 -
Slika 26: Prikaz zmlatega asfalta (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 30 -
Slika 27: Večji deli svežega asfalta (vir: Tajda Adrović Flisar, 2025).....	- 30 -
Slika 28: Zmleti asfalt (vir: Žan Hace, 2025).....	- 30 -
Slika 29: Mlin za mletje plastike (vir: Žan Hace, 2025).....	- 30 -
Slika 30: Delanje lukenj v dna posod (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 32 -

Slika 31: Razporeditev poskusnih posod (vir: Tajda Adrovič Flisar, 2025).....	- 33 -
Slika 32: Kuhanje žajbljevega čaja (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 33 -
Slika 33: Razporeditev semen (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 33 -
Slika 34: Razporeditev posod ob viru svetlobe (vir: Žan Hace, 2025)	- 34 -
Slika 35: Uporabljeno orodje za mikroskopiranje (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 35 -
Slika 36: Mikroskopiranje z mikroskopom Motic Panthera in kamero Moticam 1080 (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)	- 35 -
Slika 37: Prikaz listnih rež pod 400x povečavo (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 35 -
Slika 38: Prikaz merjenja velikosti listne reže v programu Motic software (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)	- 35 -
Slika 39: Izsek slike listnih rež pod 400x povečavo z dodanim merilom (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 36 -
Slika 40: Rastlina ob merilu (vir: Žan Hace, 2025)	- 36 -
Slika 41: Merjenje delov rastline (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 36 -
Slika 42: pH lističi (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)	- 37 -
Slika 43: Pripravljene posode za merjenje pH	- 37 -
Slika 44: Terarij s poskusnimi organizmi (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)	- 38 -
Slika 45: Sušenje zemlje v pečici (vir: Brina Vita Mauhar 2025).....	- 39 -
Slika 46: Tehtanje delcev asfalta (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)	- 40 -
Slika 47: Umešanje delcev asfalta v zemljo (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)	- 40 -
Slika 48: Razporeditev lončkov po skupinah (vir: Žan Hace, 2025)	- 41 -
Slika 49: Pripravljene lončki za poskus (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 41 -
Slika 50: Označevanje mokrice (vir: Žan Hace, 2025)	- 42 -
Slika 51: Skupna posoda s poskusnimi lončki (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 43 -
Slika 52: Dodajanje vode s kapalko med poskusom (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 43 -
Slika 53: Mokrica, ki se je levila in ni več označena (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 44 -
Slika 54: Odstranjevanje zemlje in iztrebkov z ostankov listov (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)	- 45 -
Slika 55: Prebadanje s sterilno siringo (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 46 -
Slika 56: Stiskanje živali in sesanje hemolimfe s stekleno mikrokapilarno pipeto (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)	- 46 -
Slika 57: Redčenje v pufru DPBS (vir: Brina Vita Mauhar, 2025).....	- 46 -
Slika 58: Hemocitometer pod svetlobnim mikroskopom (vir: Tajda Adrovič Flisar, 2025)-	47 -
Slika 59: štetje in opazovanje hemocitov (vir: Tajda Adrovič Flisar, 2025)	- 47 -

Slika 60: štetje in opazovanje hemocitov (vir: Tajda Adrović Flisar, 2025)	- 47 -
Slika 61: Prikaz robnih kvadratnih polij za štetje hemocitov (cytologics, 2025)	- 47 -
Slika 62: Hemociti v velikem robnem polju pod 10x povečavo (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)	- 48 -
Slika 63: Prikaz dolžine korenin pri kontroli (vir: osebni arhiv Žan Hace).....	- 64 -
Slika 64: Prikaz dolžine korenin pri 40 % koncentraciji (vir: osebni arhiv Žan Hace)	- 64 -
Slika 66: Listne reže kontrolne skupine, povečava: 400x (vir: osebni arhiv Brina Vita Mauhar)	- 64 -
Slika 67: Rezultati merjenja pH zemlje s pH lističi (vir: Brina Vita Mauhar).....	- 66 -

KAZALO TABEL

Tabela 1: Dolžina delcev asfalta v μm	- 29 -
Tabela 2: Podatki za delež kaljenih grahovitih semen v zemlji z dodanimi delci asfalta	- 49 -
Tabela 3: Povprečna višina grahovega poganjka pri testnih koncentracijah po dnevih (cm)-	50
-	
Tabela 4: Povprečna dolžina celotne rastline v cm, povprečna dolžina stebela in korenine v cm ter razmerje med njima.....	- 52 -
Tabela 5: Število listnih rež na mm^2 lista pri rastlinah izpostavljenih različnim koncentracijam DA	- 53 -
Tabela 6: Povprečna velikost listnih rež v μm	- 54 -
Tabela 7: pH vrednosti zemlje z različnimi koncentracijami DA	- 55 -
Tabela 8: Delež preživelih poskusnih organizmov po skupinah.....	- 56 -
Tabela 9: Delež levitev pri različnih koncentracijah DA	- 57 -
Tabela 10: Sprememba v povprečni masi (mg) pri različnih koncentracijah DA	- 58 -
Tabela 11: Prehranjevanje pri različnih koncentracijah DA	- 59 -
Tabela 12: Gostota hemocitov pri različnih koncentracijah DA	- 60 -
Tabela 13: Viabilnost hemocitov pri različnih koncentracijah DA.....	- 61 -

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Prikaz teksturnih razredov ameriške klasifikacije tal (Taiz in sod., 2010).....	- 18 -
Graf 2: Vpliv testnih koncentracij DA na delež kalitev grahovitih semen.....	- 49 -
Graf 3: Povprečna višina rastlin v cm po dnevih pri različnih koncentracijah	- 50 -
Graf 4: Prirast rastlin (v cm/dan) pri različnih koncentracijah.....	- 51 -
Graf 5: Razmerje med povprečno dolžino korenin in stebel v procentih.....	- 52 -
Graf 6: Prikaz povprečnega števila listnih rež na mm ² v posamezni skupini	- 53 -
Graf 7: Povprečna velikost listnih rež v µm pri kontroli in skupinah 10 in 40 %.....	- 54 -
Graf 8: Vrednost pH pri različnih koncentracijah DA	- 55 -
Graf 9: Delež preživelih poskusnih organizmov med poskusom pri različnih koncentracijah DA	- 56 -
Graf 10: Delež levitev v času poskusa pri različnih koncentracijah DA.....	- 57 -
Graf 11: Sprememba v povprečni masi v mg pri različnih koncentracijah DA.....	- 58 -
Graf 12: Prehranjevanje mokric pri različnih koncentracijah DA	- 59 -
Graf 13: Gostota hemocitov pri različnih koncentracijah DA	- 60 -
Graf 14: Viabilnost homocitov pri različnih koncentracijah DA	- 61 -

1. UVOD

1.1. NAMEN IN CILJI NALOGE

- Preučiti vpliv izpostavitve testnih organizmov, tj. rastlin graha (*Pisum sativum*) in kopenskih rakov mokric (*Porcellio laevis*) delcem asfalta v zemlji.
- Raziskati vpliv različnih koncentracij delcev asfalta v zemlji na kalitev, rast in listne reže rastlin graha ter pH zemlje.
- Ugotoviti kako izpostavitve delcem asfalta v zemlji vpliva na preživetje, levitev, rast, prehranjevanje in krvno sliko mokric.

1.2. HIPOTEZE

1.2.1. RASTLINE

- Pri višjih koncentracijah delcev asfalta v zemlji bodo rastline graha manj kalile.
- Dolžina korenin graha bo večja v primerjavi z dolžino poganjka, kot posledica prilagoditve rastline na spremenjene razmere v zemlji pri rastlinah izpostavljenih višjim koncentracijam delcev asfalta v zemlji.
- Pri višjih koncentracijah delcev asfalta v zemlji se bo skupno število listnih rež povečalo, le-te pa bodo manjše.
- Prisotnost delcev asfalta bo povzročila višji pH zemlje, kar bo negativno vplivalo na rast rastlin.

1.2.2. ŽIVALI

- Pri mokricah izpostavljenih višjim koncentracijam delcev asfalta v zemlji pričakujemo večjo smrtnost.
- Mokrice, ki so izpostavljene višjim koncentracijam delcev asfalta se bodo manj levile.
- Telesna masa mokric se bo pri nižjih testnih koncentracijah delcev asfalta bolj povečala kot pri organizmih izpostavljenih višjim koncentracijam v zemlji.
- Mokrice, izpostavljene delcem asfalta v zemlji bodo imele spremenjeno krvno sliko, tj. gostota in viabilnost celic hemolimfe.

1.3. PREDHODNE RAZISKAVE

OKOLJSKO RELEVANTNE KONCENTRACIJE ASFALTA: Literatura navaja, da obrabljanje asfaltnih površin, pri čimer nastajajo delci asfalta, predstavlja $14,5 \% \pm 8,9 \%$ ($0,69 \pm 0,47$ t do $1,88 \pm 1,09$ t) celotne količine asfalta (Grossegger D. , 2022).

VPLIV ASFALTA NA KOPENSKE ORGANIZME: V literaturi nismo zasledili raziskav na temo vplivov delcev asfalta na kopenske organizme. Znanih je zgolj nekaj raziskav, kjer so preučevali vpliv izlužkov asfaltnih delcev na vodne organizme (Yujie Huang, 2024) (Amanda Jessica Rodrigues da Silva, 2023).

VPLIV ASFALTA NA VODNE ORGANIZME: Literatura navaja vpliv asfaltnih izlužkov na morske živali. V raziskavi so raziskovali vpliv težkih kovin in PAH delcev na ribe cebrice (*Danio rerio*). Prišli so do zaključkov, da so asfaltni izlužki škodljivi za cebrice, saj so zaznali smrtnost testnih organizmov zaradi prisotnosti kovin in PAH-ov, poleg tega pa so v organizmih zaznali tudi vnetja, rakotvornost in oksidativni stres (Zou, in drugi, 2024).

VPLIV HLAJNIH ORGANSKIH SPOJIN: Ugotovili so vpliv hlapnih organskih spojin, ki so prisotne v asfaltu, na okolje in ljudi. Asfalt ima škodljive lastnosti, ki negativno vplivajo na okolje in lahko pri ljudeh povzročajo raka (Xinqiang Zhang, 2024).

VPLIV ASFALTA NA RASTLINE: V literaturi nismo zasledili raziskav o vplivu asfalta prav na grah ali stročnice, raziskan pa je vpliv na rastline na splošno. Posledice prisotnosti delcev asfalta na rastline so raziskovali leta 2016 na Ignatius Ajuru University of Education (IAUE) v Nigeriji (Ali, 2016). Primerjali so rastline z onesnaženega okolja in neonesnaženega okolja, pri čemer so kot onesnaženo okolje privzeli območje v bližini proizvodnje asfalta.

Dokazali so, da se je rastlinam v onesnaženem okolju zmanjšala:

- velikost in površina listov
- vsebnost klorofila v njih
- začele so se pojavljati klorotične in nekrotične lise na listih
- dolžina in širina listnih rež sta se zmanjšali, medtem ko se je njihovo skupno število povečalo.
- asfalt v tleh lahko poveča pH tal na raven
- natrgani robovi listov
- zviti stebli

- zavrta rast debla
- zmanjšana velikost plodov
- zmanjšan razvoj koreninskega sistema

Rastline, izpostavljene onesnaženju, so razvile večje število listnih rež kot odziv na zmanjšano zmogljivost izmenjave plinov zaradi blokade z delci prahu. To rastlini omogoča večjo površino za izmenjavo plinov. Prav tako so bile reže bolj zaprte in manjše, da preprečijo izgubo vode ter vnos škodljivih snovi.

Ugotovitve nakazujejo, da so rastline pod stresom zaradi onesnaženja, rezultati pa predstavljajo prilagoditvene in kompenzacijske mehanizme. Prav tako so dokazali, da asfalt v tleh lahko poveča pH tal na raven, ki je škodljiva za rast rastlin, saj lahko denaturira encime, kar se kaže v vidnih morfoloških znakih, kot so natrgani robovi listov, zviti stebli, zavrta rast debla, zmanjšana velikost plodov ter zmanjšan razvoj koreninskega sistema.

Podobno so raziskovali tudi Itodo in sod. (2018), kjer so proučevali okoljski vpliv zapuščenega obrata za proizvodnjo asfalta na tla, vodo in zelenjavo (A. U. Itodo, Journal of Geoscience and Environment Protection, 2018). Celotna študija je razkrila, da je zelenjava trenutno onesnažena s cinkom (Zn) in nitratnimi ioni (NO_3^-), ki so tudi prevladujoči mineralni sestavini v tleh. Kovine, kot je cink, se lahko v asfaltu pojavljajo kot posledica uporabe onesnaženih surovin ali kot onesnaževalci iz okolja. Fitotoksičnost cinka lahko povzroči zmanjšan pridelek in slabšo kakovost pridelka ter poveča možnost prenosa cinka v prehransko verigo. V študiji niso potrdili razlik v povprečni koncentraciji cinka v vodi, tleh in zelenjavi med vzorci z raziskovalnega in kontrolnega območja, saj so bile v kontrolnem območju zaznane velike koncentracije cinka.

RAZISKAVE O MOKRICAH: Predhodne raziskave na mokricah *Porcellio scaber*, ki so sorodni našemu poskusnemu organizmu (*Porcellio laevis*) so se osredotočale na vpliv stresorjev, med drugimi so raziskovali vpliv kemikalij, različnih delcev (npr. mikropalstike) in vpliv virusnih ter bakterijskih okužb (Dolar in sod., 2020, 2021).

Najpogostejše spremembe pri mokricah kot odziv na različne stresorje so bile opažene v:

- preživetju,
- prehranjevanju,
- rasti,
- levitvi,
- imunskih parametrov kot so gostota vseh hemocitov in viabilnost hemocitov.

V slednjih raziskavah so prišli do zaključka, da gostota prostih hemocitov (THC) v hemolimfi močno varira v odvisnosti od fiziološkega statusa organizma, vendar pa je gostota hemocitov kljub vsemu dovolj zanesljiv pokazatelj spremembe imunskega profila v primeru naravne okužbe ali pa spremenjenih abiotičnih dejavnikov kot tudi prisotnosti onesnažil v okolju. Kot glavni razlog za upad THC in viabilnosti navajajo razširitev okužbe na hematopoetsko tkivo, kjer poteka proliferacija in diferenciacija hemocitov, migracijo hemocitov na mesto okužbe, agregacijo in lizo hemocitov. V primeru okužbe pride do zmanjšanja THC in viabilnosti hemocitov (Dolar in sod., 2021). Pri raziskovanju odziva organizma na različne stresorje so opazovali tudi glikemijo v hemolimfi. V primeru raziskave s herbicidi kot kemičnimi stresorji je bilo dokazano, da akutna in kronična izpostavljenost kemičnim stresorjem ni vplivala na ravni glikemije v krvi, ki so jo uporabljali kot indikator stresnega odziva. Kljub temu pa je po odvzetju hemolimfe, ki je bil dodatni stresor zaradi nastanka rane, prišlo do povečane glikemije v krvi, smrtnost se je v tem primeru povečala. (Jonathan A. C. Roques in sod., 2020) V raziskavi, ki se je osredotočala na vpliv kadmija na hepatopankreas mokrice so prišli do zaključka, da je kadmij povzročil poškodbe v hepatopankreasu in negativne spremembe v njegovi zgradbi. Opisovali so tudi stradanje mokric, da bi se izognile kadmiju prisotnem v hrani. (J.P. Odendaal in sod. 2003)

1.4. RAZLAGA KRATIC

DA – Delci asfalta

DAZ – Delci asfalta v zemlji

ABA - Abscizinska kislina

THC – Gostota vseh hemocitov

PAH – Policiklični aromatski ogljikovodiki

2. TEORETIČNI DEL

2.1. ASFALT IN NJEGOVA SESTAVA

Asfalt je mešanica agregatov, veziva in polnil, ki se uporablja za gradnjo in vzdrževanje cest, parkirišč, železniških tirov, pristanišč, letaliških stez, kolesarskih stez, pločnikov ter tudi igralnih in športnih površin (Stireks, 2021).

Asfalt je temen material, ki ima veliko sposobnost absorpcije toplote. Ponoči se asfaltne površine ohlajajo in v okolje sproščajo toploto, kar povzroča povišanje temperature (Vovk Korže, 2023).

pH vrednost asfalta ne more biti izmerjena, saj je asfalt trdna snov. Lahko pa se izmeri pH izlužkov asfalta, ki je okoli 9,5 (Townsend & Brantley, 1998).

2.1.1. AGREGATI

Agregati, so lahko zdrobljena kamnina, pesek, gramoz ali žlindra. Dandanes se nekateri odpadki in stranski proizvodi, na primer gradbeni odpadki in ruševine, uporabljajo kot agregati, kar povečuje trajnost asfalta (Stireks, 2021).

2.1.2. BITUMEN

Za vezavo agregatov v kohezivno zmes se uporablja vezivo. Najpogosteje se kot vezivo uporablja bitumen, čeprav se danes razvija tudi vrsta veziv na biološki osnovi, da bi zmanjšali vpliv cest na okolje.

Bitumenski komponenti so razvrščeni v štiri razrede spojin:

- **Saturati** – nasičeni ogljikovodiki; delež saturatov korelira z točko mehčanja materiala.
- **Naftenske aromatične spojine** – sestavljene iz delno hidrogeniranih policikličnih aromatskih spojin.
- **Polarne aromatične spojine** – sestavljene iz fenolov in karboksilnih kislin z visoko molekulsko maso.
- **Asfalteni** – sestavljeni iz fenolov z visoko molekulsko maso in heterocikličnih spojin.

Naftenske in polarne aromatične spojine običajno predstavljajo večinski delež bitumna. Poleg tega večina naravnega bitumna vsebuje organo-žveplove spojine, zaradi česar lahko skupna vsebnost žvepla doseže do 4 %. Nikelj in vanadij sta prisotna v količinah pod 10 ppm, kar je značilno za nekatere vrste nafte.

Bitumen je topen v ogljikovem disulfidu. Pogosto ga modeliramo kot koloid, kjer so asfalteni dispergirana faza, malteni pa kontinuirana faza. Identifikacija vseh posameznih molekul v bitumnu je skoraj nemogoča, saj je njihovo število in kemijska struktura izjemno raznolika (Raha Bitumen Co, 2025).

LASTNOSTI BITUMNA

Proizvodni procesi bitumna vključujejo odstranitev lažjih komponent, pri čemer ostanejo spojine z visoko molekularno maso in nizko hlapnostjo. Končni izdelki so običajno trdni ali poltrdni pri sobni temperaturi in se z naraščanjem temperature mehčajo.

Kemijska sestava bitumna

Kemijska sestava bitumna je splošno podobna, vendar se lahko razlikuje glede na izvor surove nafte ter procese rafiniranja in mešanja. Bitumen je kompleksna mešanica ogljikovodikov z velikim številom različnih kemijskih spojin z relativno visoko molekularno maso. Molekule v bitumnu so kombinacija alkanov, cikloalkanov, aromatskih spojin in heteroatomskih spojin, ki vsebujejo žveplo, kisik, dušik in kovine.

Element	Range
Carbon, %w	80.2 - 84.3
Hydrogen, %w	9.8 - 10.8
Nitrogen, %w	0.2 - 1.2
Sulphur, %w	0.9 - 6.6
Oxygen, %w	0.4 - 1.0
Nickel, ppm	10-139
Vanadium, ppm	7-1590
Iron, ppm	5-147
Manganese, ppm	0.1 - 3.7
Calcium, ppm	1-335
Magnesium, ppm	1-134
Sodium, ppm	6-159

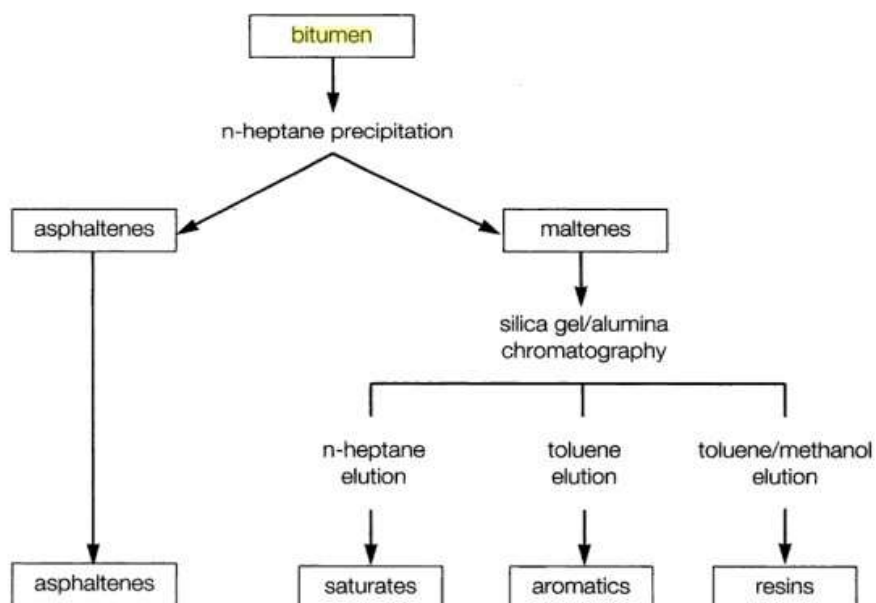
Slika 1: Prikaz deleža elementov v bitumnu (vir: Rahabitumen, 2025)

Kemijska karakterizacija bitumna

Zaradi visoko elastičnih lastnosti bitumna je pomembna njegova kemijska polarizacija. Najbolj polarne komponente prispevajo k togosti bitumna, najmanj polarne pa k njegovi fleksibilnosti pri nizkih temperaturah.

Ker bitumen vsebuje neprekinjen spekter molekul, je njihova individualna analiza nepraktična. Zato se bitumen običajno deli na štiri frakcije po naraščajoči polarizaciji:

- **Saturati**
- **Aromatične spojine**
- **Smole**
- **Asfalteni** (slika 2)



Slika 2: Delitev kemičnih komponent v bitumnu (Rahabitumen, 2025)

Asfaltene običajno ločimo s pomočjo topil, ostale frakcije pa določimo s kromatografijo. Obstaja več standardnih metod za ločevanje teh frakcij, vendar njihova poimenovanja niso neposredno povezana s kemično sestavo, ki se lahko spreminja (Raha Bitumen Co, 2025).

Policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH) v bitumnu

Policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH) so pomembni zaradi morebitnih vplivov na zdravje. Spadajo v širšo skupino policikličnih aromatskih spojin (PAC), ki lahko vsebujejo tudi heteroatome, kot so žveplo, kisik in dušik.

Surova nafta vsebuje nizke ravni PAH-jev, ki se deloma prenesejo v bitumen. Pri temperaturah pod 385 °C, ki so običajne pri proizvodnji bitumna, ne pride do pomembnega nastanka PAH-jev, saj za to potrebujemo temperature nad 500 °C, ki so značilne za pirolizo in zgorevanje.

Rafinacijski proces vakuumske destilacije odstrani večino PAH-jev. Oksidacija bitumna dodatno zmanjša njihovo koncentracijo, saj se aromatične spojine pretvarjajo v smole, smole pa v asfaltene. Pri oksidaciji se tvori več ogljikovih vezi, kar poveča vsebnost asfaltenov in zmanjša vsebnost naftenskih ter polarnih aromatskih spojin.

Povečanje koncentracije asfaltenov nad določeno mejo povzroči prehod iz viskoelastičnega v skoraj popolnoma elastično obnašanje pri sobni temperaturi. Kisik, vključen v bitumen med oksidacijo, je vezan v hidroksilne, peroksidne in karbonilne funkcionalne skupine (ketone, kisline, anhidride in estre). Med oksidacijo se odstranijo tudi manjše količine hlapnih komponent, kar dodatno zmanjša vsebnost PAH-jev v bitumnu (Raha Bitumen Co, 2025).

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH)	PAH in Bitumen (ppm) ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾
Naphthalene	2.5 - 3.0
Acenaphthene	BDL - 0.7
Fluorene	0.3 - 0.5
Phenanthrene	0.3 - 7.3
Anthracene	BDL - 2.0
Fluoranthene	BDL - 2.0
Pyrene	0.2 - 8.3
Chrysene	<0.1 - 11
Benzo[a]anthracene	BDL - 3.3
Perylene	BDL - 39
Benzo[fluoranthene]	BDL - 1.2
Benzo[e]pyrene	<0.1 - 13
Benzo[a]pyrene	BDL - 4.6
Dibenzanthracenes	BDL - 3.3
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	BDL - 2.4
Benzo[ghi]perylene	<0.1 - 4.6
Anthanthrene	BDL - 0.1
Dibenzo[a,i]pyrene	BDL - <0.6
Dibenzo[a,j]pyrene	BDL - <0.6
Coronene	BDL - 1.9

BDL = Below Detection Limit

Slika 3: Prikaz deleža PAH delcev v bitumnu (Raha Bitumen Co, 2025)

Fizikalne lastnosti

Bitumen je termoplastični material, kar pomeni, da se pri višjih temperaturah mehča in pri nižjih temperaturah strjuje. Pri visokih temperaturah se obnaša kot Newtonova tekočina, pri čemer se viskoznost zmanjšuje s povišanjem temperature. Zaradi tega ga je treba pred uporabo segreti.

Bitumen ima tudi viskozno elastične lastnosti – pri kratkih obremenitvah se obnaša kot elastičen material, pri daljših pa kot viskozna tekočina. Zaradi prisotnosti polarnih molekul ima afiniteto do agregatov, kar mu daje lepilne in vodoodporne lastnosti.

Ker je bitumen inženirski izdelek, so njegove specifikacije osredotočene predvsem na fizikalne lastnosti in ne na kemijsko sestavo. Fizikalne lastnosti določajo primernost bitumna za določene aplikacije ter pogoje, pri katerih ga je mogoče obdelovati (Raha Bitumen Co, 2025).

Temperaturna občutljivost

Za uporabo v različnih podnebnih razmerah je zaželena zmanjšana temperaturna občutljivost. Obstaja več metod za določanje sprememb lastnosti bitumna glede na temperaturo, kot je indeks penetracije (PI), ki se uporablja v Evropi.

Oksidacija bitumna zmanjša njegovo temperaturno občutljivost in sistematično poveča PI, kar pomeni, da je PI dober pokazatelj stopnje oksidacije (Raha Bitumen Co, 2025).



Slika 4: Strjen naravni bitumen (Wikipedia, 2024)



Slika 5: Predelava bitumna (Rahabitumen, 2025)

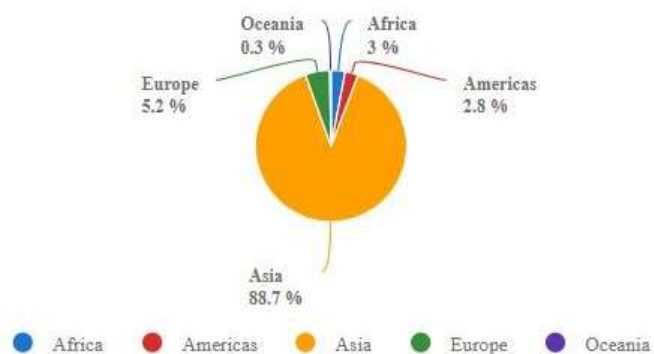
2.2. POSKUSNI ORGANIZMI

2.2.1. RASTLINE GRAHA (*Pisum sativum*)

Za proučevanje vpliva asfalta na rastline smo si izbrali grah (lat. *Pisum sativum*), saj je primeren za eksperimentalne raziskave. Grah hitro kali in raste, kar omogoča hitro izvedbo eksperimenta. Dobro kaže občutljivost na težke kovine, pesticide in druge onesnaževalce, ki se pojavljajo tudi v asfaltu. Občutljivost na kadmij (Cd) in kobalt (Co) so dokazali Majeed in sod. (2018), pri čemer so se rastline odzvale s stresom kar se kaže v slabši in počasnejši kalitvi ter manj razvitih steblih. (Majeed, Idrees Ahmed Wani, Afshan Mumtaz Hamdani, & Naseer Ahmad Bhat, 2018) Poleg tega ne zahteva posebnih pogojev za rast in ga je enostavno gojiti v različnih okoljih, kar omogoča preprosto spremljanje kalitve in morfoloških lastnosti. Izbrali smo ga tudi zaradi njegove obsežne razširjenosti in priljubljenosti po vseh svetu (slika 6). Grah izvira iz Evrope in Azije. Najpogosteje ga res najdemo v azijskih državah, vendar je močno prisoten tudi na drugih celinah (slika7).



Slika 6: Razširjenost zelenega graha za leto 2023 po podatkih (FAOSTAT, 2023)



Slika 7: Razširjenost zelenega graha za leto 2023 po podatkih (FAOSTAT, 2023)

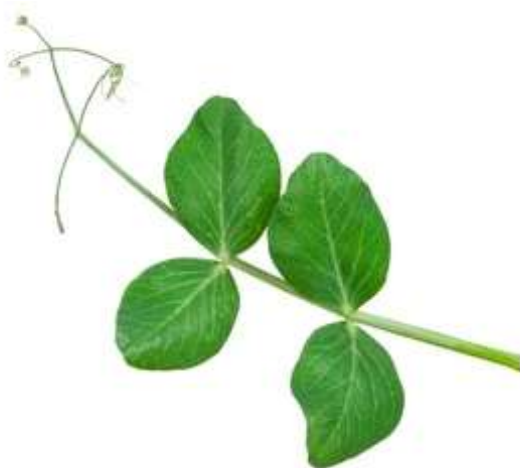
Poleg tega je grah priljubljena rastlina za gojenje v urbanih vrtovih, zaradi navpične rasti in nezahtevnosti. Obenem hitro dozori, prenese hladnejše temperature in ne potrebuje veliko zemlje. Urbani vrtovi so pomembni predvsem za biotsko raznovrstnost urbanih območij in samooskrbo. Njihova uporaba narašča, saj predstavljajo najpogostejši stik z naravo za večino ljudi (Qasim, 2000).

OPIS RASTLINE GRAHA

Grah (lat. *Pisum sativum*) je kulturna rastlina z belimi cveti in kratkimi stroki oziroma sadovi (Inštitut za slovenski jezik Frana Ramovša, 2025). Spada v kraljestvo rastline, deblo semenke, poddeblo kritosemenke, razred dvokaličnice, red stročnice, družino metuljnice in rod *Pisum*.

Morfološke lastnosti

Listi so prilagojeni za produkcijo hrane, ta nastaja v procesu fotosinteze. Poleg fotosinteze, transpiracije (oddajanje vode), opore in zaščite pa so pomembni tudi za oprijem in pritrditev na podlago. Zato ima rastlina vitice, to so nitasti listi (ali stebila), ki se ovijajo ali nalepijo na podporo. Zato ima rastlina vitice, to so nitasti listi (ali stebila), ki se ovijajo ali nalepijo na podporo. Grahovi listi so sestavljeni, po pomeni, da imajo več majhnih listnih ploskev, imenovanih lističi, ki vsi rastejo iz istega peclja. Prav tako so mrežasto žilnati, kar pomeni da imajo glavno žilo, ki je podaljšek peclja, in mnoge manjše stranjske žile. Posamezni lističi so jajčasti ali široko eliptični, 2 do 6 cm dolgi in 1,5 do 3 cm široki (Stockley, 1994) (slika 8).



Slika 8: Prikaz grahovitih listov (Dreamstime, 2025)

Listne reže so drobne odprtine v povrhnjici, skozi katere se izmenjujejo voda (s procesom transpiracije) in plini (Stockley, 1994). Aktivni del listne reže sta dve celici zapiralke, med katerima je odprtina. Celice zapiralke s spremembo koncentracije osmotsko aktivnih snovi (K^+ , saharoza) uravnavajo vsebnost vode, kar se odraža na njihovem volumnu in znotrajceličnem tlaku. Urejena razporeditev mikrofibril celuloze v celičnih stenah določa, v katere smeri se lahko širi celica, ko se ji poveča volumen. Listne reže se odzivajo na mnoge okoljske in notranje signale, na vsakega na določen način (Vodnik, 2012).

Ob zmanjšani razpoložljivost vode pride do zapiranja listnih rež. Pri hidroaktivnem odzivu celice zapiralke zmanjšajo svoj potencial tlaka na račun transporta osmotikov iz celic zapiralke v sosednje celice. Pri regulaciji tega dogodka lahko sodeluje hormon abscizinska kislina (Vodnik, 2012).

Cvetovi so razmnoževalni organi rastline, ki tvorijo novo življenje. Grah je dvospolna rastlina, kar pomeni, da ima vsak cvet moške in ženske spolne strukture. Grahovi cvetovi so 5-števni, kar pomeni, da ima rastlina pet venčnih listov, pet časnih listov ter pet prašnikov. Venčni listi so nežni, malce obarvani, dišeči in razporejeni okrog razmnoževalnih organov, čašni listi pa so majhni listi okrog brsta in tvorijo čašo (Stockley, 1994). Cvetovi so bele barve, dolgi 2- 3,6 cm, dišeči ter metuljaste oblike (iz tod tudi ime metuljnica). Posamezen cvet cveti do tri dni, celotna rastlina pa 8 do 20 dni (Černe, 1997).

Stebila in korenine so glavne oporne strukture rastlin, pomembne pa so tudi za transport tekočin (Stockley, 1994). Koreninski sistem pri grahu je dobro razvit. Imajo prave korenine, glavno korenino (ki strmi k navpični rasti) z močnimi stranskimi koreninami, ki izraščajo iz nje. Stranske korenine imajo veliko črpalno moč za vodo in hranila, tudi slabo topna kot so fosforjeve in kalijeve soli ((IVR), n.d. (dostopano 2025)). Na stranskih koreninah prav tako "živijo" nitrifikacijske bakterije v koreninskih gomoljčkih, ki iz zraka nase vežejo dušik. Korenine zelo dobro vsrkavajo slabo topne kalijeve in dušikove soli. Grah razvije oglato, votlo, svetlozeleno, redkeje razvejano steblo. Dolžino stebela je proučeval Mendel in ugotovil, da visoko steblo prevladuje pred nizkim. Na stebelu se izmenično razvijajo listi, ti so eno- do tri parni, na koncu pa se končajo z vitico (Černe, 1997) (slika 9). Žile v stebelu so v prečnem prerezu razporejene v krogu, ter imajo razvit kambrijski obroč, ki povzroča sekundarno odebelitev.



Slika 9: Prikaz rastline graha s koreninami (vir: Žan Hace, 2025)

Plod vsebuje rastlinska semena. Po oploditvi se pri cvetnicah semenska zasnova razvije v seme. Plodnica, del kjer cvetni deli izraščajo, dozori v plod, ki nosi semena. Za grah je značilen strok ali lusk, to je plod, ki ima semena pritrjena na notranjo steno (slika 10). Odpre se tako, da počí (Stockley, 1994). V stoku je 2 do 10 semen, ki so okrogla ali oglata ter zelena, sivozelena ali zeleno rumena. Semena imajo 2 mm dolg popek (Černe, 1997).



Slika 10: Razvoj grahovitih strokov (Černe, 1997)

Kalitev

Za grah je značilna podzemna kalitev (slika 11), kar je način, kjer klična lista ostaneta v semenski ovojnici (testa) pod zemljo in je stebelce edini del, ki zraste nad zemljo (Stockley, 1994), (Černe, 1997). Odvisno od temperature in vlage seme vzklikne v 6 do 25 dneh, od kalitve do cvetenja se razvija 25 do 35 dni, od cvetenja so tehnološke zrelosti pa je potrebnih 15 do 30 dni (Černe, 1997).



Slika 11: Prikaz podzemne kalitve (Stockley, 1994)

Rastne razmere

Optimalna temperatura za kalitev je 20 do 25 °C, do cvetenja 12 do 16 °C ob razvoji strokov pa 16 do 22 °C. Ker je grah rastlina zmerno vlažnega podnebja, potrebuje enakomerno vlago tako tal kot zraka. Optimalna talna vlaga je 70 % poljske kapacitete, optimalna vlaga zraka pa je 80 % relativne zračne vlage. Zelo slabo prenaša velika nihanja v količini vlage ter stoječo vodo, zato v težki zemlji, ki po obilnejših padavinah ne prepušča vlage, raste zelo slabo. Grah zahteva veliko svetlobe, v senci rastline poležejo in se pretegnejo, predvsem pa se zakasnit cvetenje in dozorevanje. Grah dobro uspeva v rahlo kislih do nevtralnih tleh s pH 6,5 do 7. V kislih s pH pod 5 ne nitrifikacijske bakterije ne morejo razvijati (Černe, 1997).

Vodni potencial

Vodni potencial je merilo za razpoložljivost vode v nekem sistemu (tla, rastlina, ozračje). Upošteva glavne sile, ki vplivajo na vodo ter ji zmanjšajo ali pa povečajo njeno prosto energijo (Holzer, 2013). Vodni tok vedno teče s področja višjega na področje nižjega vodnega potenciala, v nasprotnem primeru je potrebna energija. Za transport v rastlinah so pomembne tri komponente: osmotski potencial (ψ_s), gravitacijski potencial (ψ_g) in tlačni potencial ali turgor (ψ_p). Da bi voda tekla po ksilemu navzgor, mora biti v listih potencial nižji kot v koreninah (Faletič, 2010).

Na razpoložljivost vode v rastlini vplivajo trije glavni dejavniki. Ti dejavniki so koncentracija topljencev, tlak in gravitacija. V poroznih sistemih na razpoložljivost vode vpliva tudi vezava vode na površino (matriks). Tako lahko vodni potencial zapišemo tudi z naslednjo enačbo:

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_m + \Psi_g$$

Kjer pomeni:

Ψ_w – skupni vodni potencial

Ψ_s – osmotski potencial

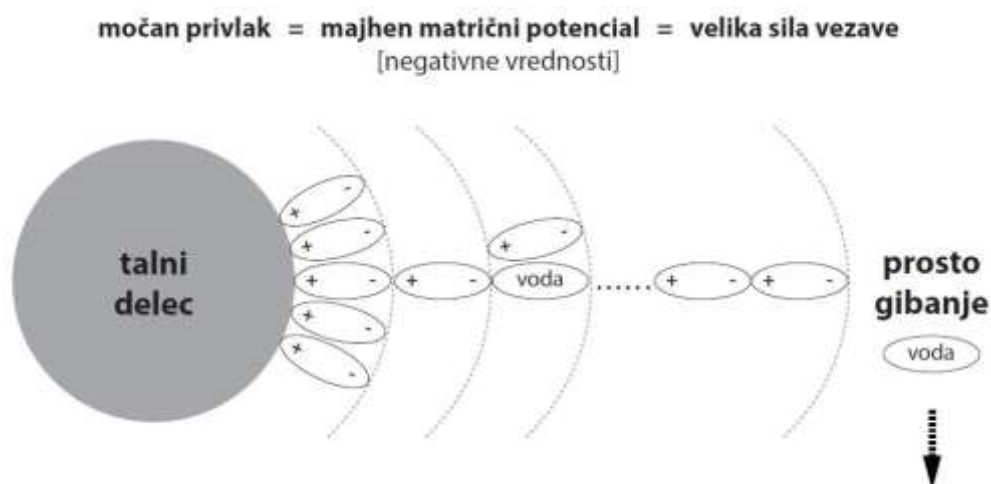
Ψ_p – tlačni potencial

Ψ_m – matrični potencial

Ψ_g – gravitacijski potencial

(Holzer, 2013)

Tenzija je izraz za negativni tlak, ker med talnimi delci in molekulami vode (tudi samo med slednjimi) delujejo privlačne sile. Če opazujemo zanemarljivo majhen del vode (zanemarimo maso in volumen vode), potem govorimo o potencialu oz. v tem primeru o matričnem potencialu vode v tleh, ki ima negativni predznak in ga označujemo z grško črko psi (Ψ). Vsaka naslednja plast vode, vezana na talne delce ima nekoliko večji matrični potencial (od večje negativne vrednosti se pomikamo proti ničli), kar pomeni manjše sile vezave (slika 12).



Slika 12: vezava vode na talni delec (vir: (Velikonja, 2019))

Čim več vode je v tleh, večji je matrični potencial in voda je vedno bolj dostopna rastlinam. Vstop vode iz tal v rastline preko koreninskih laskov je možen, če je matrični potencial vode v tleh večji (manjša negativna številka) od potenciala vode v rastlinah, ki se prav tako izraža v negativnih vrednostih v MPa. Rastline morajo zato, da lahko sprejmejo vodo skozi koreninske laske, premagati njen matrični potencial v tleh.

Ko se vsebnost vode zmanjša, se zmanjša turgor, s tem pa tudi volumen celic. Posledično se celična membrana odebeli, njena vsebina pa postane bolj koncentrirana. Zmanjšanje turgorja je prvi obrambni mehanizem rastline pri zmanjšani razpoložljivosti vode, zato sta posledično najbolj občutljiva na sušni stres rast listov in podaljševanje korenin (Velikonja, 2019).

STRESNI HORMONI

Etilen

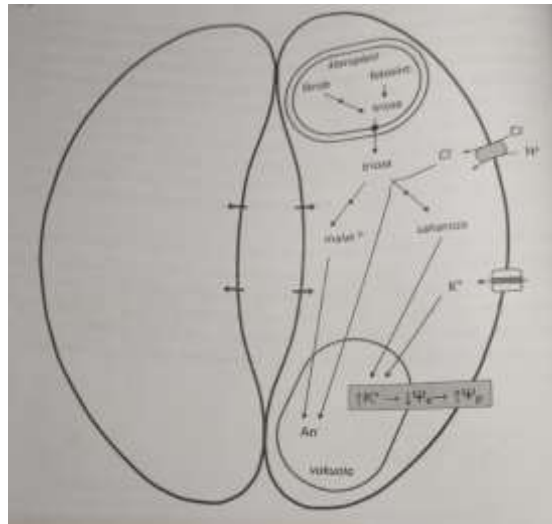
Etilen je nenasičen ogljikovodik, plin, ki ima zelo izrazite in različne učinke na rastline. V rastlinah se etilen sintetizira po relativno preprosti sintezni poti, ki je regulirana z razvojnimi in okoljskimi dejavniki. Sinteza etilena se močno poveča ob zorenju plodov, kalitvi, staranju in absciziji. Inducirajo jo različni stimulusi, kot so avksini, citokinini, svetloba, patogeni organizmi, ranitev in različni okoljski stresorji (v našem primeru delci asfalta). Fiziološki učinki etilena so zorjenje plodov, odziv na hipoksijo, rast celic v širino, indukcija korenin in koreninskih laskov, zaviranje cvetenja, staranje ter odpadanje listov in plodov (Vodnik, 2012).

Abscizinska kislina

Abscizinska kislina (ABA) je hormon, ki ga lahko opazimo v vseh glavnih rastlinskih organih in živih rastlinskih tkivih. Količina abscizinske kisline se lahko v nekaterih rastlinskih tkivih precej in hitro spremeni. V razvijajočih semenih se lahko v nekaj urah poveča za stokrat. Še hireje, v nekaj urah, pride do vsebnosti ABA v listih ob suši. Abscizinska kislina vpliva na razvoj semen, kalitev, brstenje, prevodnost listnih rež in staranje.

Ob pomankanju vode močno naraste koncentracija abscizinske kisline v listih, delno na račun transporta novonastale ABA iz korenin, delno zaradi sproščanja tega hormona iz organelov v celicah lista. ABA zaznajo receptorji na plazmalemi celic zapiralk, posledično pa se v njihovem citosolu poveča koncentracija Ca^{2+} . To vodi v odprtje kanalčkov za transport K^+ iz celice, medtem ko so kanalčki za vstop K^+ v celico zaprti. Upad koncentracije citosolnega kalija pomeni povečan osmotski potencial, zaradi česar celico zapiralko zapušča voda. Zaradi padca turgorja se celici zapiralki primakneta druga k drugi in reža se zapre.

Abscizinska kislina je udeležena pri regulaciji razmerja med rastjo nadzemnega dela in korenin. Pri rastlinah, ki so izpostavljene suši, se razmerje med maso korenin in maso nadzemnega dela poveča. ABA naj bi ta odziv regulirala z etilenom. Kadar je vode dovolj, ABA spodbuja rast nadzemnega dela z zaviranjem sinteze etilena. V razmerah sušnega stresa pa enak mehanizem deluje v koreninah (Vodnik, 2012).



Slika 13: Delovanje listne reže (Vodnik, 2012)

Splošni odgovor rastline na stres

Če so rastline izpostavljene suši, se lahko pojavijo določeni odzivi:

- Zapiranje listnih rež, kar zmanjšuje transpiracijo in izgubo vode
- nižji potencial tlaka zaradi pomanjkanja vode v tkivih
- Ne-stomatilna inhibicija fotosinteze, kar zmanjša sintezo proteinov
- Slabša rast celic, spremembe v koncentraciji in delovanju rastnih regulatorjev (več ABA).

Kljub vsemu pa lahko pride do povečevanja dolžine korenin, kar pa je odvisno od privzema vode. To se bolj izrazito kaže na začetku izpostavljenosti stresnim situacijam, saj se organizmi s časoma privadijo. Na dolgi rok pa lahko pride tudi do vpliva na fotosintezo (Ministrstvo za kmetijstvo, 2008).

ZEMLJA

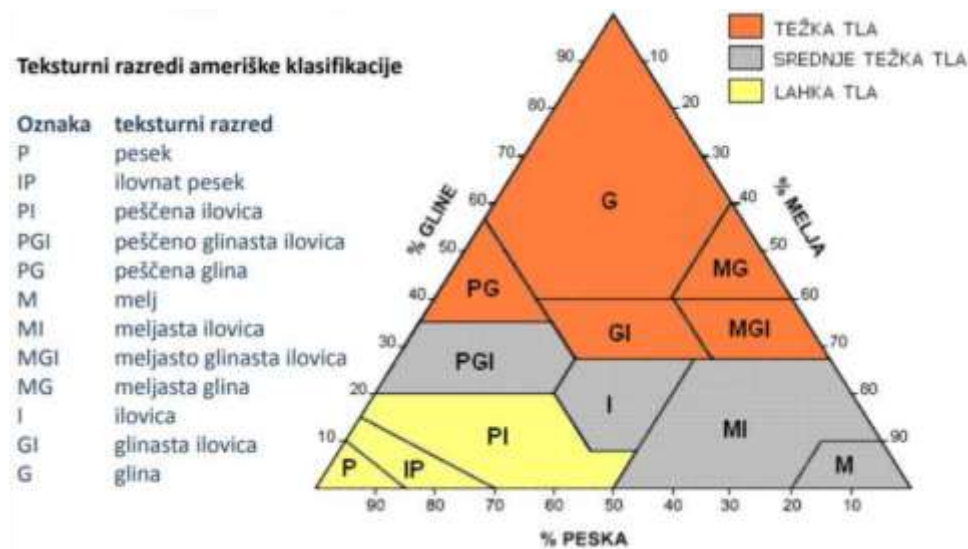
Zgradba tal

Na biokemijske procese vplivata tekstura in struktura tal.

Teksturo tal določajo deleži ločljivih delcev po velikosti. To so teksturni razredi, ki so odvisni od deleža peska, melja in glin.

Struktura tal predstavlja povezanost delcev v skupke oziroma strukturne agregate in njihovo urejenost v prostoru. Agregate ločimo na mikroagregate, premera $< 50 \mu\text{m}$, ter makroagregate, premera $> 50 \mu\text{m}$.

Prostorski ureditvi talnih delcev, agregatov in praznin pravimo struktura tal. Ta določa delež, velikost in obliko por in talnih prostorov ter razmerje med makro- mezo- in mikroporami v tleh.

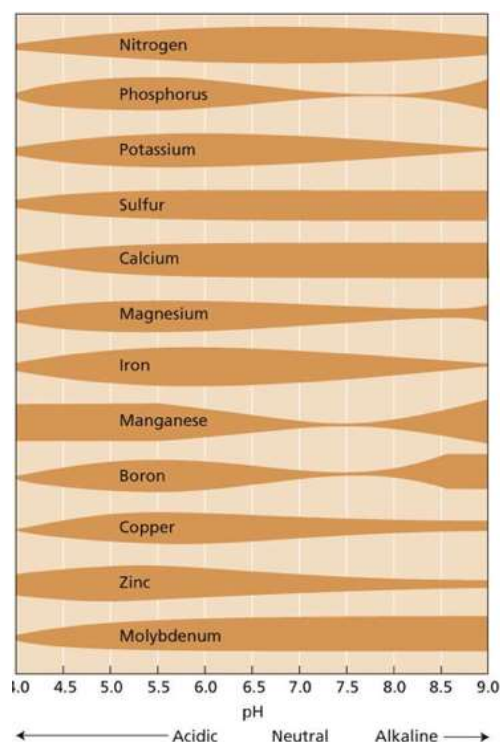


Graf 1: Prikaz teksturnih razredov ameriške klasifikacije tal (Taiz in sod., 2010)

Vpliv pH na tla

Tla so lahko kislá, bazična ali pa nevtrálna. Kislá tla povzročajo boljše topnost ionov mineralov v vodi. V kislíh tleh je prisoten problem izpiranja zaradi disociacije iz delcev prsti (so v talni raztopini in se lahko sperejo).

Bazična tla povzročajo večanje negativnega naboja delcev prsti, obarjanje mineralov in s tem njihovo manjšo dostopnost rastlinam.



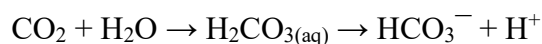
Slika 14: Prikazana biodostopnost elementov pri pH 4-9 (Taiz in sod., 2010)

Vidimo, da sta kalij in žveplo zelo dobro dostopna, so pa elementi ki so zelo slabo dostopni in imajo ožji pH dostopnosti: fosfor, mangan, bor.

Kationska izmenjevalna kapaciteta v tleh

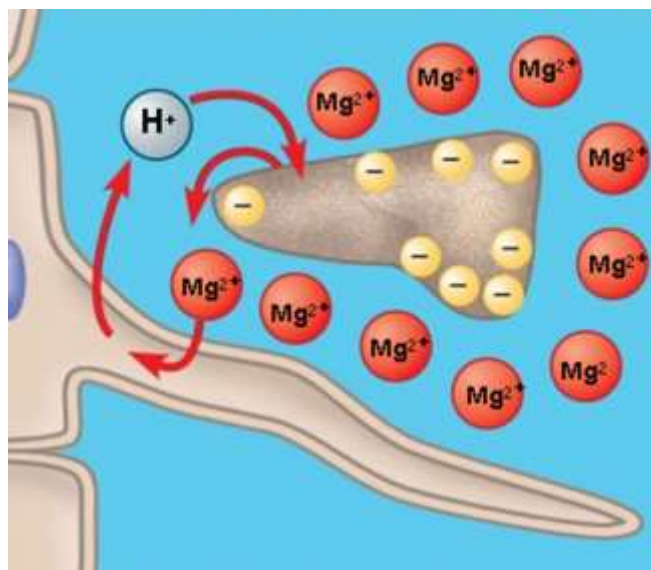
Kationska izmenjalna kapaciteta je sposobnost tal za zadrževanje in izmenjavo kationov, kar je povezano s količino in tipom talnih delcev v tleh. Kationi (na sliki Mg^{+}) se namreč vežejo na površino talnih delcev, saj so negativno nabiti.

V korenini poteka celično dihanje, pri čemer nastaja CO_2 . Ta se nato poveže z vodo in tvori ogljikovo kislino H_2CO_3 . H_2CO_3 ima močno težnjo k interakciji z protonskimi ali kisikovimi (in dušikovimi) topili. Voda izpolnjuje ti dve značilnosti topil, zato povzroči razpad H_2CO_3 na karbonatni ion HCO_3^{-} in vodikov kation H^{+} .



Na talne delce se vežejo vodikovi ioni (H^+) iz korenin ali tal, ki izpodrinejo druge katione na talnih delcih (slika 15). Posledično postanejo snovi kot so magnezij, kalcij, natrij (kationi) pri zadostni količini vode v tleh bolj dostopne za korenine, medtem ko pri manjši razpoložljivosti vode v tleh postanejo ti kationi manj dostopni za korenine. Do slabše dostopnosti pride, ker koreninski sistem lahko sprejema le ione, ki so raztopljeni v vodi.

Količina vodikovih kationov v zemlji tako vpliva tudi na pH tal, saj vodikovi ioni znižajo pH, tla pa postanejo bolj kislila. (Lincoln Taiz, 2015)



Slika 15: Prikaz kationske izmenjevalne kapacitete (vir prof. Maček, 2025)

Lastnosti vode

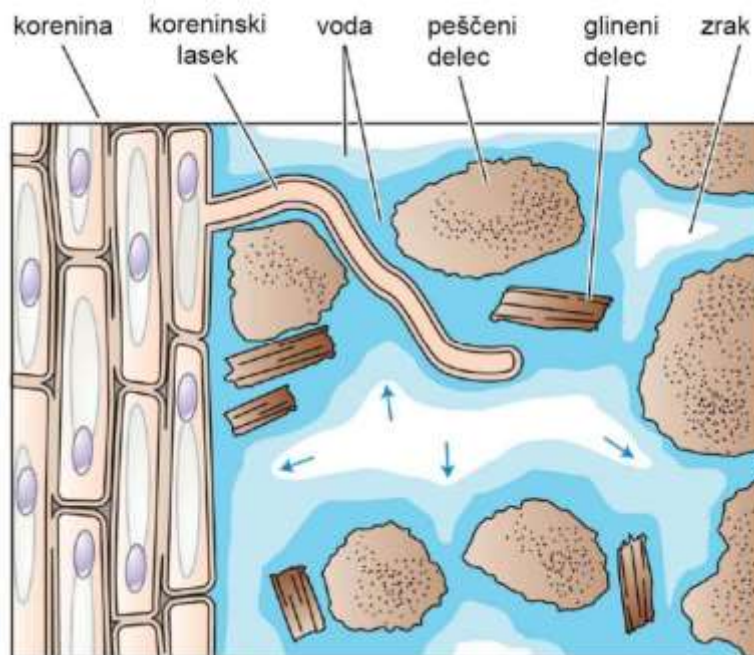
Vodikova vez daje vodi nekatere posebne lastnosti:

- Veliko energije je potrebne za segrevanje
- Veliko energije je potrebne za uplinjanje
- Površinska napetost
- Adhezija - sposobnost vezave vode na površine
- Kohezija - če premaknemo eno molekulo vode, zraven premaknemo še vse ostale, ki so povezane z vodikovimi vezmi

Odtekanje vode

Tekstura tal vpliva na kapaciteto zadrževanja vode v tleh in tako tudi na premikanje hranil znotraj talne raztopine. Tla z velikim deležem peska imajo velike prostore med talnimi delci (porami) in zato majhno kapaciteto zadrževanja vode. Voda iz takih tal odteče zelo hitro.

Talne pore omogočajo gibanje zraka, vode, mikrobov in onesnažil. Večje kot so pore, hitreje odteče voda.



Slika 16: Prikaz vode in delcev prsti ob korenini (Taiz in sod., 2010)

Na sliki št. 16 so veliki delci peska, med katerimi so velike pore. V porah je veliko zraka, saj je voda zaradi tako velikega prostora odtekla.

2.2.2. KOPENSKI RAK ENAKONOŽEC (*Porcellio laevis*)

Za raziskavo smo uporabili poskusni organizem *Porcellio laevis* (mokrice), saj je pogost pokazatelj kvalitete zemlje (Roques, Richard, & Houdelet, 2020), prav tako so dobri poskusni organizmi, na katerih je potekalo že veliko raziskav in imajo dobro poznano telesno zgradbo ter delovanje. V Sloveniji so zelo razširjeni in jih najdemo na vlažnih območjih ter so pomemben člen v procesu razgrajanja organskega materiala.

OPIS ORGANIZMA

Mokrice (slika 17) uvrščamo med rake (Crustacea) in sicer med enakonožce (Isopoda). Enakonožce delimo na 9 podredov. Kopenske enakonožce uvrščamo v podred kočičev ali prašičkov (Oniscoidea) (Mršič, 1997).



Slika 17: *Porcellio laevis* na kosu lesa (WIKIPEDIA, 2025)

RAZŠIRJENOST

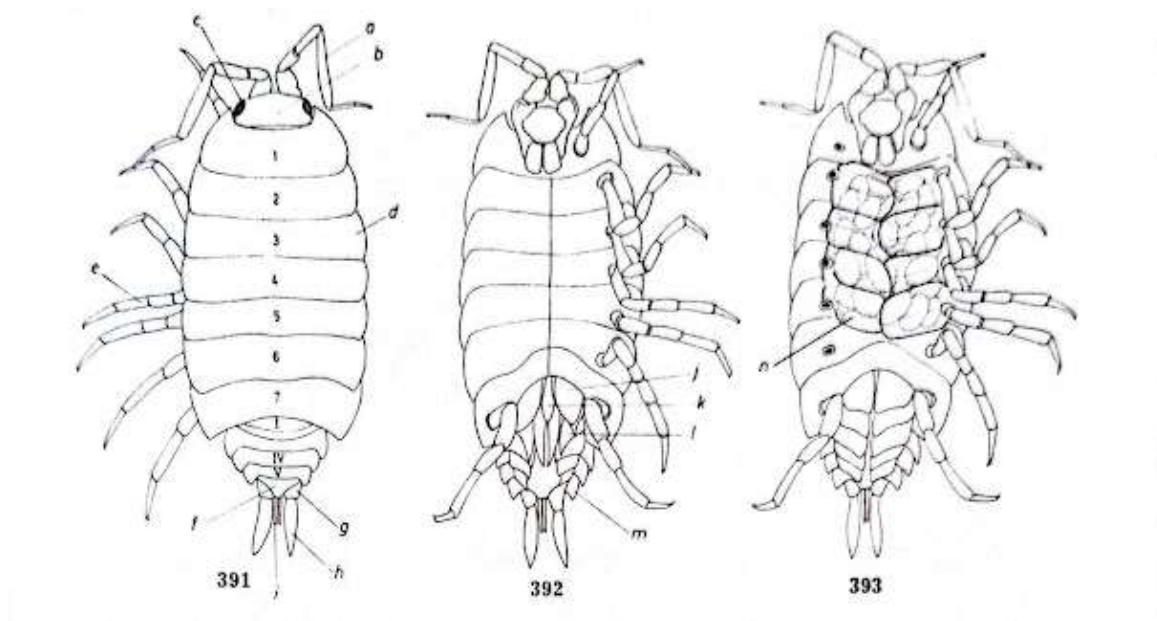
Prašički (družina Oniscidae) so večinoma kopenski raki in živijo v majhnih vlažnih bivališčih. Najdemo jih predvsem v gnijočem lesu, pod kamni in v jamah (dr. Richard Barnes in sod. , 2001). Celotna skupina je močno odvisna od matične podlage. Najdemo jih predvsem na apnencih in dolomitih, le redke vrste lahko uspevajo, kjer ni kalcija. Živijo pretežno v tleh, najdemo pa jih tudi v kletih. Največ vrst prašičkov najdemo v vlažnih listnatih in mešanih gozdovih, kjer živijo v gozdni stelji. Precej manj pa jih najdemo v iglastih gozdovih, saj so odpadle iglice za njih težje prebavljive (Mršič, 1997). Mokrice so značilne za celinsko Evropo, vendar so se razširile po vseh celinah razen na Antarktiki (Animal Diversity Web, 2025).

ANATOMIJA IN MORFOLOGIJA MOKRICE

Telo je ploščato, podolgovato ovalne oblike. Z glavo je zrasel prvi telesni člen; oprsje ali pereon je iz sedmih in zadek ali pleon iz petih telesnih členov (slika 18). Imajo zelo majhne prve in večje druge antene, normalno razvit obustni sistem čeljusti in čeljustne nožice, sedem parov hodilnih nožic, pet parov zadkovih in en par repnih (Carfi, 1993). Oprsje je sestavljeno iz sedmih, med seboj gibljivo povezanih segmentov, ki so sestavljeni iz hrbtnih in trebušnih ploščic. Zadek je sestavljen iz 5 členov, ki niso trdo zrasli. Izločalo je večja spodnječeljustna žleza (Mršič, 1997).

Pri mokrici *Porcellio laevis* se razvije nov tip dihal in sicer neprave dihalnice t. i. psevdotraheje. Podobne so trahejam stonog in so izoblikovane kot žepki na eksopoditih zadkovih nožic (slika 12). Možno je različno število od 0 do 5 in se razlikuje glede na stopnjo prilagojenosti na kopne razmere (Carfi, 1993) (slika 19).

Pri *P. laevis* je prednje in zadnje črevo zaščiteno z debelo kutikulo, srednje črevo pa nadomešča prebavna žleza hepatopankreas, ki ni prekrita s kutikulo, zato tam poteka absorpcija hranil (Dolar in sod., 2021) (slika 20).



Slika 18: Telesna zgradba kopenskega raka enakonožca (Mršič, 1997)

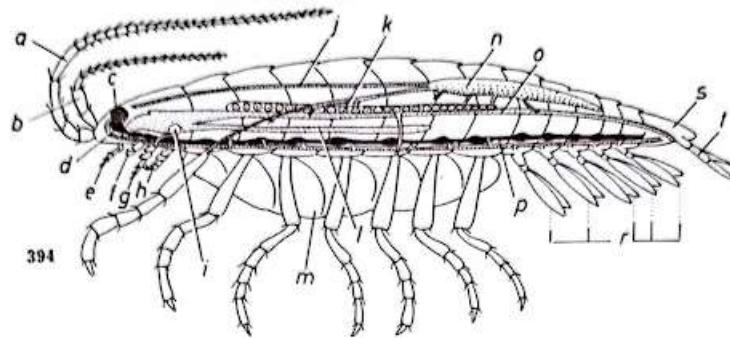
Opis slike 19:

391-393 Telo kočiča (Oniscoidea)

391- hrbtna stran, 392- trebušna stran, 393-samica z jajčeci (n) v marzupiju

1-7: oprsni segmenti, I-V: zadkovi segmenti

a - druga tipalnica (antena) (prvi tipalnici-antenuli nista vidni, nameščeni sta med drugima tipalnicama), b- »glava« (glavoprsje), c- oko, d- bočno krilce (epimera), e- noga hodilnika, f- »rep« (telson), g- protopod repne nožice, i- notranja veja repnenožice, j- zunanja veja 1. zadkove nožice, k- penis, l- zunanja veja 2. zadkove nožice, m- bočno krilce (epimera) zadka, n- oostegoit (Mršić, 1997)

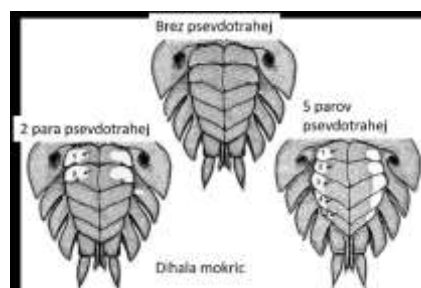


Slika 19: Telesna zgradba kopenskega raka enakonožca (Mršić, 1997)

Opis slike 20:

394- Vzdolžni prerez telesa kočiča (Oniscoidea)

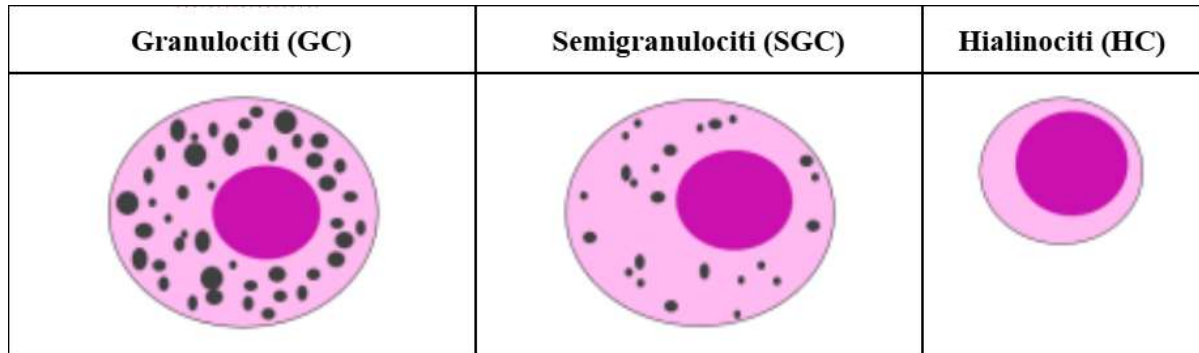
a - prva tipalnica (antena), b- druga tipalnica (antenula), c- sestavljeno oko, d- možgani, e- sprednja čeljust (mandibula), f- prva maksila (maksilula), g- druga maksila, h- čeljustna nožica (maksilipedij), i- spodnječeljustna žleza, j- aorta, k- jajčnik (ovarij), l- srednječrevesna žleza, m- valilna vreča, sestavljena iz oostegitov, n- srce, o- črevo, p- trebušnjača, r- zadkove nožice (pleopodi), s- »rep«, t- repna nožica (uropod) (Mršić, 1997)



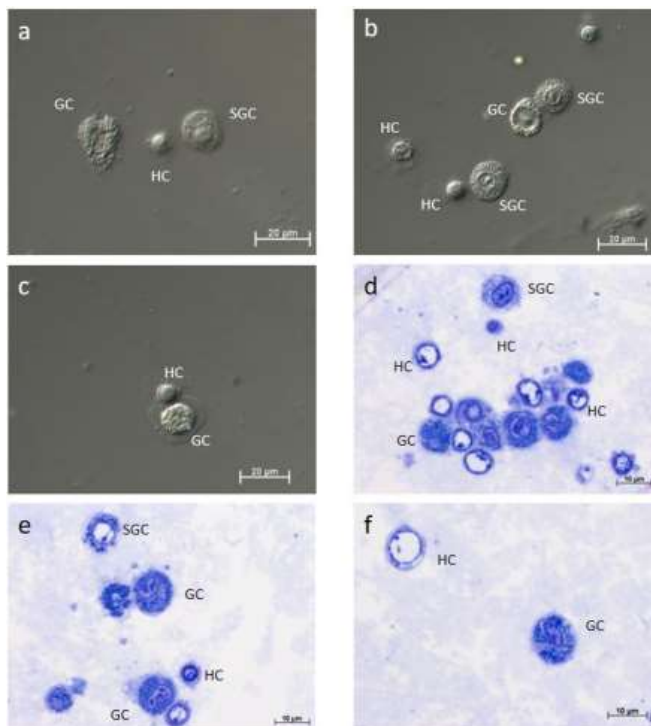
Slika 20: Psevdotraheje na eksopoditih zadkovih nožic: (British Myriapod and Isopod Group, 2025)

KRVNA SLIKA MOKRICE

Hemolimfa je sestavljena iz treh vrst hemocitov. Njihova primarna naloga je prepoznavanje, fagocitiranje, noduliranje in enkapsuliranje tujkov ter sinteza in izločanje molekul humoralne telesne obrambe. Celice se lahko nahajajo prosto v hemolimfi ali pa migrirajo v tkiva. Delimo jih na semigranularne (SGC), granularne (GC) in hialine (HC) (slika 21). Njihove vloge v organizmu se razlikujejo pri različnih skupinah rakov (Dolar in sod., 2021).



Slika 21: Vrste hemocitov (Dolar, 2021)

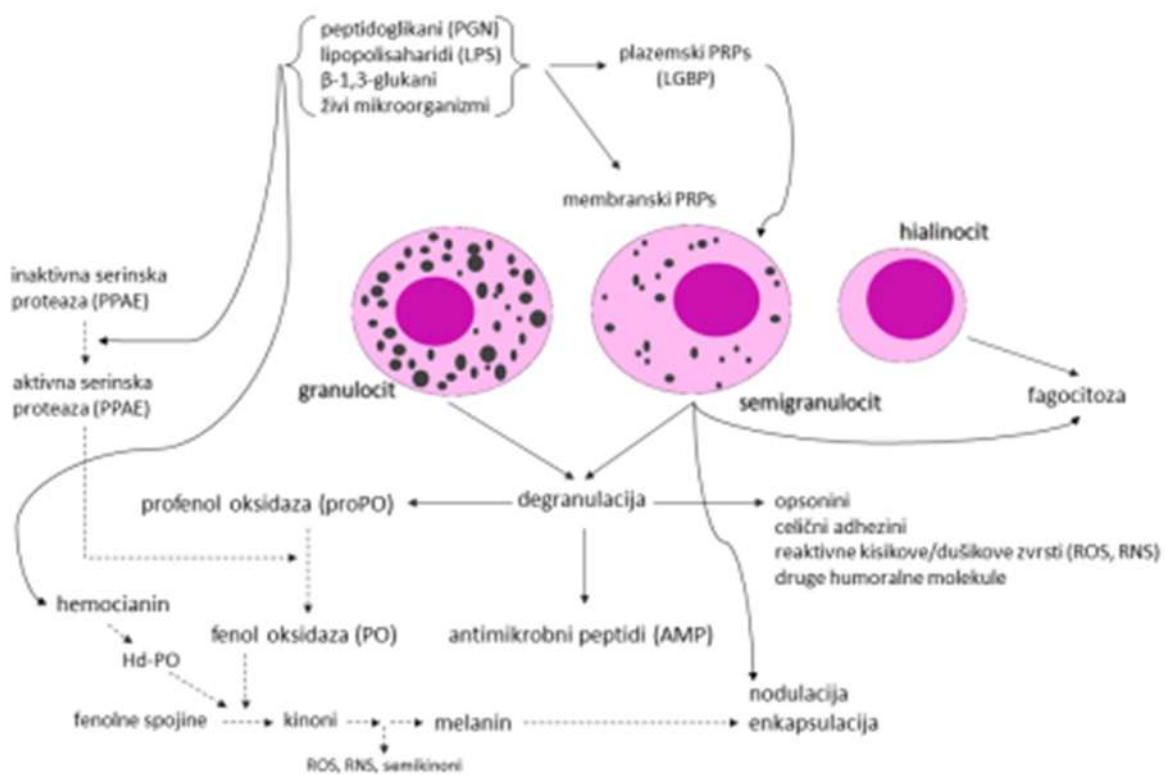


Slika 22: Vrste hemocitov pod mikroskopom (Dolar, 2021)

Slika 22 prikazuje hemocite kopenskih rakov pod mikroskopom. Vidni so granulociti (GC), semigranulociti (SGC) in hialinociti (HC).

OBRAMBNI SISTEM RAKOV

Primarna obrambna strategija rakov (slika 23) temelji na vedenjskih prilagoditvah (izogibanju) in zunanjem ogrodju s kutikulo, ki zagotavlja fizično in kemično zaščito organizma pred mehanskimi poškodbami in hkrati ščiti pred pritrjevanjem in vdorom patogenov ter parazitov v telo. Primarno mesto za vdor patogenih mikroorganizmov in parazitov predstavlja prebavilo in sicer prebavna žleza hepatopankreas, ki ni prekrita s kutikulo. Tam lahko pride tudi do izpostavljenosti različnim kemikalijam in umetnim ter naravnim delcem, ki lahko trajno poškodujejo organizem. Imajo prirojeni imunski sistem, vendar novejša raziskava potrjujejo prisotnost imunskega spomina. (Dolar in sod., 2021).



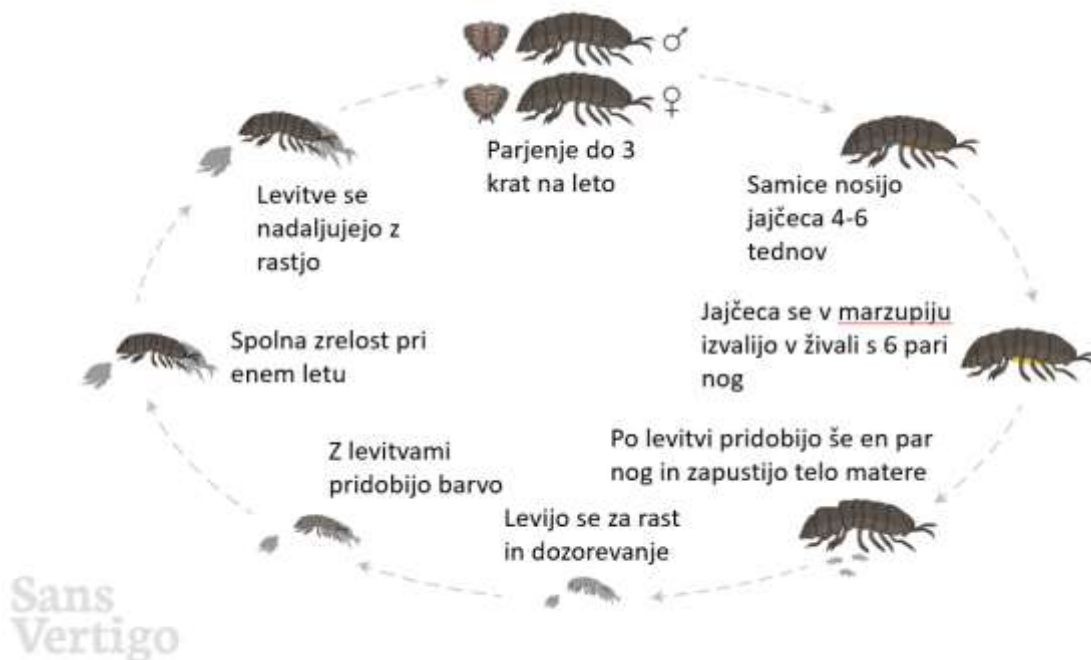
Slika 23: Imunski odziv (Dolar in sod., 2021)

Na ravni celice pride ob prisotnosti stresa do povečane produkcije ali aktivacije antioksidativnih proteinov in proteinov za odziv na toplotni šok, kar je podobno kot odziv pri vretenčarjih (Roques, Richard, & Houdelet, 2020).

Velik del imunskega odziva je odvisen od PO-jev (phenol-oxidases), ki so vključeni v proces enkapsulacije in melanizacije patogenov, celjenja ran in sklerotizaciji kutikule. Ti encimi potrebujejo fenolne komplekse kot so tirozin in substrati. Aktivnost encimov je odvisna od bakra, ki je vezan na evolucijsko ohranjena vezna mesta (Irmak, Kurtz, & Zimmer, 2005).

RAZMNOŽEVANJE IN RAZVOJ

Oploditev je notranja. Mokrice spolno dozori po enem letu in se pari do trikrat na leto. So popolnoma neodvisne od vode, njihov osebni razvoj (ontogeneza) poteka v posebnih valilnikih (marzupijih) samic, kjer nosijo jajčeca 4 do 6 tednov, tam se jajčeca tudi izvalijo. Sprva imajo 6 parov nog, ko pa zapustijo telo matere se levijo in pridobijo še en par nog (Sans Vertigo, 2018) (slika 24). Živijo od dveh do nekaj let in se skozi življenje levijo, saj nenehno rastejo. Levijo se do dvakrat na mesec. Najprej levijo svoj zadnji del, nato sprednji. Svoje leve pogosto pojedo. Zanimivo je, da se levi tudi prebavna cev, ki je prekrita s kutikulo. Pred levitvijo iz stare kutikule zberejo uporabne snovi, predvsem kalcij, ki ga uporabijo za izgradnjo nove kutikule (Barber, 2019).



Slika 24: Prikaz razvojnega kroga mokrice (Sans Vertigo, 2018)

PREHRANJEVANJE

Mokrice so razkrojevalci organskega materiala zaradi visoke vsebnosti določenih mikrobov, prisotnih v tej vrsti hrane. Pogosto zaužijejo svoje iztrebke; da povečajo zaloge bakra v telesu, ki je za njih nujen, saj njihova kri vsebuje hemocianin (prenašalec kisika, ki vsebuje baker (Holde, Miller, & Decker, 2001). Prav tako pa na ta način ohranijo koristne bakterije, ki jim omogočajo razgradnjo določenih hranil. Imajo endosimbiotske bakterije (*Candidatus Rhabdochlamydia porcellionis*), ki živijo v njihovem hepatopankreasu in jim pomagajo razgraditi celulozo (Animal Diversity Web, brez datuma). Prehranjujejo se z odmrlo organsko snovjo, pretežno rastlinskega izvora (Mršić, 1997). Pogosto pojejo tudi svoj lev, da ohranjajo količino kalcija v telesu (Barber, 2019). So detritovori, kar pomeni, da ko razgrajujejo organski material lahko hkrati zaužijejo delce zemlje, kljub temu pa se zlahka spremenijo v rastlinojede ali celo mesojede. Pojejo tudi mokrice iste ali druge vrste, še posebej ko pride do interakcij ali neugodnih razmer. Ponavadi pojejo šibke posameznike npr. poškodovane ali pa tiste, ki so sredi levitvenega procesa (Clec'h, in drugi, 2013).

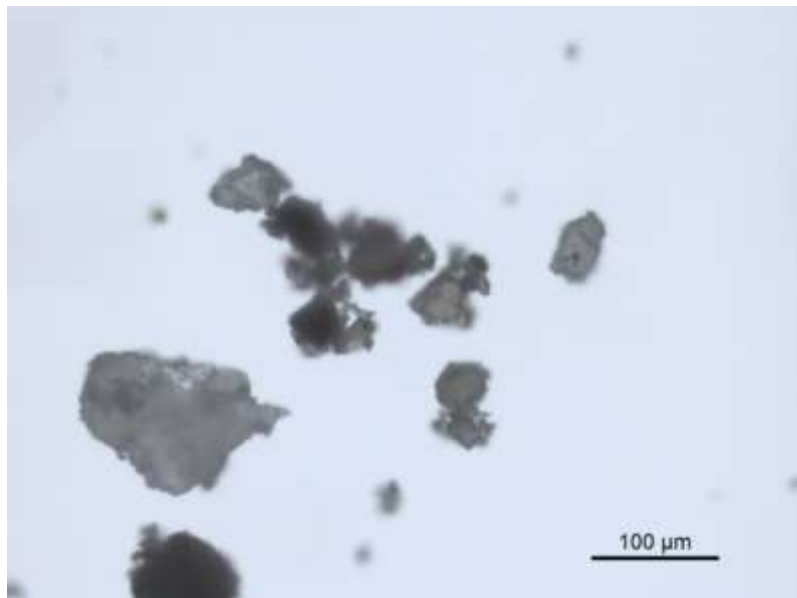
VLOGA V EKOSISTEMU

Predstavljajo pomemben člen v procesu nastajanja humusa. Celuloze in lignina ne prebavljajo, pomembni pa so pri drobljenju rastlinskih ostankov, ker s tem povečujejo aktivno površino delcev in omogočajo lažji dostop razkrojevalcem organskih snovi, tj. bakterijam in glivam (Mršić, 1997).

3. PRAKTIČNI DEL

3.1. PRIPRAVA ASFALTA

Sveže položen asfalt (slika 27) smo vzorčili na cesti Rafolče-Brdo (občina Lukovica). V laboratoriju smo večje kose asfalta zmleli v drobne delce z mlinom MillMix 20 (Domel, Slovenija), (slika 29). Asfalt smo mleli 1 min pri frekvenci 30 Hz. Pridobljeni delci asfalta (slika 26 in 28) so nepravilnih oblik, zato smo za določitev velikosti delcev merili najdaljšo dimenzijo. Pod svetlobnim mikroskopom AxioImager Z1 (Zeiss, Nemčija) smo zajeli sliko delcev in v programu ImageJ izmeril velikost delcev.



Slika 25: Slika fino zmletega asfalta pod mikroskopom (vir: Žan Hace)

Tabela 1: Dolžina delcev asfalta v μm

Dolžina	Dolžina delcev (μm)
Povprečna	30.76
Najmanjša	3.97
Največja	260.64
std. Odklon	50.94
std. Napaka	3.84

Povprečna dolžina delcev je 30,76 μm (slika 25). To pomeni da ti delci spadajo pod mikroagregate, kot je melj. Njegova velikost je od 0,002 mm do 0,050 mm. Najmanjši delci so merili od 3,97 μm , največji pa vse do 260,64 μm (Tabela 1).



Slika 26: Prikaz zmlatega asfalta (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)



Slika 27: Večji deli svežega asfalta (vir: Tajda Adrovič Flisar, 2025)



Slika 28: Zmleti asfalt (vir: Žan Hace, 2025)



Slika 29: Mlin za mletje plastike (vir: Žan Hace, 2025)

3.2. POSKUSI Z RASTLINAMI

3.2.1. NAČRT POTEKA EKSPERIMENTA

- Izbor semen: izbrali smo semena graha
- Namakanje semen v žajbljevem čaju čez noč, da bi pospešili kalitev.
- Priprava posod za sajenje
- Priprava zemlje
- Sajenje semen na primerni razdalji
- Navlažitev zemlje
- Posode pokrite do kalitve, za boljšo kalitev
- Štetje kaljenih semen
- Po začetku kaljenja premik posod na svetlo mesto in zalivanje z enakim volumnom vode, glede na vlažnost zemlje
- Sprotno merjenje dolžine poganjka
- Po 20 dneh meritev dolžine rastline (poganjek in koreninski sistem) in koreninskega sistema
- Ogled listnih rež pod mikroskopom ter štetje in merjenje velikosti listnih rež
- Meritev pH zemlje v sejalnih posodah

3.3.2. DELO V ŠOLSLEM LABORATORIJU

PRIPRAVA ZEMLJE

Za poskus smo uporabili zemljo za direktno presajanje okenskih balkonskih in sobnih rastlin ter pridelavo zelenjave in začimb (1000 cvetov), ki vsebuje konjski in goveji gnoj, gnoj kalifornijskih deževnikov ter ostale naravne surovine. Da smo ugotovili kolikšen delež mase zemlje predstavlja voda, smo posušili 10 g zemlje in prišli do zaključka, da predstavlja masa zemlje 30 % celotne mase. Na 350 g neposušene zemlje, od česar je bila masa suhe zemlje 105 g, smo preračunali ustrezne mase dodanega asfalta glede na želeno koncentracijo.

- Kontrola: za kontrolno skupino smo uporabili 350 g neposušene zemlje
- Asphalt:
 - 1 %: dodali smo 1,05 g asfalta
 - 5 %: dodali smo 5,25 g asfalta
 - 10 %: dodali smo 10,50 g asfalta
 - 40 %: dodali smo 42,0 g asfalta

Ko smo dodali asfalt smo ga v zemlji dobro premešali.

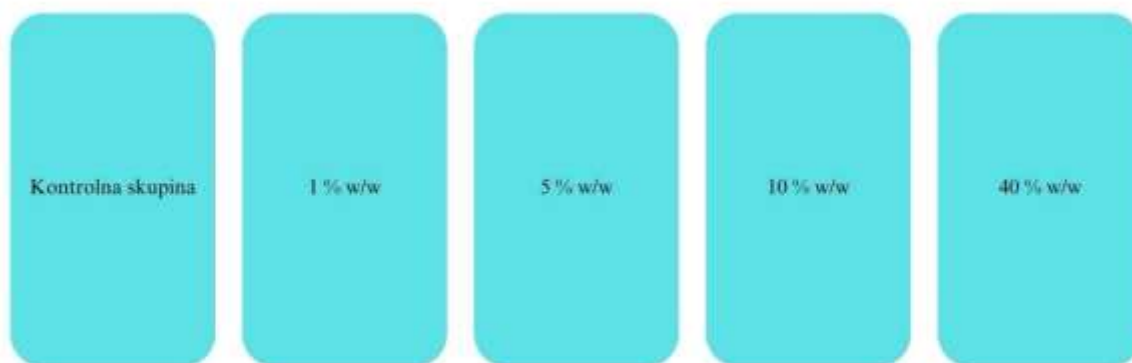
PRIPRAVA SEJALNIH POSOD

V dna večjih plastičnih posod smo naredili luknje, da smo omogočili odtekanje vode (slika 30).



Slika 30: Delanje lukenj v dna posod (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

Pri poskusu smo uporabili pet sejalnih posod, za vsako posamezno skupino (slika 31).



Slika 31: Razporeditev poskusnih posod (vir: Tajda Adrovič Flisar, 2025)

SEJANJE

V vsako posodo smo dali zemljo z določeno koncentracijo in vanjo posejali 12 semen (slika 33), ki smo jih čez noč namakali v žajbljevem čaju – razkužilo (slika 32).



Slika 32: Kuhanje žajbljevega čaja (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

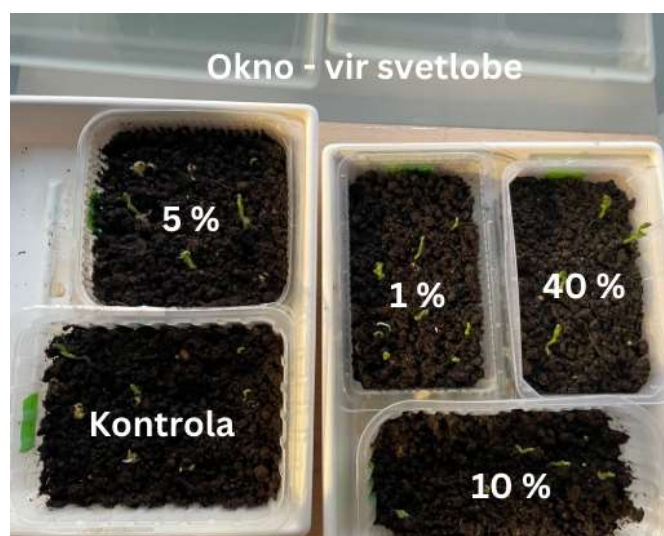


Slika 33: Razporeditev semen (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

3.3.3. MERJENI PARAMETRI

KALITEV IN RAST

Posode smo odnesli domov in opazovali kalitev in rast. V času pred kalitvijo smo posode pokrili s prozorno folijo za boljšo kalitev. To smo naredili zato, da se je v posodah zadrževalo več vlage, kar pospeši kalitev. Ko so semena začela kaliti smo prešteli kaljena semena in posode postavili na okensko polico, da so rastline prejele dovolj svetlobe za rast (slika 34). Med poskusom smo jih zalivali po potrebi (vse skupine z enakim volumenom) in jim dodali oporo, če je bilo potrebno. Med rastjo smo tudi vsak dan merili dolžino poganjkov. Rasle so pri sobni temperaturi okrog 21 °C. Poskus smo končali po 20 dneh.



Slika 34: Razporeditev posod ob viru svetlobe (vir: Žan Hace, 2025)

OPAZOVANJE LISTNIH REŽ

Po končanem poskusu smo iz vsake skupine izbrali pet listov, s katerih smo odstranili spodnjo povrhnjico (slika 35) in jo postavili pod mikroskop. Uporabili smo Motic Panthera mikroskop in Moticam 1080 kamero za projekcijo slike na računalnik (slika 36). Povrhnjice listov smo si ogledali pod 400x povečavo (slika 37) in prešteli listne reže v vidnem polju ($0,6 \text{ mm}^2$). Število rež smo delili s površino vidnega polja, da smo dobili podatek za število listnih rež na mm^2 . Poleg tega smo opazovali tudi velikost listnih rež (slika 38) v primerjavi s kontrolo. Velikosti listnih rež smo izmerili s pomočjo programa Motic software. Merili smo jih po dolžini (slika 39).



Slika 35: Uporabljeno orodje za mikroskopiranje (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)



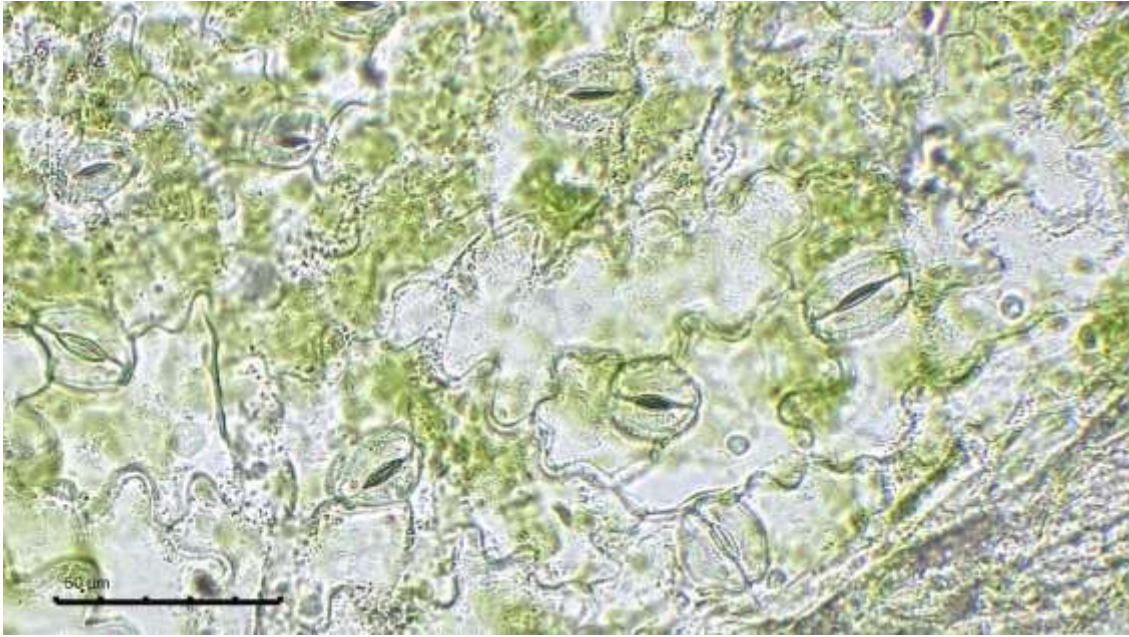
Slika 36: Mikroskopiranje z mikroskopom Motic Panthera in kamero Moticam 1080 (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)



Slika 37: Prikaz listnih rež pod 400x povečavo (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)



Slika 38: Prikaz merjenja velikosti listne reže v programu Motic software (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)



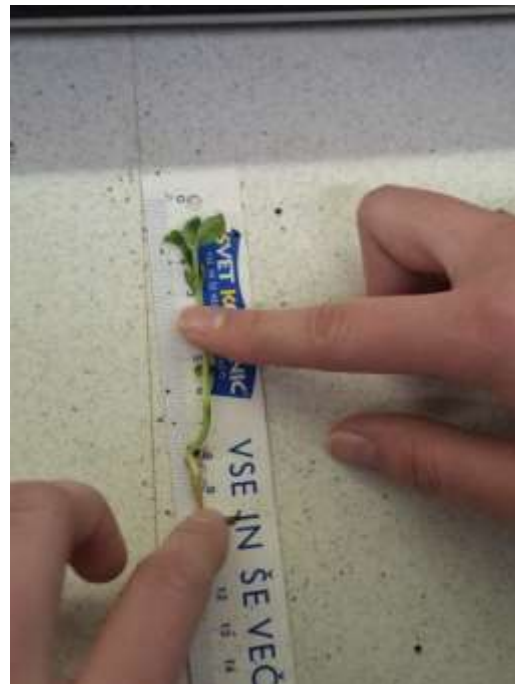
Slika 39: Izsek slike listnih rež pod 400x povečavo z dodanim merilom (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

MERJENJE CELOTNIH DOLŽIN RASTLIN

Po 20 dneh smo rastline previdno odstranili iz zemlje ter jih očistili zemlje. Postavili smo jih na črno podlago in zraven postavili meter za merilo (slika 40). Vse slike smo posneli iz enake oddaljenosti od podlage. Merili smo dolžino poganjka od baze poganjka do vrha rastline in dolžino najdaljše korenine od konca korenine do baze poganjka (slika 41).



Slika 40: Rastlina ob merilu (vir: Žan Hace, 2025)



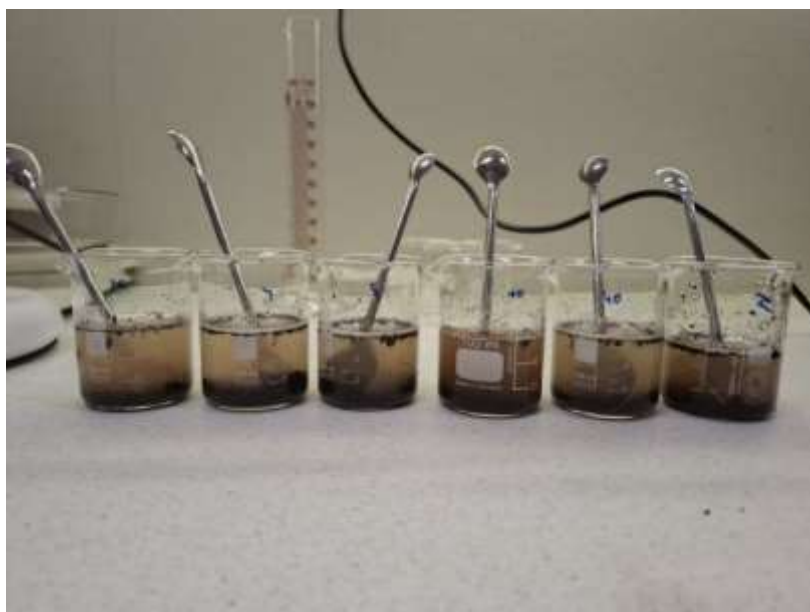
Slika 41: Merjenje delov rastline (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

MERJENJE PH

Po končanem poskusu smo izmerili pH zemlje, v kateri so rastle rastline. V 5 g zemlje smo dolili 50 mL destilirane vode in dobro premešali (slika 43). Po 5 min smo s pH lističi izmerili pH zemlje (slika 42). Poleg pH zemlje, v katerih so bile rastline smo izmerili še pH zemlje, ki smo jo uporabili in pH asfalta, za lažjo primerjavo.



Slika 42: pH lističi (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)



Slika 43: Pripravljene posode za merjenje pH

3.3. POSKUSI Z MOKRICAMI

3.3.1. NAČRT POTEKA EKSPERIMENTA

- Gojenje mokric
- Priprava testnih koncentracij asfalta v zemlji
- Priprava gojilnih lončkov za izpostavitve mokric različnim koncentracijam asfalta in kontrolni skupini (skupaj 30 lončkov)
- Izbor in označevanje mokric

3.3.2. VZGOJA POSKUSNIH ŽIVALI

V nalogi smo uporabili kopenske enakonožne rake *Porcellio laevis* (Crustacea, Isopoda), ki smo jih nabrali v okolici Kamnika, v kompostu, pod glinenimi cvetličnimi lonci, skladovnico suhih drv in večjimi kamni. Gojili smo jih v steklenem terariju, ki smo ga napolnili s tanko plastjo zemlje in posušeni listov navadne leske (*Corylus avellana*) ter črne jelše (*Alnus glutinosa*) (slika 44). Zemljo in liste smo predhodno sterilizirali pri 105 °C za 3 ure. Živali so bile izpostavljene nadzorovanim pogojem: dnevno-nočnem ritmu (16/8 ur, svetloba/tema), temperaturi 20 ± 2 °C in zmerni vlažnosti, ki smo jo vzdrževali z občasnim pršenjem vode na notranje površine terarijev. (Dolar in sod., 2021)



Slika 44: Terarij s poskusnimi organizmi (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

3.3.3. POGOJI IN DELO V ŠOLSLEM LABORATORIJU

PRIPRAVA ZEMLJE

Zemljo smo v štirih večjih steklenih posodah do suhega, sušili v pečici 4 ure na 140 °C (Kambič, Slovenija) (slika 45).



Slika 45: Sušenje zemlje v pečici (vir: Brina Vita Mauhar 2025)

Uporabili smo enake delce asfalta kot pri poskusu z rastlinami graha (slika 45).

Kontrolna skupina: v 100 g posušene zemlje smo umešali 17 ml vode.

Testne skupine z dodanimi delci asfalta:

- Za pripravo 1 % koncentracije delcev asfalta v zemlji smo uporabili 99 g posušene zemlje in 1 g zmlatih delcev asfalta, ter dodali 17 ml vode. Vse skupaj smo zmešali v enotno zmes.
- Za pripravo 5 % koncentracije delcev asfalta v zemlji smo uporabili 95 g posušene zemlje in 5 g zmlatih delcev asfalta, ter dodali 17 ml vode. Vse skupaj smo zmešali v enotno zmes.
- Za pripravo 10 % koncentracije delcev asfalta v zemlji smo uporabili 90 g posušene zemlje in 10 g zmlatih delcev asfalta, ter dodali 17 ml vode. Vse skupaj smo zmešali v enotno zmes.
- Za pripravo 40 % koncentracije delcev asfalta v zemlji smo uporabili 60 g posušene zemlje in 40 g zmlatega asfalta (slika 47), ter dodali 17 ml vode. Vse skupaj smo zmešali v enotno zmes.



Slika 46: Tehtanje delcev asfalta (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)



Slika 47: Umešanje delcev asfalta v zemljo (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

PRIPRAVA LONČKOV ZA OPAZOVANJE MOKRIC

- Pri poskusu smo uporabili skupno 30 steklenih lončkov (volumna 100 mL), ki smo jih označili in razdelili v pet skupin (sliki 48 in 49).
- V pokrovčke lončkov smo naredili luknje.
- V vsak lonček iz določene skupine smo dali enako količino pripravljene zmesi zemlje in delcev asfalta.
- V vsak lonček smo dodali posušen list leske, ki smo ga stehali.
- V vsak lonček smo dodali 4 označene mokrice.



Slika 48: Razporeditev lončkov po skupinah (vir: Žan Hace, 2025)



Slika 49: Pripravljene lončki za poskus (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

IZBOR IN OZNAČEVAJNE MOKRIC

- Tehtanje: da smo lahko spremljali spremembe v masi mokric, smo jih pred začetkom poskusa tehtali. Izbirali smo mokrice s podobnimi masami (med 30 mg in 50 mg), da so si bile na začetku bolj podobne.
- Označevanje: pred začetkom poskusa smo mokrice označili z alkoholnim flomastrom na hrbtni strani organizma za spremljanje levitev med poskusom (slika 50).
- V vsaki skupini smo izpostavili 24 živali, skupno 120 mokric.



Slika 50: Označevanje mokrice (vir: Žan Hace, 2025)

POGOJI V ŠOLSLEM LABORATORIJU

Poskus smo izvajali 14 dni pri čemer smo lončke z mokricami hranili v šolskem laboratoriju.

Ker za preživetje mokrice potrebujejo vlago, smo jim na začetku poskusa v zemljo vmešali 17 ml vode na 100 g suhe zemlje, prav tako pa smo navlažili papir na dnu skupne posode, v kateri smo hranili poskusne lončke (slika 51). Papir na dnu posode smo menjali na tri dni, da bi se izognili plesni. Količino vode v zemlji pa smo spremljali tako, da smo tehtali skupno maso lončka brez pokrovčka in jo primerjali z začetno maso. Razliko v masi smo nato nadomestili z dodajanjem vode (slika 52).

Za hrano smo uporabili posušene liste leske, s pomočjo katerih smo kasneje spremljali prehranjevanje živali.

Poskusne lončke smo hranili v pokriti skupni posodi, da bi ohranili vlažnost zraka in zemlje pri sobni temperaturi 21 °C (slika 51).



Slika 51: Skupna posoda s poskusnimi lončki (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)



Slika 52: Dodajanje vode s kapalko med poskusom (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

3.3.4. MERJENI PARAMETRI

Med in po 14-dneh izpostavitve mokric delcem asfalta v zemlji smo merili naslednje parametre:

- **Preživetje:** po koncu poskusa smo prešteli mokrice, ki so preživele in primerjali to število z začetnim številom mokric na skupino. Rezultat smo izrazili v odstotkih.
- **Masa:** na koncu poskusa smo izračunali spremembo v povprečni masi živih mokric glede na začetno povprečno maso na skupino.
- **Levitve:** organizmi, ki so se levili niso imeli več črte na hrbtnem delu telesa, zato smo jih ponovno označili. Levitev smo izrazili kot odstotek levečih živih organizmov (slika 53).



Slika 53: Mokrca, ki se je levila in ni več označena (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

- **Prehranjevanje:** Listi leske smo stehali pred in po poskusu. Razlika v masi listov smo delili s povprečno končno maso organizma in rezultat izrazili kot prehranjevalno aktivnost (slika 54).



Slika 54: Odstranjevanje zemlje in iztrebkov z ostankov listov (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

- **Viabilnost in gostota hemocitov:** po koncu poskusa smo mokricam vzeli hemolimfo in določili gostoto hemocitov ter njihovo viabilnost.

KRVNA SLIKA

Ker je krvna slika eden glavnih pokazateljev zdravja živali, smo se odločili, da bomo opazovanje hemolimfe vključili v raziskavo.

V hemolimfi *P. laevis* smo merili gostoto hemocitov (THC) in njihovo viabilnost.

Potek odvzema hemolimfe:

- S sterilno siringo smo prebodli mokrico med 5. in 6. dorzalnim segmentom *P. laevis* (slika 60).
- Z rahlim stiskanjem živali pridobili kapljico hemolimfe (3-5 μ L), ki smo jo posesali s stekleno mikrokapilarno pipeto (Brand) (slika 55 in 56).



Slika 55: Prebadanje s sterilno siringo (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)



Slika 56: Stiskanje živali in sesanje hemolimfe s stekleno mikropipeto (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

- Hemolimfo smo nemudoma razredčili v razmerju 1 : 5 (v/v) v pufru DPBS (Dulbecco fosfatnem pufru) (slika 57).



Slika 57: Redčenje v pufru DPBS (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

- Pri odvzemu hemolimfe smo bili pozorni, da le-ta ni prišla v stik s prozornim in lepljivim izločkom uropodnih žlez ali da nismo prebodli črevesja oziroma prebavne žleze. Hemolimfo za meritev izbranih parametrov smo pridobili iz posamezne živali.

- Celice smo šteli s hemocitometrom (Neubauer), ki smo ga pred uporabo očistili s 70-% etilnim alkoholom in sprali z deionizirano vodo ter dobro osušili. Krovno steklo smo položili na hemocitometer in odpipetirali 10 μL celične suspenzije v obe komori hemocitometra.
- Celice smo si ogledali pod svetlobnim mikroskopom Motic Panthera (slika 58, 59 in 60).

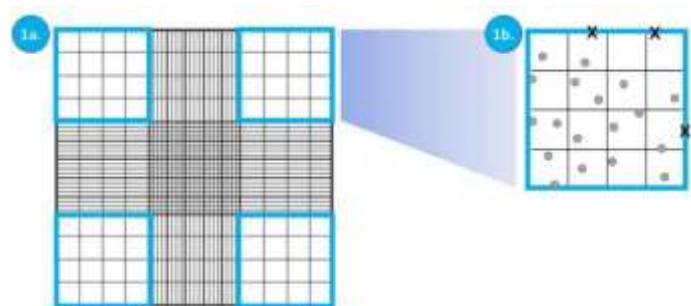


Slika 58: Hemocitometer pod svetlobnim mikroskopom (vir: Tajda Adrovič Flisar, 2025)

Slika 59: štetje in opazovanje hemocitov (vir: Tajda Adrovič Flisar, 2025)

Slika 60: štetje in opazovanje hemocitov (vir: Tajda Adrovič Flisar, 2025)

- Celice smo šteli pri 10-kratni povečavi v štirih velikih robnih kvadratnih poljih hemocitometra. (Slika 61).



Slika 61: Prikaz robnih kvadratnih polij za štetje hemocitov (cytologics, 2025)

- Dobili smo število vseh celic v robnih kvadratnih poljih (n).
- Ker je prostornina vsakega robnega kvadratnega polja 0,1 mm^3 (0,0001 mL), smo izračunano povprečno število celic pomnožili še z 10^3 .

- Pri izračunu smo upoštevali faktor redčenja (F) hemolimfe v pufri DPBS in tripanskem modrilu (Formula 1).

- Formula 1:

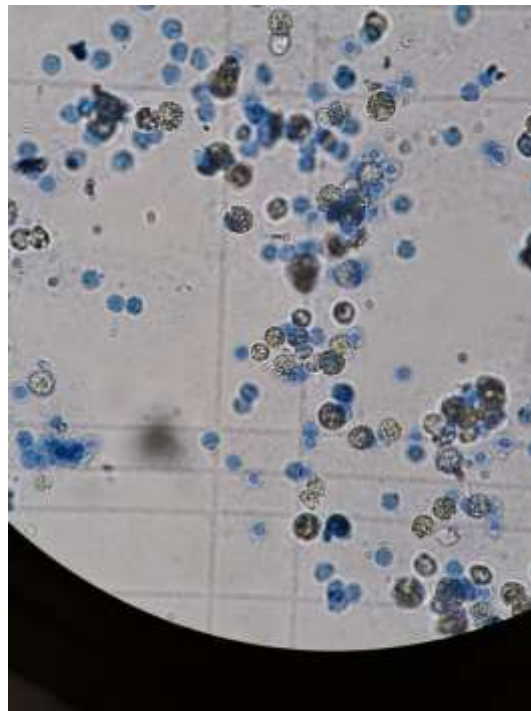
$$\text{Gostota hemocitov (THC)} = \frac{n}{4} \times \frac{10^4}{\text{mL}} \times F$$

- Delež viabilnih celic smo preverili z dodatkom tripanskega modrila, ki vdre v mrtve celice in jih obarva modro, medtem ko žive celice ostanejo neobarvane (slika 62). Za izračun smo prešteli vse celice in vse modro obarvane celice (mrtve) ter tako izračunali delež viabilnih celic (Formula 2)

- Formula 2:

$$\text{Viabilnost hemocitov (\%)} = \frac{(\text{THC} - \text{št. mrtvih celic})}{\text{THC}} \times 100$$

Metoda povzeta po Dolar in sod. (2021)



Slika 62: Hemociti v velikem robnem polju pod 10x povečavo (vir: Brina Vita Mauhar, 2025)

4. REZULTATI DELA NALOGE

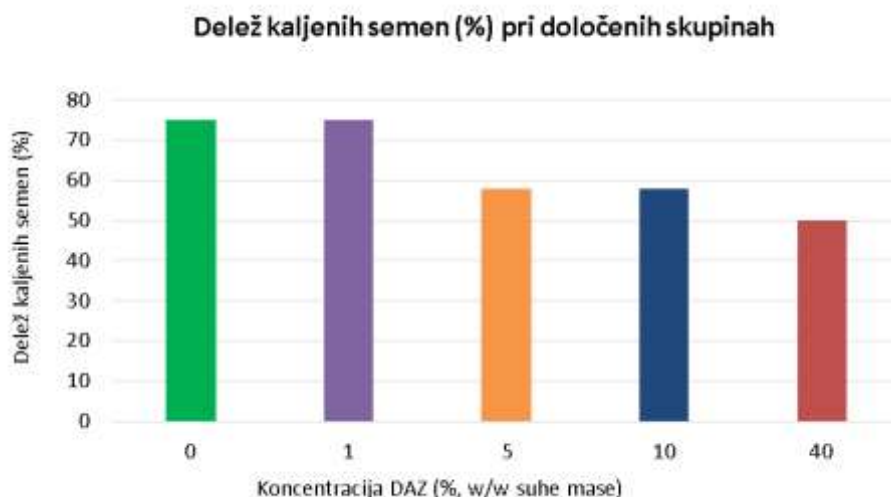
4.1. REZULTATI RASTLIN GRAHA

4.1.1. VPLIV DELCEV ASFALTA NA KALITEV

Tabela 2: Podatki za delež kaljenih grahovitih semen v zemlji z dodanimi delci asfalta

Delci asfalta (%, w/w suhe mase)	Število posajenih semen	Število kaljenih semen	Delež kaljenih semen (%)
0	12	9	75
1	12	9	75
5	12	7	58
10	12	7	58
40	12	6	50

Iz spodnjega grafa (graf št. 2) je razvidno, da delež kaljenih semen z višanjem koncentracije pada. Pri kontrolni skupini in skupini 1 % delcev asfalta v zemlji je bil delež kaljenih semen 75 %. Pri skupinah 5 % in 10 % delcev asfalta v zemlji je delež padel na 58 %. Najmanjši delež kaljenih semen je bil pri skupini 40 % delcev asfalta v zemlji in je znašal 50 %.



Graf 2: Vpliv testnih koncentracij DA na delež kalitev grahovitih semen

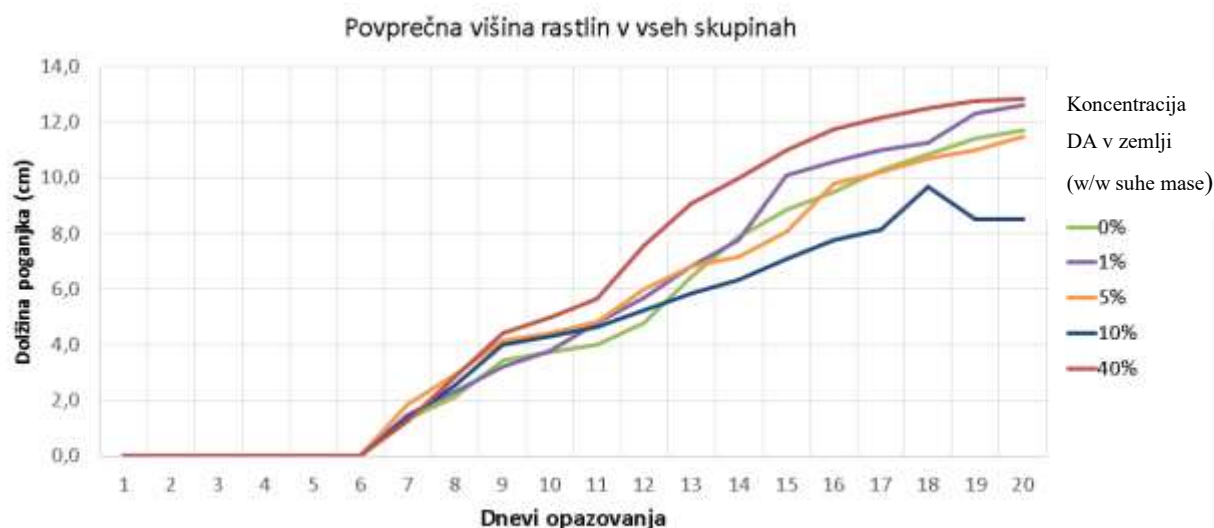
4.1.2. VIŠINA RASTLIN V ČASU POSKUSA

Rastline so začeli kaliti po sedmih dneh.

V spodnji tabeli (tabela št. 3) podajamo osnovno statistiko za višino rastlin (cm) v poskusu. Rast rastlin smo spremljali do 20. dne. Število meritev se je po dnevih zmanjševala, saj smo morali nekatere rastline izključiti iz poskusa zaradi gnitja, pojava plesni, pri eni rastlini se je zlomilo steblo. Po koncu poskusa so bile višine rastlin podobne, rasle pa so različno hitro.

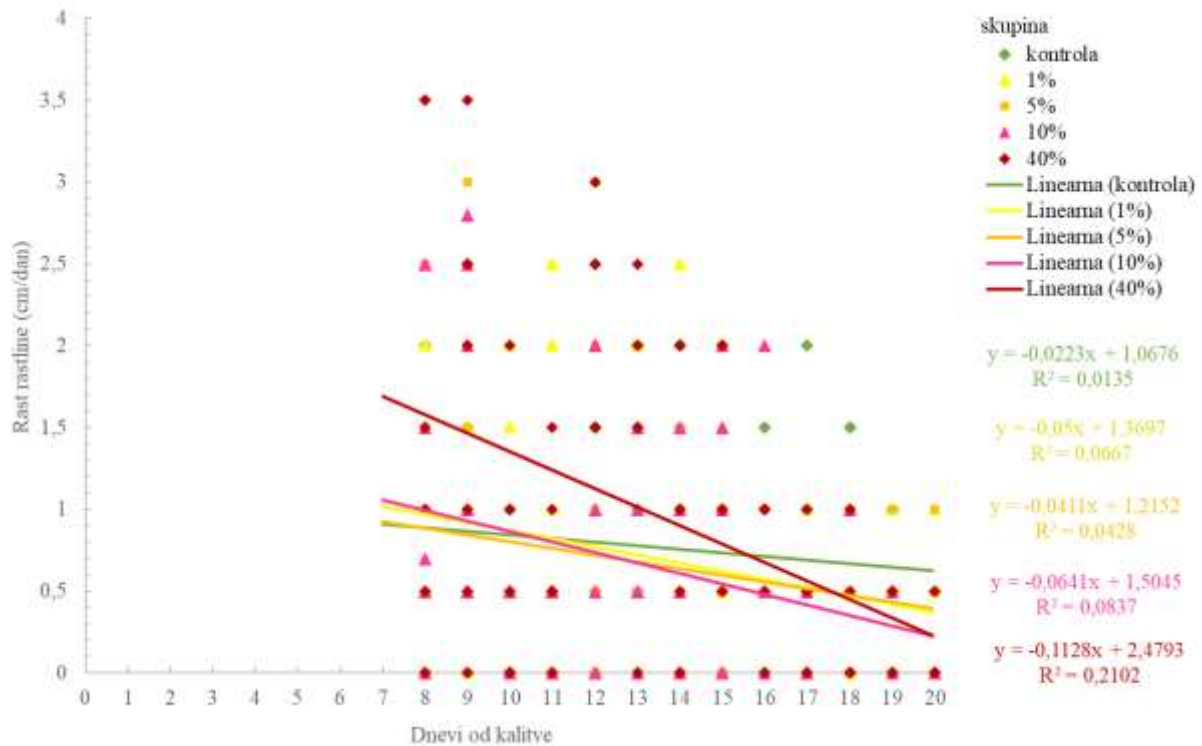
Tabela 3: Povprečna višina grahovega poganjka pri testnih koncentracijah po dnevih (cm)

		Povprečna višina poganjka po dnevih (cm)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Koncentracija asfalta v zemlji (% w/w)	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	2,1	3,4	3,8
	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	2,3	3,2	3,8
	5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9	2,9	4,2	4,4
	10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	2,5	4,0	4,3
	50	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	2,8	4,4	5,0
		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	0	4,0	4,8	6,4	7,9	8,9	9,5	10,3	10,9	11,4	11,7
	1	4,8	5,7	6,8	7,8	10,1	10,6	11,0	11,3	12,3	12,6
	5	4,8	6,0	6,8	7,2	8,1	9,8	10,2	10,7	11,0	11,5
	10	4,6	5,3	5,8	6,3	7,1	7,8	8,1	9,7	8,5	8,5
50	5,7	7,6	9,1	10,0	11,0	11,8	12,2	12,5	12,8	12,8	



Graf 3: Povprečna višina rastlin v cm po dnevih pri različnih koncentracijah

Pri 40 % koncentraciji opazamo najbolj strmo padanje grafa, kar prikazuje upočasnjeno rast pri daljši izpostavljenosti delcem asfalta. Podoben trend lahko opazimo tudi pri ostalih koncentracijah, kjer je razvidno, da se je rast upočasnila bolj kot v kontrolni skupini. V vseh primerih je bila začetna rast izrazito hitrejša v primerjavi z rastjo na koncu poskusa. V kontrolni skupini je rast najbolj enakomerna (Graf 3 in 4).



Graf 4: Prirast rastlin (v cm/dan) pri različnih koncentracijah

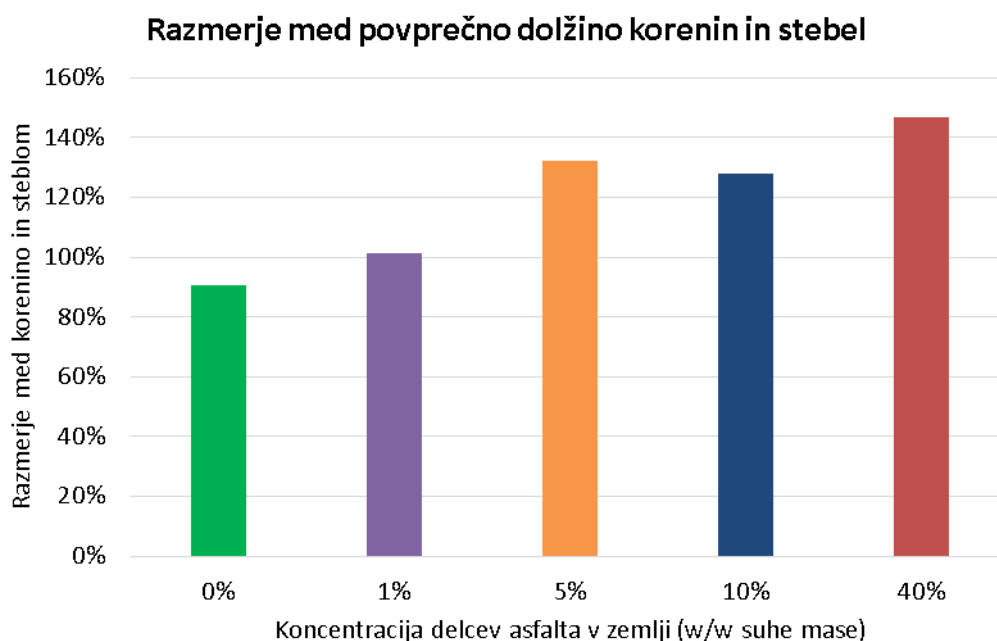
Tabela za graf je v prilogi.

4.2.3. DOLŽINA KORENIN IN CELOTNE RASTLINE NA KONCU POSKUSA

Tabela 4: Povprečna dolžina celotne rastline v cm, povprečna dolžina stebela in korenine v cm ter razmerje med njima

Delci asfalta (% w/w suhe mase)	Povprečna dolžina celotne rastline (cm)	Povprečna dolžina korenine (cm)	Povprečna dolžina stebela (cm)	Razmerje med povprečno dolžino korenin in stebel
0 %	20.6	9.8	10.8	91%
1 %	22.0	11.1	10.9	102%
5 %	24.6	14.0	10.6	132%
10 %	19.6	11.0	8.6	128%
40 %	27.3	16.3	11.1	147%

Iz grafa št. 5 razberemo, da razmerje dolžine korenine proti stebelu z višanjem koncentracije večinoma narašča. To pomeni, da ima rastlina pri 40 % (w/w) večje razmerje med korenino in stebelom (147 %) kot rastlina iz kontrolne skupine (91 %). To razmerje z večanjem koncentracije DAZ narašča v primerjavi s kontrolo, z izjemo koncentracije 5 % (w/w), kjer znaša 132 % in je večje kot pri skupini 1 % delcev asfalta (102 %) in skupini 10 % (128 %) (Tabela 4).



Graf 5: Razmerje med povprečno dolžino korenin in stebel v procentih

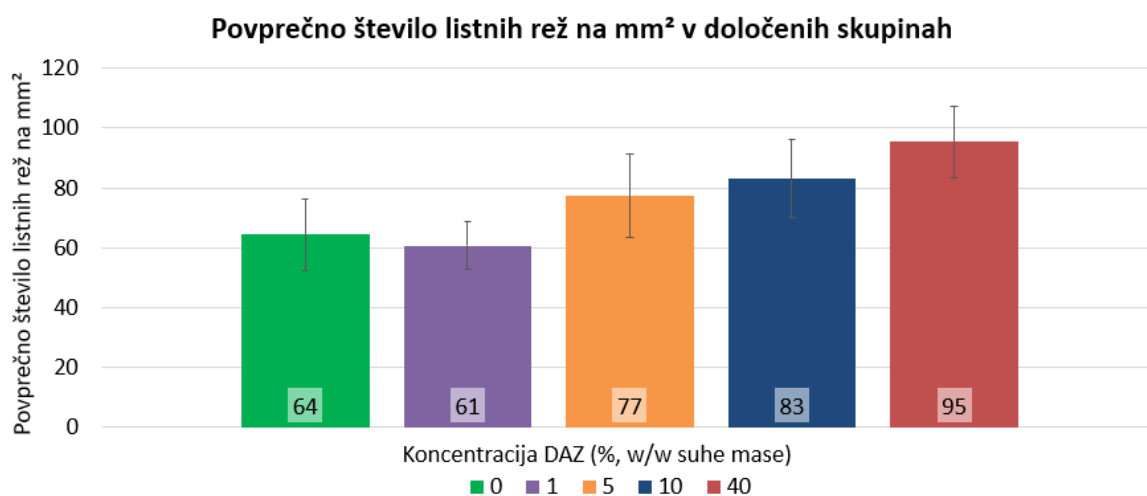
4.1.4. LISTNE REŽE

POVPREČNO ŠTEVILO LISTNIH REŽ NA MM²

Tabela 5: Število listnih rež na mm² lista pri rastlinah izpostavljenih različnim koncentracijam DA

Delci asfalta (% w/w suhe mase)	Povprečno število listnih rež na mm ²	Standardna napaka
0	64	12
1	61	8
5	77	14
10	83	13
40	95	12

Vidimo lahko, da je število listnih rež na mm² pri 40 % koncentraciji, v primerjavi z ostalimi skupinami, večje. Število rež praviloma raste z večanjem koncentracije, edino odstopanje pa opazamo pri skupini 1 %. Pri kontrolni skupini in skupini 1 % delcev asfalta je število listnih rež na mm² najmanjše (64 in 61 rež na mm²), Pri višanju koncentracije to število raste in je najvišje pri skupini 40 % (95 rež na mm²) (Graf 6).



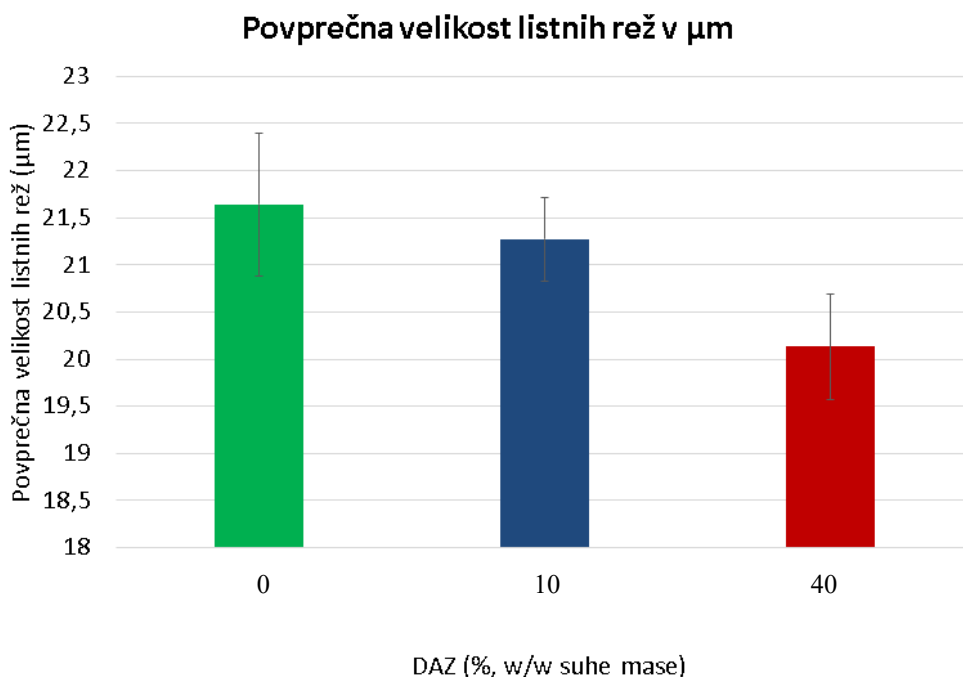
Graf 6: Prikaz povprečnega števila listnih rež na mm² v posamezni skupini

VELIKOST LISTNIH REŽ

Tabela 6: Povprečna velikost listnih rež v μm

Delci asfalta (w/w)	Povprečna velikost listnih rež v μm
0 %	21,64
1 %	21,69
5 %	19,80
10 %	21,27
40 %	20,13

Ker smo opazili največje razlike med kontrolo in višjimi koncentracijami delcev asfalta (10 in 40 %) smo to prikazali tudi v grafu. Iz grafa št. 7 je razvidno, da se povprečna velikost listnih rež (μm) pri višjih koncentracijah (10 in 40 %) v primerjavi s kontrolo manjša. Pri kontroli povprečna velikost listnih rež znaša 21,64 μm , pri višjih koncentracijah pa pade na 21,27 in 20,13 μm .



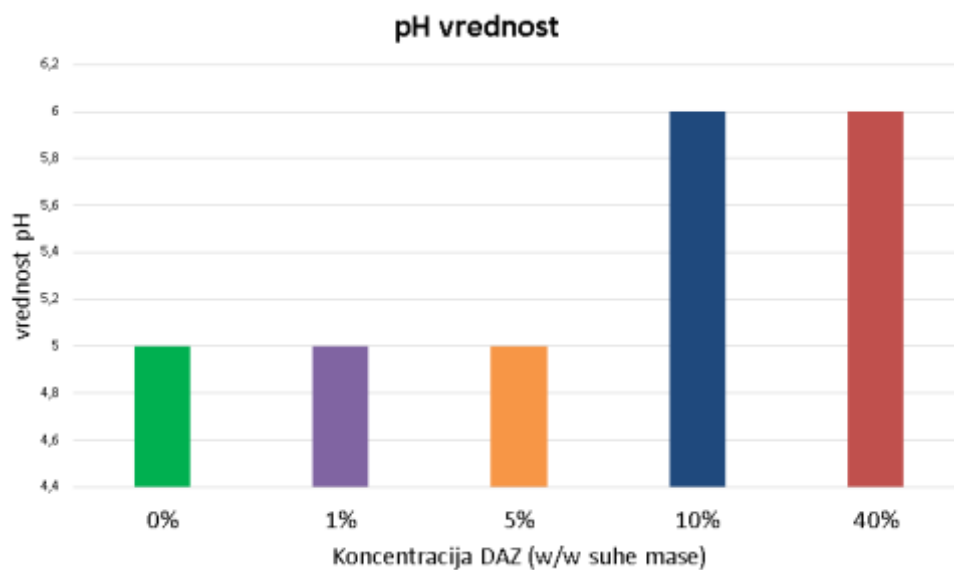
Graf 7: Povprečna velikost listnih rež v μm pri kontroli in skupinah 10 in 40 %

4.1.5. VREDNOST pH ZEMLJE

Tabela 7: pH vrednosti zemlje z različnimi koncentracijami DA

Delci asfalta (% w/w suhe mase)	pH vrednost
0	5
1	5
5	5
10	6
40	6
100 (samo delci asfalta)	7

pH z višanjem koncentracije delcev asfalta raste v primerjavi s kontrolo in skupinami z manjšimi koncentracijami delcev asfalta (pH je enak 5), pri koncentracijah 10 in 40 % (w/w) delcev asfalta zraste na 6 (Graf 8).



Graf 8: Vrednost pH pri različnih koncentracijah DA

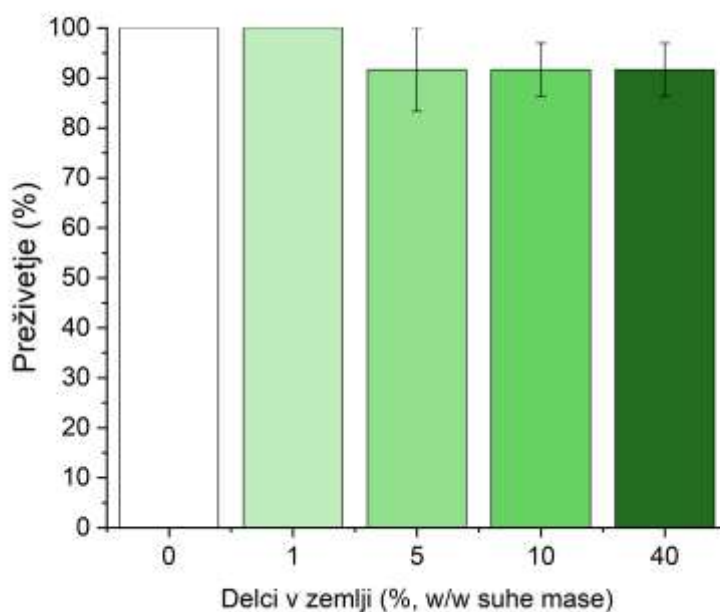
4.2. MOKRICE

4.2.1. PREŽIVETJE

Tabela 8: Delež preživelih poskusnih organizmov po skupinah

Delci asfalta (%, w/w suhe mase)	Preživetje (%)	Standardna napaka
0	100	0
1	100	0
5	91,7	7,6
10	91,7	4,8
40	91,7	4,1

Iz grafa št. 9 je razvidno, da se je preživetje poskusnih organizmov z večanjem koncentracije delcev asfalta v zemlji manjšalo. Pri kontrolni skupini in skupini 1 % delcev asfalta so preživeli vsi poskusni organizmi, pri višjih koncentracijah delcev asfalta delež preživelih živali pade na 91 % (Tabela 8).



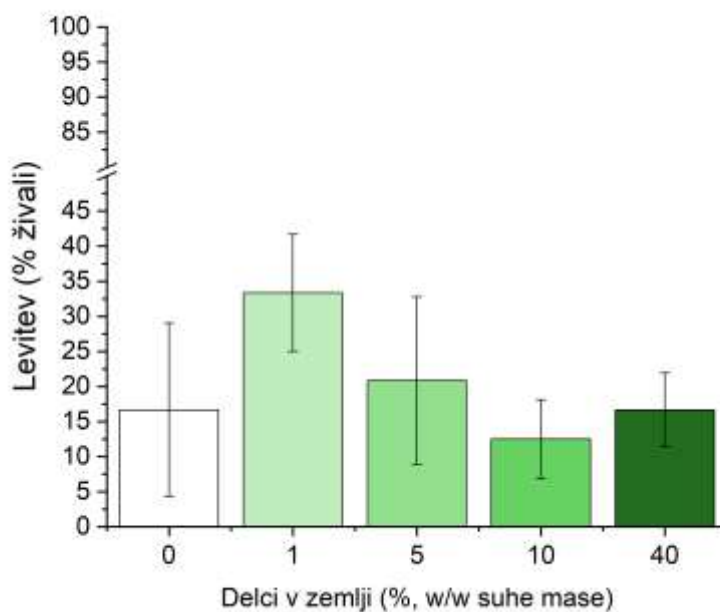
Graf 9: Delež preživelih poskusnih organizmov med poskusom pri različnih koncentracijah DA

4.2.2. LEVITVE

Tabela 9: Delež levitev pri različnih koncentracijah DA

Delci asfalta (%, w/w suhe mase)	Levitev (% živali)	Standardna napaka
0	17	11
1	33	7,6
5	21	11
10	13	5,1
40	17	4,8

Graf št. 10 prikazuje velika odstopanja pri številu levitev pri posameznih skupinah v primerjavi s kontrolo.



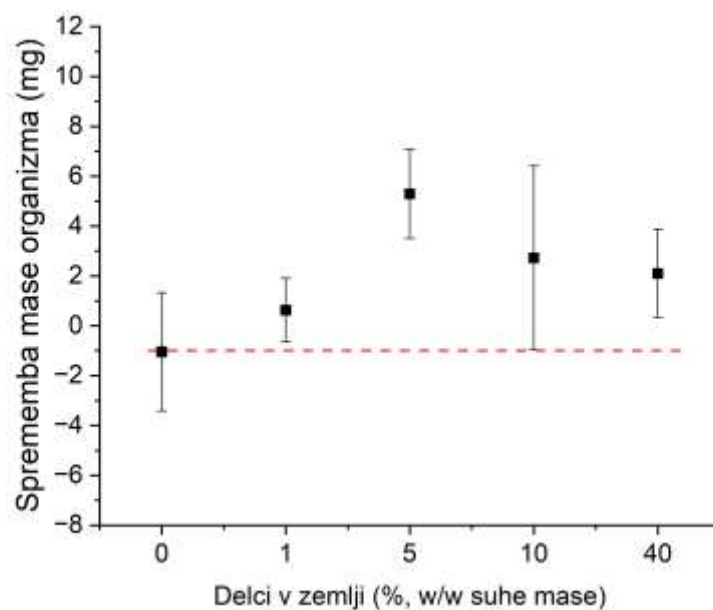
Graf 10: Delež levitev v času poskusa pri različnih koncentracijah DA

4.2.3. SPREMEMBA MASE

Tabela 10: Sprememba v povprečni masi (mg) pri različnih koncentracijah DA

Delci asfalta (% w/w suhe mase)	Sprememba mase živali (mg)	Standardna napaka
0	-1	2,2
1	1	1,2
5	5	1,6
10	3	3,4
40	2	1,6

Iz grafa št. 11 je razvidno, da je pri vseh skupinah prišlo do povečanja mase v primerjavi s kontrolo. Do največjega povečanja je prišlo pri skupini 5 %, kjer se je masa povečala za 5 mg, medtem ko je pri povprečni masi kontrolne skupine prišlo do zmanjšanja za 1 mg.



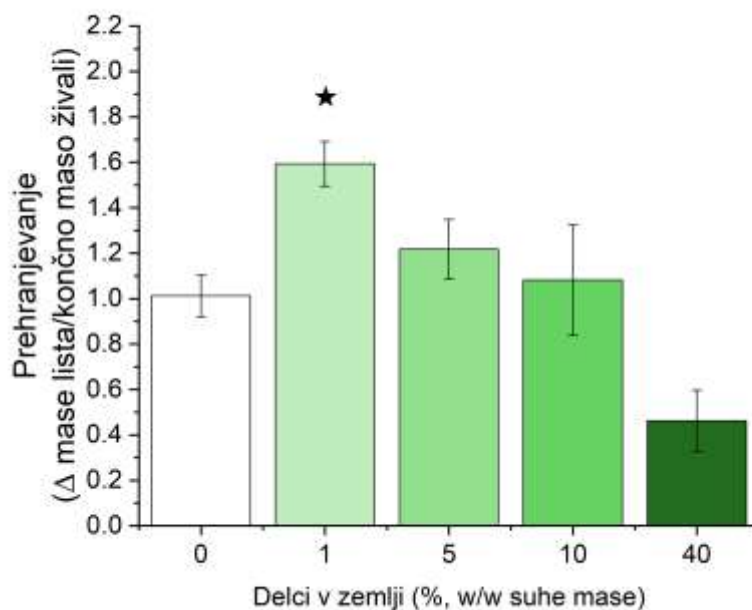
Graf 11: Sprememba v povprečni masi v mg pri različnih koncentracijah DA

4.2.4. PREHRANJEVANJE

Tabela 11: Prehranjevanje pri različnih koncentracijah DA

Delci asfalta (% w/w suhe mase)	Δ mase lista/končna masa živali v mg	Standardna napaka
0	1,01	0,084
1	1,59	0,089
5	1,22	0,12
10	1,08	0,22
40	0,46	0,12

Graf št. 12 prikazuje izrazito povečanje v prehranjevanju pri skupini 1 % delcev asfalta v zemlji (w/w) v primerjavi s kontrolno skupino, ki se je pri večanju koncentracije manjšalo. Pri vseh skupinah izpostavljenih delcem asfalta je prišlo do večjega prehranjevanja, razen pri koncentraciji 40 %, kjer se je izrazito znižalo v primerjavi s kontrolno skupino.



Graf 12: Prehranjevanje mokric pri različnih koncentracijah DA

4.2.5. HEMOCITI

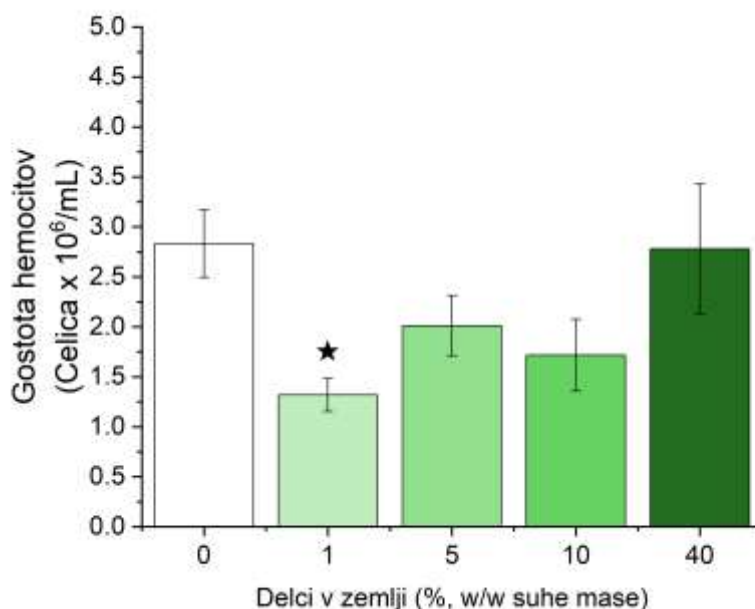
Tabela 12 prikazuje povprečno vrednost št. vseh hemocitov in delež viabilnih hemocitov. V kontrolni skupini smo vzorce vzeli 15 živalim, v skupini 1 % 10 živalim ter pri skupinah 5 %, 10 % in 40 % 11 vzorcev.

GOSTOTA HEMOCITOV

Tabela 12: Gostota hemocitov pri različnih koncentracijah DA

Delci asfalta (%, w/w suhe mase)	Gostota hemocitov (Celica x 10 ⁶ /mL)	Standardna napaka
0	2,83	0,51
1	1,54	0,32
5	1,93	0,37
10	1,72	0,46
40	2,78	0,84

Iz grafa št. 13 je razvidno, da se je gostota hemocitov pri skupinah 1 %, 5 % in 10% znižala v primerjavi s kontrolno skupino. Pri skupini 40 % pa je gostota hemocitov primerljiva s kontrolno skupino.



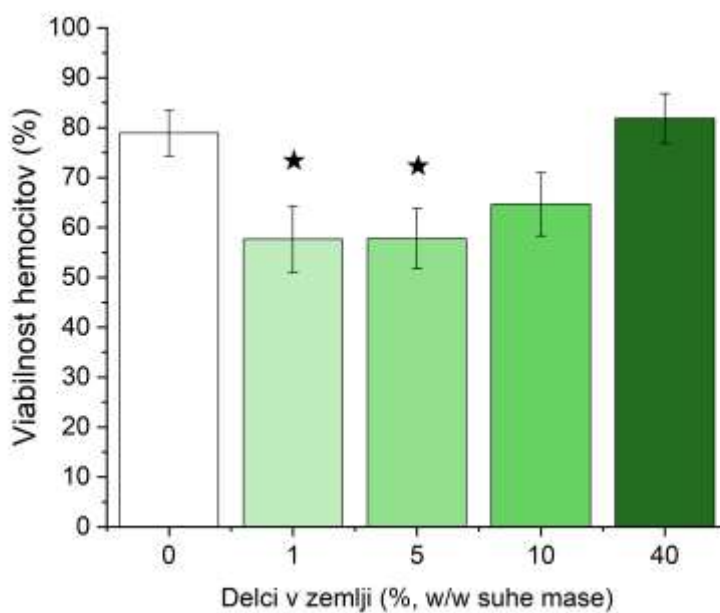
Graf 13: Gostota hemocitov pri različnih koncentracijah DA

VIABILNOST HEMOCITOV

Tabela 13: Viabilnost hemocitov pri različnih koncentracijah DA

Delci asfalta (% w/w suhe mase)	Viabilnost hemocitov (%)	Standardna napaka
0	78.9	7,0
1	57.7	8,2
5	55.0	7,9
10	64.6	8,2
40	79.7	8,0

Graf št. 14 prikazuje upad v deležu viabilnih hemocitov pri koncentracijah 1 %, 5 % in 10 % v primerjavi s kontrolo, ki pa z večanjem koncentracije raste. Pri skupini 40 % je delež viabilnih hemocitov celo večji, kot pri kontrolni skupini.



Graf 14: Viabilnost homocitov pri različnih koncentracijah DA

5. ANALIZA REZULTATOV

5.1. RASTLINE GRAHA

V posodah rastlin z višjo koncentracijo delcev asfalta v zemlji smo opazili bolj suho zemljo, kot pri kontrolni skupini.

Če so v zemlji prisotni delci asfalta je lahko zemlja bolj suha zaradi več dejavnikov, povezanih z lastnostmi asfalta in njegovim vplivom na strukturo tal:

1. Manjša zmožnost vpijanja vode:
 - Asfalt je hidrofoben, kar pomeni, da ne vpija vode, temveč jo odbija
 - Delci asfalta v zemlji zmanjšajo skupno površino tal, ki je sposobna zadrževati vodo, kar vodi do hitrejšega odtekanja.
2. Povečano segrevanje:
 - Asfalt absorbira več toplote kot običajna tla. Ko se segreje, lahko pospeši izhlapevanje vode iz zgornjih plasti zemlje

Prav tako pride do spremembe v vodnem potencialu zaradi majhne količine vode v zemlji (prisotnost asfalta), kar povzroči manjši matrični potencial plasti vode vezane na talne delce, posledično zaradi velike sile vezave pride do težje absorbcije vode v rastlino (Velikonja, 2019).

5.1.1. VPLIV DELCEV ASFALTA NA KALITEV SEMEN

Asfaltni delci povzročijo nihanje v količini vlage zaradi večje zmožnosti vpijanja toplote in hidrofobnosti. Ker je grah rastlina zmerno vlažnega podnebja, potrebuje za kalitev enakomerno vlago. Nihanja v količini vlage lahko povzročijo slabšo kalitev rastlin.

Delež kaljenih semen je z višanjem koncentracije delcev asfalta padal. Delež kalitev je bil v kontrolni skupini največji (75 %), pri 40 % koncentraciji delcev asfalta pa je bila kalitev najmanjša in sicer 40 % (graf 2).

5.1.2. VIŠINA RASTLIN V ČASU POSKUSA

Iz grafa št. 4 je razvidno, da je pri kontrolni skupini najbolj enakomerna rast skozi poskus. Pri skupini 40 % lahko opazimo največji upad v rasti in sicer na začetku izrazito hitro rast, ki pa se je v nadaljevanju poskusa precej upočasnila, čemur pripisujemo tudi tanjša stebela v primerjavi s kontrolno skupino.

Podobno je bilo pri ostalih skupinah, kjer je bil začetni višek v rasti nekoliko manjši. Opažamo tudi, da so imele rastline na koncu poskusa podobne višine, vendar se je njihova rast v času poskusa razlikovala. Hitrost rasti je vplivala na kvaliteto stebel.

Iz rezultatov lahko sklepamo, da asfaltni delci povzročajo izhlapevanje iz zgornjih plasti zemlje in zato vplivajo na rast rastlin. Večja vsebnost asfaltnih delcev pomeni večje izhlapevanje in odtekanje vode, kar povzroči tudi spremembo v vodnem potencialu, ki otežuje absorpcijo vode v rastlino. Rastline torej v teh skupinah razvijejo globlji koreninski sistem.

Sprva imajo rastline dovolj vode za rast, ki pa jo hitro porabijo. Pri nadaljnjem zalivanju rastlina nima razvitih korenin pri površju, zato vode ne more resorbirati. Voda, ki je bila na površju pa je izhlapela. Zemlja je zato tudi na videz bolj suha. Sklepamo, da je ključni razlog za stagniranje rasti proti koncu poskusa pomanjkanje razvejanosti korenin pri površju.

5.1.3. DOLŽINA KORENIN, STEBLA IN CELOTNE RASTLINE

Razmerje dolžine korenine proti stebelu z višanjem koncentracije večinoma narašča. To pomeni, da ima rastlina pri 40 % (w/w) večje razmerje med korenino in stebлом (slika 64) kot rastlina iz kontrolne skupine (slika 63). To razmerje z večanjem koncentracije delcev asfalta narašča v primerjavi s kontrolo, z izjemo koncentracije 5 % (w/w). Opazimo, da imajo rastline v kontroli v povprečju večji nadzemni del kot korenine, pri 40 % koncentraciji pa je ravno obratno.

To je bilo pričakovano, saj so rastline pri višjih koncentracijah dobivale manj vode, kar privede do stresa in posledično naraščanja koncentracija abscizinske kisline v koreninah. Ta povzroči daljši in bolj razvit koreninski sistem. Rastlina pravzaprav veča svoj koreninski sistem, da bi lahko prišla do vode. Pomanjkanje vode povzroči tudi sprememba v vodnem potencialu, ki otežuje absorpcijo vode.



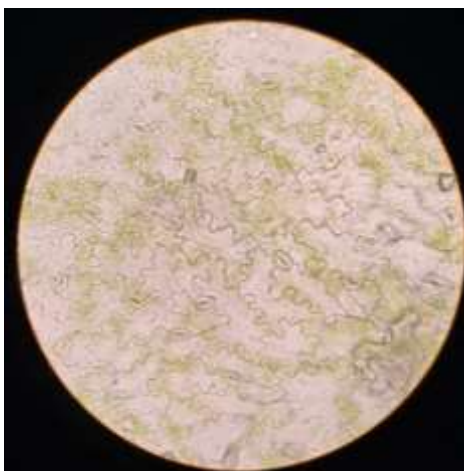
Slika 63: Prikaz dolžine korenin pri kontroli (vir: osebni arhiv Žan Hace)



Slika 64: Prikaz dolžine korenin pri 40 % koncentraciji (vir: osebni arhiv Žan Hace)

5.1.4. LISTNE REŽE

Pri opazovanju listnih rež rastlin pri višjih koncentracijah delcev asfalta v zemlji, smo opazili večje število listnih rež, kot v kontrolni skupini. Te reže so bile manjše, kot v kontrolni skupini.



Slika 65: Listne reže kontrolne skupine, povečava: 400x (vir: osebni arhiv Brina Vitava: Mauhar)



Slika 66: Listne reže skupine s 40 % koncentracijo DA, povečava: 400x (vir: osebni arhiv Brina Vita Mauhar)

VELIKOST IN POVPREČNO ŠTEVILO LISTNIH REŽ

Povprečne velikosti listnih rež so se pri večjih koncentracijah zmanjšale. V kontrolni skupini so bile reže večje za več kot 1,5 μm od rež v skupini z 40 % koncentracijo. Število rež praviloma raste z večanjem koncentracije DA v zemlji. Pri 40 % koncentraciji DA v zemlji je listnih rež bistveno več na enako površino lista (95 na mm^2) kot pri kontrolni skupini (65 na mm^2).

Razlog za manjšanje listnih rež je v tem, da rastlina poskuša preprečiti izgubljanje vode. Če v okolici in kasneje v rastlini primanjkuje vode, je to njen najpogostejši odziv. Manjša kot je reža lažje lahko rastlina regulira transpiracijo. Zato v sušnih razmerah rastlina razvije manjše listne reže. To so raziskovali tudi leta 2016 na Ignatius Ajuru University of Education (IAUE) v Nigeriji (Ali, 2016). O podobnem odgovoru rastline na z vodo povezan stres poročajo tudi Huck in sod. (1983) pri rastlinah soje. Povečano število listnih rež je prav tako posledica prilagoditve rastline na pomanjkanje vode in s tem kontroliranje transpiracije kot stresni odziv.

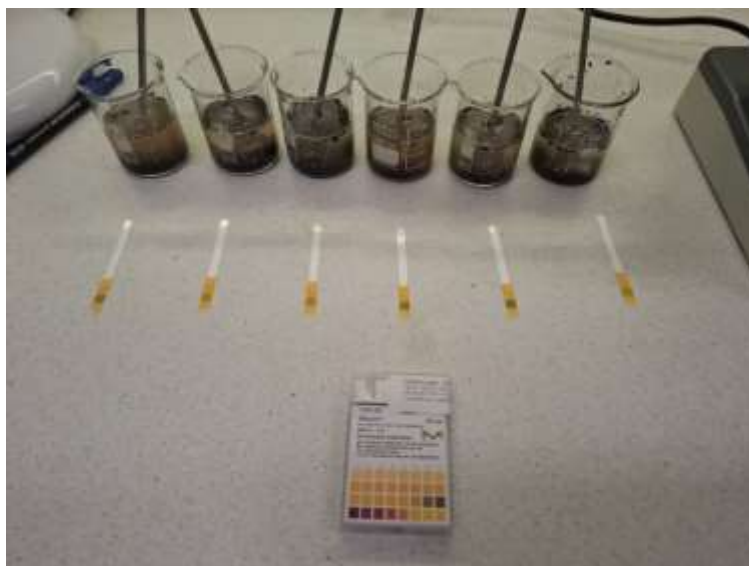
5.1.5. PH ZEMLJE

Pri višjih koncentracijah delcev asfalta smo ugotovili, da se je spremenil tudi pH zemlje. V kontrolni skupini je bila pH vrednost zemlje 5, v skupini 40 % DA pa 6, torej se je pH vrednost zemlje spremenila zaradi dodanih delcev asfalta. Pri meritvah pH asfaltnih izlužkov izmerili pH 7, kar dokazuje, da asfaltni delci višajo pH zemlje. To potrjujejo tudi raziskave (Townsend & Brantley, 1998).

Eden od možnih vzrokov za višanje pH zemlje je prisotnosti DA, ki povzročijo pomanjkanje vode v tleh. Pomanjkanje vode kot topila za raztapljanje ogljikove kisline povzroči ovirano nastajanje vodikovih kationov. Manj vodikovih kationov v zemlji pomeni višanje pH prsti.

Pričakovali smo bolj bazičen pH glede na podatke, ki smo jih zasledili v teoriji (pH izlužkov asfalta je 9,5), vendar so bile naše izmerjene vrednosti še vedno znotraj ugodnih pogojev za kalitev in rast (med pH 5 in 7).

Domnevamo, da pH vrednost zemlje ni imela bistvenega vpliva na kalitev in rast rastlin graha.



Slika 66: Rezultati merjenja pH zemlje s pH lističi (vir: Brina Vita Mauhar)

5.2. MOKRICE

V poskusu je bilo uporabljenih 120 mokric, ki smo jih razdelili v 5 skupin po različnih koncentracijah delcev asfalta: Kontrolna skupina (0 %), 1 %, 5%, 10 %, 40 % (w/w).

Po 14 dneh izpostavitve smo analizirali preživetje, levitev, spremembo mase (rast), prehranjevanje ter gostoto hemocitov in njihovo viabilnost.

5.2.1. PREŽIVETJE

Od 120 živali, ki smo jih uporabili v poskusu, jih je po 14 dneh preživel 114.

V kontrolni skupini in skupini z 1 % dodanih delcev je preživel vseh 24 testnih organizmov na skupino, oz. 100 %.

V skupinah z 5 %, 10 %, 40 % pa je preživel 22 testnih organizmov na skupino oz. 91 %.

To je razvidno iz grafa št. 9.

Verjetni vzroki za povečano smrtnost so:

- **mehanske poškodbe prebavil** zaradi zaužitih asfaltnih delcev v zemlji. Do poškodb lahko pride, ker so ti delci ostri.
- Neustrezno **razmerje med organskimi in anorganskimi snovmi** v prebavilu. To povzroči povečano koncentracijo asfaltnih delcev, ki je odvzela prostor potencialnim

organskim snovem. Posledično je sledila prenizka količina vnesenih kalorij, kar je lahko vodilo v smrt organizma.

- **Kanibalizem med osebki.** V neugodnih okoljskih razmerah je znano, da prihaja med mokricami do kanibalizma. V našem primeru je bila sprememba habitata z dodajanjem delcev asfalta v zemljo zaradi česar lahko to postane neugodna okoljska razmera za mokrice. Možno pa je tudi, da je bila za kanibalizem razlog zgolj šibkost določene živali npr. po levitvi.

V petih lončkih smo našli ostanke delcev mokric po enem tednu. Zanimivo je bilo to, da so v teh lončkih osebki zaužili manjšo količino dodane hrane v obliki listov. Hkrati se je njihova telesna masa rahlo povečala. Iz tega lahko domnevamo, da listi niso bili glavni vir prehrane, ampak so bile tudi mokrice.

5.2.2 LEVITVE

Rezultati pri deležu levitev precej nihajo. Glede na rezultate lahko sklepamo, da asfalt nima vidnega vpliva na levitve, vendar pa je naša raziskava potekala le 14 dni, kar bi za spremljanje levitev lahko bilo premalo, saj se mokrice v povprečju levijo na 30 dni (Zidar in sod., 1998) (Tabela 10).

5.2.3. SPREMEMBA MASE

Masa se pri večini mokric ni očitno spreminjala v primerjavi s kontrolo. V kontrolni skupini je povprečna masa celo upadla za 1 mg. Največja sprememba pa je bila pri koncentraciji 5 % asfalta v zemlji, kjer smo opazili spremembo za 5 mg (tabela 11).

Pri 1 % so osebki jedli več listov kot v kontrolni skupini, zato se je njihova masa povečala. Pri 5 % in 10 % koncentraciji asfalta je masa najbolj narasla. Verjetno ker so večje koncentracije škodljivih delcev v hrani zaznali kot neugodno okolje, kar je vodilo do pojavnosti kanibalizma. Pojedli so propadle organizme ali pa tiste, ki so bili v procesu levitve. Podobno se je zgodilo v skupini 40 %. Do sprememb v masah je lahko prišlo tudi zaradi ponovnega zaužitja levov.

5.2.4. PREHRANJEVANJE

Pri višjih koncentracijah delcev asfalta pride do hitrejše prilagoditve organizma na vplive iz okolja. V primeru 40 % koncentracije so poskusni organizmi zmanjšali uživanje listov, ki so imeli prisotne delce asfalta, saj so prisotni tudi na listu ker po njih tudi hodijo. To je dokaz neposrednega negativnega učinka delcev asfalta na organizme. Delce asfalta lahko zaužijejo

tudi, ker so detritovori in poleg hrane pogosto zaužijejo tudi delce zemlje. Zaradi zmanjšane količine zaužite hrane se jim je upočasnil tudi metabolizem. Pri ostalih skupinah izpostavljenih delcem asfalta odziv organizma na delce asfalta ni bil enak kot pri skupini 40 %, saj se je prehranjevanje povečalo v primerjavi s kontrolno skupino, vendar pa je z višanjem koncentracije padalo. Zmanjšanje prehranjevanja kot prilagoditev na škodljive delce v hrani opisujejo tudi J.P. Odendaal in sod. (2003).

Do napak pri meritvah bi lahko prišlo zaradi levitev, saj lahko pride do ponovnega zaužitja levov, kar lahko povzroči manjšo količino zaužitega lista. Prav tako bi manjše hranjenje z listom lahko povzročil pojav kanibalizma, ki je značilen za mokrice, ko so izpostavljene neugodnim pogojem.

5.2.5. HEMOCITI

Gostota in viabilnost hemocitov sta bili v kontrolni skupini in skupini s 40 % koncentracije asfalta približno enaki ($2,83 \text{ celice} \times 10^6$ in $2,78 \text{ celice} \times 10^6$ ter 78.9 % in 79.7 %). V skupinah z nižjo koncentracijo pa je bila gostota izrazito manjša v primerjavi s kontrolo. V skupini z 5 % koncentracijo sta bili vrednosti namreč $1,93 \text{ celice} \times 10^6$ in 55.0 %.

Upočasnjen metabolizem pri višjih koncentracijah je pomenil, da vnos delcev asfalta v organizem ni bil tako velik, kot pri tistih osebkih izpostavljenih nižjim koncentracijam. Manjša vsebnost asfalta v sistemu je bila vzrok za manj mehanskih in kemičnih poškodb. Gostota in viabilnost hemocitov se iz tega razloga pri skupini 40 % ni tako spremenila v primerjavi s kontrolno skupino, kot se je pri skupinah z nižjo koncentracijo. THC in viabilnost hemocitov sta bili pri vseh koncentracijah razen pri koncentraciji 40 % zmanjšani. To lahko pripisujemo imunskemu odzivu, pri katerem pride do zmanjšanja teh dveh parametrov. THC in viabilnost hemocitov pri imunskem odzivu so raziskovali tudi Dolar in sod. (2020), kjer so ugotovili, da pri imunskem odzivu pride do zmanjšanja teh dveh parametrov. Raziskave, ki so jih izvedli Dolar in sod. (2021) poročajo, da lahko tudi okoljske spremembe ali umetni delci povzročijo spremembe na nivoju imunskega sistema kopenskega raka, kar je neposredni dokaz stresa za organizem.

6. ZAKLJUČEK

6.1. OVREDNOTENJE HIPOTEZ

6.1.1. RASTLINE

- **Pri višjih koncentracijah delcev asfalta v zemlji bodo rastline graha manj kalile.**

POTRJENO

Delež kaljenih semen je z višanjem koncentracije delcev asfalta v zemlji upadel. To dokazuje negativen vpliv delcev asfalta v zemlji na kalitev.

- **Dolžina korenin graha bo večja v primerjavi z dolžino poganjka, kot posledica prilagoditve rastline na spremenjene razmere v zemlji pri rastlinah izpostavljenih višjim koncentracijam delcev asfalta v zemlji.** **POTRJENO**

Razmerje dolžine korenine proti stebelu z višanjem koncentracije narašča. Opazimo, da imajo rastline pri 40 % koncentraciji daljši koreninski del kot nadzemni del rastline. Slednje razlagamo kot prilagoditev rastlin v povezavi s spremenjenimi lastnostmi zemlje. Zemlja se je namreč opazno bolj sušila in imela manjšo sposobnost zadrževanja vode.

- **Pri višjih koncentracijah delcev asfalta v zemlji se bo skupno število listnih rež povečalo, le-te pa bodo manjše.** **POTRJENO**

Pri višjih testnih koncentracijah se je število listnih rež v primerjavi s kontrolo povečalo, povprečna velikost rež pa se je zmanjšala. To je bil pričakovani stresni odziv.

- **Prisotnost delcev asfalta bo povzročila višji pH zemlje, kar bo negativno vplivalo na rast rastlin.** **DELNO POTRJENO**

pH zemlje se je z naraščanjem koncentracije opazno zvišal, vendar vseeno ne dovolj, da bi lahko z gotovostjo trdili, da gre za značilne razlike v primerjavi s kontrolo.

6.1.2. ŽIVALI

- **Pri mokricah izpostavljenih višjim koncentracijam delcev asfalta v zemlji pričakujemo večjo smrtnost. POTRJENO**

Preživetje se je v skupinah z višjimi koncentracijami (5, 10 in 40 %) zmanjšalo na 91 %. To nakazuje možen vpliv delcev na preživetje.

- **Mokrice, ki so izpostavljene višjim koncentracijam delcev asfalta se bodo manj levile. OVRŽENO**

Vpliva delcev asfalta v zemlji na levitev organizmov nismo zaznali, saj se podatki za testne koncentracije ne razlikujejo od kontrole. Sklepamo, da delci asfalta nimajo vpliva na levitve oziroma jih nismo mogli opaziti, zaradi časovno omejenega poskusa.

- **Telesna masa mokric se bo pri nižjih testnih koncentracijah delcev asfalta bolj povečala kot pri organizmih izpostavljenih višjim koncentracijam v zemlji. OVRŽENO**

Pri vseh skupinah se je povprečna masa v primerjavi s povprečno maso kontrole povečala.

- **Mokrice, izpostavljene delcem asfalta v zemlji bodo imele spremenjeno krvno sliko, tj. gostota in viabilnost celic hemolimfe. DELNO POTRJENO**

Gostota hemocitov se je zmanjšala pri 1 %, 5 % in 10 % (w/w) delcev asfalta v zemlji v primerjavi s kontrolo, medtem ko pri najvišji koncentraciji nismo opazili učinka. Podobno je bilo pri viabilnosti hemocitov, kjer je bil delež viabilnih hemocitov podoben tako v kontroli kot tudi pri 40 % delcev asfalta. Pri ostalih treh testnih skupinah se je delež viabilnih hemocitov znižal.

6.2. PREDLOGI ZA NADALJNJE RAZISKAVE IN RAZMISLEK

V tej raziskavi smo preučevali vpliv delcev asfalta v zemlji na rastline graha in kopenske rake mokrice. Preko merjenja izbranih parametrov smo ugotovili neposredne negativne učinke na testne organizme, hkrati potrdili, da delci asfalta predstavljajo stres za organizme.

V nadaljnjih raziskavah bi lahko raziskovali podrobnejši vpliv asfalta na rast rastlin, tako da bi čas poskusa podaljšali. Tako bi pridobili bolj zanesljive podatke o dolžini poganjkov in koreninskega sistema. V primeru, da bi raziskave trajale dovolj dolgo, bi lahko spremljali tudi rast in razvoj plodov.

Raziskave bi lahko razširili tudi na druge kulturne rastline kot so koruza, sončnice, ajda, pšenica ali oljna repica, in imajo velik gospodarski pomen za človeštvo.

Nadaljnje raziskave vpliva delcev asfalta na mokrice bi lahko potekale več časa. S tem bi pridobili bolj zanesljive in izrazitejše podatke glede smrtnosti, levitev in odziva živali na stres, ki bi se še bol izrazito pokazale na krvni sliki mokric.

K izboljšanju obstoječe raziskave bi znatno prispevala uporaba večjega števila testnih osebkov.

Poskuse bi lahko izvajali tudi na drugih živalih, ki so dober pokazatelj sprememb v okolju. Na primer na mokaarih in deževnikih..

6.3. ZAKLJUČEK

RASTLINE:

- Delci asfalta negativno vplivajo na rastline graha, kar je razvidno iz zmanjšanja kalitve semen z višanjem koncentracije delcev asfalta v zemlji.
- Delci asfalta predstavljajo stres za rastline graha na katerega se odzovejo z kompenzacijskih mehanizmom, tj. povečana rast korenin z naraščajočo koncentracijo delcev in povečanjem števila listnih rež in manjšanjem premera le teh.

ŽIVALI:

- Delci asfalta niso neposredno strupeni za kopenske rake *P. laevis*, ker ne vplivajo na preživetje mokric, vendar pa zmanjšano prehranjevanje vseeno izkazuje negativen učinek na organizme.
- Iz krvne slike rakov je razvidno (zmanjšana gostota hemocitov in njihove viabilnosti pri nižjih testnih koncentracijah), da delci asfalta predstavljajo stres za organizme, ki pa ga organizmi uspešno kompenzirajo.

7. VIRI IN LITERATURA

Dolar A. Optimizacija metod za spremljanje procesov, povezanih z imunostjo v hemolimfi enakonožcev. Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij biološkega izobraževanja, 2021

Dolar, A., Selonen, S., van Gestel, C. A., Perc, V., Drobne, D., & Kokalj, A. J. (2021). Microplastics, chlorpyrifos and their mixtures modulate immune processes in the terrestrial crustacean *Porcellio scaber*. *Science of the Total Environment*, 772, 144900.

Huck, M. G., Ishihara, K., Peterson, C. M., & Ushijima, T. (1983). Soybean adaptation to water stress at selected stages of growth. *Plant physiology*, 73(2), 422-427.

Wikipedia, 2024

Porcellio laevis. Pridobljeno iz https://en.wikipedia.org/wiki/Porcellio_laevis

(IVR), I. z. (n.d. (dostopano 2025)). *Inštitut za varstvo rastlin (IVR)*. Pridobljeno iz Stročnice: <https://www.ivr.si/rastlina/strocnice/>

(1993). V P. d. Salvatore Carfi, *Zoologija nevretenčarjev*. Ljubljana: Mladinska knjiga.

(1997). V d. N. Mršič, *ŽIVALI NAŠIH TAL* (str. 160-165). Ljubljana: Tehniška založba Slovenije.

(1997). V N. Mršič, *Živali naših tal* (str. 160-165). Ljubljana: Tehnološka založba Slovenije.

A. U. Itodo, M. U. (2018). *Journal of Geoscience and Environment Protection*. Retrieved from Environmental Impact of Abandoned Asphalt Production Site on Soil, Water and Vegetables from Near Farmlands: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=83498>

A. U. Itodo, M. U. (2018). *Journal of Geoscience and Environment Protection*. Retrieved from Environmental Impact of Abandoned Asphalt Production Site on Soil, Water and Vegetables from Near Farmlands: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=83498>

- Ali, A. S. (2016, 3). *Effect of different levels of nitrogen fertilizer on growth and yield of wheat (Triticum aestivum L.)*. Retrieved from Bioline International: <https://www.bioline.org.br/pdf?ja16049>
- Amanda Jessica Rodrigues da Silva, A. E. (5. 5 2023). *SciELO Brasil*. Pridobljeno iz Environmental effects of leachate extracts from reclaimed asphalt pavement: determination of metals, polycyclic aromatic hydrocarbon and acute toxicity to *Daphnia magna*: <https://www.scielo.br/j/esa/a/zhdX6Hy5z7ft4jvzHKm7HRv/>
- Animal Diversity Web*. (brez datuma). Pridobljeno iz https://animaldiversity.org/accounts/Porcellio_scaber/
- Barber, J. (2019). Pridobljeno iz https://zpm-mb.si/wp-content/uploads/2019/08/S%C5%A0_Biologija_Vpliv_temperature_na_razporeditev.pdf
- British Myriapod and Isopod Group*. (18.. marec 2025). Pridobljeno iz Woodlice: 'pleopodal lungs': <https://bmig.org.uk/node/1147>
- Černe, M. (1997). *Stročnice*. Ljubljana: ČZD Kmečki glas, Ljubljana.
- Clec'h, W. L., D Chevalier, F., Genty, L., Beratux, J., Bouchon, D., & Mathieu, S. (2013). *National Library of Medicine*. Pridobljeno iz Cannibalism and Predation as Paths for Horizontal Passage of *Wolbachia* between Terrestrial Isopods: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3622663/>
- cytologics*. (14.. marec 2025). Pridobljeno iz <https://cytologicsbio.com/how-to-count-cells-using-a-hemocytometer/>
- Dreamstime*. (2025). Pridobljeno iz <https://www.dreamstime.com/royalty-free-stock-photo-sprig-pea-leaves-image26084145>
- Faletič, S. (2010). *Institut "Jožef Stefan"*. Pridobljeno iz Transport vode v visokih rastlinah: http://www-fl1.ijs.si/~rudi/sola/Transport_vode_v12.pdf
- FAOSTAT. (20. 3 2023). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Pridobljeno iz Crops and Livestock Products: <https://www.fao.org/faostat/>

- Grossegger, D. (2022). Material flow analysis study of asphalt in an Austrian municipality. *Journal of Industrial Ecology*, 996-1009. Pridobljeno iz Material flow analysis study of asphalt in an Austrian municipality.
- Grossegger, D. (15. 2 2022). *Wiley online library*. Pridobljeno iz Material flow analysis study of asphalt in an Austrian municipality: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jiec.13243>
- Holde, K. E., Miller, K. I., & Decker, H. (2001). *Science Direct*. Pridobljeno iz Hemocyanins and Invertebrate Evolution: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002192581931960X>
- Holzer, M. (2013). *Repozitorij univerze v Ljubljani*. Pridobljeno iz Vodni potencial nekaterih novih Lj- križancev koruze: <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=128420&lang=slv>
- Indiamart*. (14. marec 2025). Pridobljeno iz <https://www.indiamart.com/proddetail/hemocytometer-counting-chamber-22976261791.html>
- Inštitut za slovenski jezik Frana Ramovša, Z. S. (2025). *Slovarski portal Fran*. Pridobljeno iz Fran: <https://fran.si/iskanje?View=1&Query=gra>
- Irmak, P., Kurtz, J., & Zimmer, M. (2005). *Science Direct*. Pridobljeno iz Immune response in Porcellio scaber (Isopoda: Oniscidea): copper revisited: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1164556305000415>
- J.P. Odendaal, A. R. (oktober 2003). *Science Direct*. Pridobljeno iz Quantifying histopathological alterations in the hepatopancreas of the woodlouse Porcellio laevis (Isopoda) as a biomarker of cadmium exposure: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014765130200163X>
- Learn, I. (14. marec 2025). *Infinity learn*. Pridobljeno iz <https://infinitylearn.com/surge/chemistry/asphalt/#:~:text=Asphalt%20is%20a%20black%2C%20sticky,%2C%20sidewalks%2C%20and%20parking%20lots.>
- Lincoln Taiz, E. Z. (2015). *Plant Physiology and Development*. Los Angeles.
- Majeed, T., Idrees Ahmed Wani, Afshan Mumtaz Hamdani, & Naseer Ahmad Bhat. (15. 7 2018). *Science Direct*. Pridobljeno iz Effect of sonication and γ -irradiation on the

- properties of pea (*Pisum sativum*) and vetch (*Vicia villosa*) starches: A comparative study: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813018308778>
- Ministrstvo za kmetijstvo, g. i. (2008). *Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije (KGZS)*. Pridobljeno iz ehnološka priporočila za zmanjšanje občutljivosti kmetijske pridelave na sušo: https://lj.kgzs.si/Portals/1/2013%20-%20novice/Teholoska_priporocila_za_zmanjsanje_obcutljivosti_na_suso.pdf
- Qasim, N. D. (2000). Perceived Benefits to Human Well-being of Urban Gardens. *HortTechnology*, 40-45.
- Raha Bitumen Co.* (14. 3.. marec 2025). Pridobljeno iz Bitumen components: <https://rahabitumen.com/bitumen-components/>
- Richard Barnes, G. C. (2005). *ŽIVALI velika ilustrirana enciklopedija*. Ljubljana: Mladinska knjiga.
- Roques, J. A., Richard, F.-J., & Houdelet, C. (2020). *Science Direct*. Pridobljeno iz Stress response in terrestrial isopods: A comparative study on glycaemia: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0929139320306375>
- Sans Vertigo*. (december 2018). Pridobljeno iz Care Sheet: Terrestrial Isopods (slaters, pillbugs and woodlice): <https://www.sansvertigo.com.au/blogs/resources/care-sheet-pill-bug>
- Science Direct*. (brez datuma). Pridobljeno iz t
- Science Direct*. (14. 3.. marec 2025).
- Stireks. (28. 5 2021). *Stireks izolacijske rešitve*. Pridobljeno iz Asfalt – Kaj je, kako ga pridobivamo in kako uporabljamo: <https://stireks.si/asfalt-kaj-je-kako-ga-pridobivamo-in-kako-uporabljamo/>
- Stockley, C. (1994). *Biologija: slikovni pojmovnik*. Ljubljana: Tahniška založba Slovenije.
- Taylor, E. (1. april 2025). *WARBLETONCOUNCIL*. Pridobljeno iz Ogljikova kislina (H₂CO₃): struktura, lastnosti, sinteza, uporaba: <https://sl.warbletoncouncil.org/acido-carbonico-8779>
- Townsend, T. G., & Brantley, A. (junij 1998). *hinkleycenter*. Pridobljeno iz Leaching Characteristics of Asphalt Road Waste: https://www.hinkleycenter.org/pdfs/1997-03_Townsend.pdf

- Velikonja, T. (2019). *MojaObčina.si*. Pridobljeno iz Osnove namakanja-voda v tleh: <https://www.mojaobcina.si/ajdovscina/novice/osnove-namakanja--voda-v-tleh.html>
- Vodnik, D. (2012). *Osnove fiziologije rastlin*. Ljubljana: Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani.
- Vovk Korže, A. (2023). Možnosti za modro-zeleno infrastrukturo v. *Revija za geografijo – Journal for Geography*, 65-80.
- Vrščaj, B. (2018). *Kmetijski inštitut Slovenije (KIS)*. Pridobljeno iz Lastnosti, pestrost in ekosistemske storitve tal: tla v okolju: https://www.kis.si/f/docs/Obvestila/Lastnosti_pestrost_in_ekosistemske_storitve_tal.pdf
- Wikipedia. (18. 12 2024). *Wikipedia*. Pridobljeno iz Bitumen: <https://en.wikipedia.org/wiki/Bitumen>
- WIKIPEDIA. (14.. marec 2025). Pridobljeno iz Porcellio laevis: https://en.wikipedia.org/wiki/Porcellio_laevis
- Xinqiang Zhang, B. T. (31. 1 2024). Pridobljeno iz <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652624004487?via%3Dihub>: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652624004487?via%3Dihub>
- Yujie Huang, X. Z. (2024, 1 22). *Wiley advanced*. Retrieved from Ecotoxicological risk of asphalt pavements to aquatic animals associated with pollutant leaching: <https://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adfm.202308392>
- Zou, F., Margaret M.H. Wu, Zhifei Tan, Guoyang Lu, Kevin W.H. Kwok, & Zhen Leng. (20. 9 2024). *Science direct*. Pridobljeno iz Ecotoxicological risk of asphalt pavements to aquatic animals associated with pollutant leaching: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969724041330>
- Lincoln Taiz, E. Z. (2015). *Plant Physiology and Development*. Los Angeles.

- (brez datuma). Pridobljeno iz https://en.wikipedia.org/wiki/Porcellio_laevis
- (IVR), I. z. (n.d. (dostopano 2025)). *Inštitut za varstvo rastlin (IVR)*. Pridobljeno iz Stročnice: <https://www.ivr.si/rastlina/strocnice/>
- (1993). V P. d. Salvatore Carfi, *Zoologija nevretenčarjev*. Ljubljana: Mladinska knjiga.
- (1997). V d. N. Mršič, *ŽIVALI NAŠIH TAL* (str. 160-165). Ljubljana: Tehniška založba Slovenije.
- (1997). V N. Mršič, *Živali naših tal* (str. 160-165). Ljubljana: Tehnološka založba Slovenije.
- A. U. Itodo, M. U. (2018). *Journal of Geoscience and Environment Protection*. Retrieved from Environmental Impact of Abandoned Asphalt Production Site on Soil, Water and Vegetables from Near Farmlands: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=83498>
- A. U. Itodo, M. U. (2018). *Journal of Geoscience and Environment Protection*. Retrieved from Environmental Impact of Abandoned Asphalt Production Site on Soil, Water and Vegetables from Near Farmlands: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=83498>
- Ali, A. S. (2016, 3). *Effect of different levels of nitrogen fertilizer on growth and yield of wheat (Triticum aestivum L.)*. Retrieved from Bioline International: <https://www.bioline.org.br/pdf?ja16049>
- Amanda Jessica Rodrigues da Silva, A. E. (5. 5 2023). *SciELO Brasil*. Pridobljeno iz Environmental effects of leachate extracts from reclaimed asphalt pavement: determination of metals, polycyclic aromatic hydrocarbon and acute toxicity to *Daphnia magna*: <https://www.scielo.br/j/esa/a/zhdX6Hy5z7ft4jvzHKm7HRv/>
- Animal Diversity Web*. (brez datuma). Pridobljeno iz https://animaldiversity.org/accounts/Porcellio_scaber/
- Barber, J. (2019). Pridobljeno iz https://zpm-mb.si/wp-content/uploads/2019/08/S%C5%A0_Biologija_Vpliv_temperature_na_razporeditev.pdf
- British Myriapod and Isopod Group*. (18.. marec 2025). Pridobljeno iz Woodlice: 'pleopodal lungs': <https://bmig.org.uk/node/1147>

- Černe, M. (1997). *Stročnice*. Ljubljana: ČZD Kmečki glas, Ljubljana.
- Clec'h, W. L., D Chevalier, F., Genty, L., Beratux, J., Bouchon, D., & Mathieu, S. (2013). *National Library of Medicine*. Pridobljeno iz Cannibalism and Predation as Paths for Horizontal Passage of Wolbachia between Terrestrial Isopods: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3622663/>
- cytologics*. (14.. marec 2025). Pridobljeno iz <https://cytologicsbio.com/how-to-count-cells-using-a-hemocytometer/>
- Dreamstime*. (2025). Pridobljeno iz <https://www.dreamstime.com/royalty-free-stock-photo-sprig-pea-leaves-image26084145>
- Faletič, S. (2010). *Institut "Jožef Stefan"*. Pridobljeno iz Transport vode v visokih rastlinah: http://www-fl.ijs.si/~rudi/sola/Transport_vode_v12.pdf
- FAOSTAT. (20. 3 2023). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Pridobljeno iz Crops and Livestock Products: <https://www.fao.org/faostat/>
- Grossegger, D. (2022). Material flow analysis study of asphalt in an Austrian municipality. *Journal of Industrial Ecology*, 996-1009. Pridobljeno iz Material flow analysis study of asphalt in an Austrian municipality.
- Grossegger, D. (15. 2 2022). *Wiley online library*. Pridobljeno iz Material flow analysis study of asphalt in an Austrian municipality: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jiec.13243>
- Holde, K. E., Miller, K. I., & Decker, H. (2001). *Science Direct*. Pridobljeno iz Hemocyanins and Invertebrate Evolution: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002192581931960X>
- Holzer, M. (2013). *Repozitorij univerze v Ljubljani*. Pridobljeno iz Vodni potencial nekaterih novih Lj- križancev koruze: <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=128420&lang=slv>
- Indiamart*. (14.. marec 2025). Pridobljeno iz <https://www.indiamart.com/proddetail/hemocytometer-counting-chamber-22976261791.html>

- Inštitut za slovenski jezik Frana Ramovša, Z. S. (2025). *Slovarski portal Fran*. Pridobljeno iz Fran: <https://fran.si/iskanje?View=1&Query=gra>
- Irmak, P., Kurtz, J., & Zimmer, M. (2005). *Science Direct*. Pridobljeno iz Immune response in Porcellio scaber (Isopoda: Oniscidea): copper revisited: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1164556305000415>
- J.P. Odendaal, A. R. (oktober 2003). *Science Direct*. Pridobljeno iz Quantifying histopathological alterations in the hepatopancreas of the woodlouse Porcellio laevis (Isopoda) as a biomarker of cadmium exposure: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014765130200163X>
- Learn, I. (14. marec 2025). *Infinity learn*. Pridobljeno iz <https://infinitylearn.com/surge/chemistry/asphalt/#:~:text=Asphalt%20is%20a%20black%2C%20sticky,%2C%20sidewalks%2C%20and%20parking%20lots>.
- Lincoln Taiz, E. Z. (2015). *Plant Physiology and Development*. Los Angeles.
- Majeed, T., Idrees Ahmed Wani, Afshan Mumtaz Hamdani, & Naseer Ahmad Bhat. (15. 7 2018). *Science Direct*. Pridobljeno iz Effect of sonication and γ -irradiation on the properties of pea (*Pisum sativum*) and vetch (*Vicia villosa*) starches: A comparative study: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813018308778>
- Ministrstvo za kmetijstvo, g. i. (2008). *Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije (KGZS)*. Pridobljeno iz ehnološka priporočila za zmanjšanje občutljivosti kmetijske pridelave na sušo: https://lj.kgzs.si/Portals/1/2013%20-%20novice/Tehnoloska_priporocila_za_zmanjsanje_obcutljivosti_na_suso.pdf
- Qasim, N. D. (2000). Perceived Benefits to Human Well-being of Urban Gardens. *HortTechnology*, 40-45.
- Raha Bitumen Co. (14. 3. marec 2025). Pridobljeno iz Bitumen components: <https://rahabitumen.com/bitumen-components/>
- Richard Barnes, G. C. (2005). *ŽIVALI velika ilustrirana enciklopedija*. Ljubljana: Mladinska knjiga.
- Roques, J. A., Richard, F.-J., & Houdelet, C. (2020). *Science Direct*. Pridobljeno iz Stress response in terrestrial isopods: A comparative study on glycaemia: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0929139320306375>

- Sans Vertigo*. (december 2018). Pridobljeno iz Care Sheet: Terrestrial Isopods (slaters, pillbugs and woodlice): <https://www.sansvertigo.com.au/blogs/resources/care-sheet-pill-bug>
- Science Direct*. (brez datuma). Pridobljeno iz t
- Science Direct*. (14. 3.. marec 2025).
- Stireks. (28. 5 2021). *Stireks izolacijske rešitve*. Pridobljeno iz Asfalt – Kaj je, kako ga pridobivamo in kako uporabljamo: <https://stireks.si/asfalt-kaj-je-kako-ga-pridobivamo-in-kako-uporabljamo/>
- Stockley, C. (1994). *Biologija: slikovni pojmovnik*. Ljubljana: Tahniška založba Slovenije.
- Taylor, E. (1. april 2025). *WARBLETONCOUNCIL*. Pridobljeno iz Ogljikova kislina (H_2CO_3): struktura, lastnosti, sinteza, uporaba: <https://sl.warbletoncouncil.org/acido-carbonico-8779>
- Townsend, T. G., & Brantley, A. (junij 1998). *hinkleycenter*. Pridobljeno iz *Leaching Characteristics of Asphalt Road Waste*: https://www.hinkleycenter.org/pdfs/1997-03_Townsend.pdf
- Velikonja, T. (2019). *MojaObčina.si*. Pridobljeno iz *Osnove namakanja-voda v tleh*: <https://www.mojaobcina.si/ajdovscina/novice/osnove-namakanja--voda-v-tleh.html>
- Vodnik, D. (2012). *Osnove fiziologije rastlin*. Ljubljana: Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani.
- Vovk Korže, A. (2023). Možnosti za modro-zelena infrastrukturo v. *Revija za geografijo – Journal for Geography*, 65-80.
- Vrščaj, B. (2018). *Kmetijski inštitut Slovenije (KIS)*. Pridobljeno iz Lastnosti, pestrost in ekosistemske storitve tal: tla v okolju: https://www.kis.si/f/docs/Obvestila/Lastnosti_pestrost_in_ekosistemske_storitve_tal.pdf
- Wikipedia. (18. 12 2024). *Wikipedia*. Pridobljeno iz Bitumen: <https://en.wikipedia.org/wiki/Bitumen>
- WIKIPEDIA. (14.. marec 2025). Pridobljeno iz Porcellio laevis: https://en.wikipedia.org/wiki/Porcellio_laevis

- Xinqiang Zhang, B. T. (31. 1 2024). Pridobljeno iz [Jhttps://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652624004487?via%3Dihub](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652624004487?via%3Dihub):
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652624004487?via%3Dihub>
- Yujie Huang, X. Z. (2024, 1 22). *Wiley advanced*. Retrieved from Ecotoxicological risk of asphalt pavements to aquatic animals associated with pollutant leaching: <https://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adfm.202308392>
- Zou, F., Margaret M.H. Wu, Zhifei Tan, Guoyang Lu, Kevin W.H. Kwok, & Zhen Leng. (20. 9 2024). *Science direct*. Pridobljeno iz Ecotoxicological risk of asphalt pavements to aquatic animals associated with pollutant leaching: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969724041330>

VIRI SLIK

Žan Hace, 2025

Tajda Adrovič Flisar, 2025

Brina Vita Mauhar, 2025

Andraž Dolar, 2025

WIKIPEDIA. (14. marec 2025). Pridobljeno iz Porcellio laevis: https://en.wikipedia.org/wiki/Porcellio_laevis

Sans Vertigo. (december 2018). Pridobljeno iz Care Sheet: Terrestrial Isopods (slaters, pillbugs and woodlice): <https://www.sansvertigo.com.au/blogs/resources/care-sheet-pill-bug>

Stockley, C. (1994). *Biologija: slikovni pojmovnik*. Ljubljana: založba Slovenije.

Dolar A. Optimizacija metod za spremljanje procesov, povezanih z imunostjo v hemolimfi enakonožcev. Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij biološkega izobraževanja, 2021

Vodnik, D. (2012). *Osnove fiziologije rastlin*. Ljubljana: Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani.

Raha Bitumen Co. (14. 3.. marec 2025). Pridobljeno iz Bitumen components:
<https://rahabitumen.com/bitumen-components/>

Indiamart. (14.. marec 2025). Pridobljeno iz
<https://www.indiamart.com/proddetail/hemocytometer-counting-chamber-22976261791.html>

British Myriapod and Isopod Group. (18.. marec 2025). Pridobljeno iz Woodlice: 'pleopodal lungs': <https://bmig.org.uk/node/1147>

Černe, M. (1997). *Stročnice*. Ljubljana: ČZD Kmečki glas, Ljubljana.

(1997). V N. Mršič, *Živali naših tal* (str. 160-165). Ljubljana: Tehnološka založba Slovenije.

cytologics. (14. marec 2025). Pridobljeno iz <https://cytologicsbio.com/how-to-count-cells-using-a-hemocytometer/>

FAOSTAT. (20. 3 2023). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Pridobljeno iz Crops and Livestock Products: <https://www.fao.org/faostat/>

Lincoln Taiz, E. Z. (2015). *Plant Physiology and Development*. Los Angeles.

Dreamstime. (2025). Pridobljeno iz <https://www.dreamstime.com/royalty-free-stock-photo-sprig-pea-leaves-image26084145>

Wikipedia, 2024: <https://en.wikipedia.org/wiki/Bitumen#>

Velikonja, T. (2019). *MojaObčina.si*. Pridobljeno iz Osnove namakanja-voda v tleh:
<https://www.mojaobcina.si/ajdovscina/novice/osnove-namakanja--voda-v-tleh.html>

8. PRILOGA

Tabela za graf 10:

vsebnost_asf	rastlina	dan	dan	visina	zap_skup
kontrola	1	7	1	1.5	1
kontrola	1	8	2	3.5	1
kontrola	1	9	3	6	1
kontrola	1	10	4	7	1
kontrola	1	11	5	7.5	1
kontrola	1	12	6	10	1
kontrola	1	13	7	12	1
kontrola	1	14	8	14	1
kontrola	1	15	9	15	1
kontrola	1	16	10	16	1
kontrola	1	17	11	17	1
kontrola	1	18	12	18	1
kontrola	1	19	13	18.5	1
kontrola	1	20	14	19	1
kontrola	2	7	1	1	2
kontrola	2	8	2	1	2
kontrola	2	9	3	1.5	2
kontrola	2	10	4	1.5	2
kontrola	2	11	5	1.5	2
kontrola	2	12	6	2	2
kontrola	2	13	7	3	2
kontrola	2	14	8	4.5	2
kontrola	2	15	9	6.5	2
kontrola	2	16	10	7	2
kontrola	2	17	11	7.5	2
kontrola	2	18	12	7.5	2
kontrola	2	19	13	8	2
kontrola	2	20	14	8	2

kontrola	3	7	1	2.5	3
kontrola	3	8	2	3.5	3
kontrola	3	9	3	6	3
kontrola	3	10	4	7	3
kontrola	3	11	5	7.5	3
kontrola	3	12	6	9	3
kontrola	3	13	7	11	3
kontrola	3	14	8	13	3
kontrola	3	15	9	13.5	3
kontrola	3	16	10	13.5	3
kontrola	3	17	11	14.5	3
kontrola	3	18	12	16	3
kontrola	3	19	13	17	3
kontrola	3	20	14	17	3
kontrola	4	7	1	1	4
kontrola	4	8	2	2	4
kontrola	4	9	3	3	4
kontrola	4	10	4	3	4
kontrola	4	11	5	3.5	4
kontrola	4	12	6	4	4
kontrola	4	13	7	4.5	4
kontrola	4	14	8	4.5	4
kontrola	4	15	9	4.5	4
kontrola	4	16	10	5	4
kontrola	4	17	11	5	4
kontrola	4	18	12	5	4
kontrola	4	19	13	5.5	4
kontrola	4	20	14	6	4
kontrola	5	7	1	1	5
kontrola	5	8	2	1	5
kontrola	5	9	3	1	5
kontrola	5	10	4	1	5
kontrola	5	11	5	1	5

kontrola	5	12	6	1	5
kontrola	5	13	7	2	5
kontrola	5	14	8	3.5	5
kontrola	5	15	9	4	5
kontrola	5	16	10	4.5	5
kontrola	5	17	11	5	5
kontrola	5	18	12	5	5
kontrola	5	19	13	5	5
kontrola	5	20	14	5	5
kontrola	6	7	1	1	6
kontrola	6	8	2	1.5	6
kontrola	6	9	3	4	6
kontrola	6	10	4	4	6
kontrola	6	11	5	4	6
kontrola	6	12	6	4	6
kontrola	6	13	7	4.5	6
kontrola	6	14	8	5.5	6
kontrola	6	15	9	7.5	6
kontrola	6	16	10	9	6
kontrola	6	17	11	9.5	6
kontrola	6	18	12	9.5	6
kontrola	6	19	13	10	6
kontrola	6	20	14	10.5	6
kontrola	7	7	1	1.5	7
kontrola	7	8	2	2.5	7
kontrola	7	9	3	4	7
kontrola	7	10	4	4.5	7
kontrola	7	11	5	5	7
kontrola	7	12	6	6.5	7
kontrola	7	13	7	8	7
kontrola	7	14	8	10	7
kontrola	7	15	9	11	7
kontrola	7	16	10	11.5	7

kontrola	7	17	11	13.5	7
kontrola	7	18	12	15	7
kontrola	7	19	13	16	7
kontrola	7	20	14	16.5	7
kontrola	8	7	1	1.5	8
kontrola	8	8	2	2	8
kontrola	8	9	3	2	8
kontrola	8	10	4	2	8
kontrola	8	11	5	2	8
kontrola	8	12	6	2	8
kontrola	9	7	1	1	9
1%	10	7	1	1.5	1
1%	10	8	2	3.5	1
1%	10	9	3	5	1
1%	10	10	4	7	1
1%	10	11	5	8	1
1%	10	12	6	10	1
1%	10	13	7	10.5	1
1%	10	14	8	12	1
1%	10	15	9	12.5	1
1%	10	16	10	13	1
1%	10	17	11	13	1
1%	10	18	12	13	1
1%	10	19	13	13	1
1%	10	20	14	13	1
1%	11	7	1	2	2
1%	11	8	2	2	2
1%	11	9	3	2	2
1%	11	10	4	2	2
1%	11	11	5	2	2
1%	11	12	6	4	2
1%	11	13	7	5.5	2
1%	11	14	8	7	2

1%	11	15	9	7	2
1%	11	16	10	7.5	2
1%	11	17	11	7.5	2
1%	11	18	12	7.5	2
1%	12	7	1	2	3
1%	12	8	2	2.5	3
1%	12	9	3	4.5	3
1%	12	10	4	6	3
1%	12	11	5	8	3
1%	12	12	6	9	3
1%	12	13	7	10.5	3
1%	12	14	8	12	3
1%	12	15	9	12.5	3
1%	12	16	10	13	3
1%	12	17	11	14	3
1%	12	18	12	15	3
1%	12	19	13	16	3
1%	12	20	14	16.5	3
1%	13	7	1	0.5	4
1%	13	8	2	0.5	4
1%	13	9	3	1	4
1%	13	10	4	1.5	4
1%	13	11	5	1.5	4
1%	13	12	6	1.5	4
1%	13	13	7	1.5	4
1%	13	14	8	1.5	4
1%	14	7	1	2.5	5
1%	14	8	2	3.5	5
1%	14	9	3	5	5
1%	14	10	4	5.5	5
1%	14	11	5	8	5
1%	14	12	6	8.5	5
1%	14	13	7	10.5	5

1%	14	14	8	13	5
1%	14	15	9	14	5
1%	14	16	10	14.5	5
1%	14	17	11	15	5
1%	14	18	12	15	5
1%	14	19	13	15.5	5
1%	14	20	14	15.5	5
1%	15	7	1	1.5	6
1%	15	8	2	3	6
1%	15	9	3	3	6
1%	15	10	4	3	6
1%	15	11	5	4	6
1%	15	12	6	4.5	6
1%	15	13	7	4.5	6
1%	15	14	8	4.5	6
1%	16	7	1	1.5	7
1%	16	8	2	2	7
1%	16	9	3	3	7
1%	16	10	4	3	7
1%	16	11	5	4	7
1%	16	12	6	4	7
1%	16	13	7	5.5	7
1%	16	14	8	6	7
1%	16	15	9	7.5	7
1%	16	16	10	8	7
1%	16	17	11	8.5	7
1%	16	18	12	9	7
1%	16	19	13	9	7
1%	16	20	14	10	7
1%	17	7	1	2	8
1%	17	8	2	2	8
1%	17	9	3	2.5	8
1%	17	10	4	3	8

1%	17	11	5	4	8
1%	17	12	6	4	8
1%	17	13	7	6	8
1%	17	14	8	6	8
1%	17	15	9	7	8
1%	17	16	10	7.5	8
1%	17	17	11	8	8
1%	17	18	12	8	8
1%	17	19	13	8	8
1%	17	20	14	8	8
1%	18	7	1	0	9
1%	18	8	2	2	9
1%	18	9	3	3	9
1%	18	10	4	3	9
1%	18	11	5	3.5	9
5%	19	7	1	2.5	1
5%	19	8	2	2.5	1
5%	19	9	3	4	1
5%	19	10	4	4	1
5%	19	11	5	4	1
5%	19	12	6	4.5	1
5%	19	13	7	5	1
5%	19	14	8	5.5	1
5%	19	15	9	7.5	1
5%	19	16	10	8	1
5%	19	17	11	9	1
5%	19	18	12	10	1
5%	19	19	13	11	1
5%	19	20	14	12	1
5%	20	7	1	2.5	2
5%	20	8	2	4	2
5%	20	9	3	5	2
5%	20	10	4	5.5	2

5%	20	11	5	6	2
5%	20	12	6	7	2
5%	20	13	7	9	2
5%	20	14	8	9	2
5%	20	15	9	10	2
5%	20	16	10	10	2
5%	20	17	11	10	2
5%	20	18	12	10	2
5%	20	19	13	10	2
5%	20	20	14	10.5	2
5%	21	7	1	1	3
5%	22	7	1	3.5	4
5%	22	8	2	5	4
5%	22	9	3	7	4
5%	22	10	4	7.5	4
5%	22	11	5	8	4
5%	22	12	6	11	4
5%	22	13	7	11	4
5%	22	14	8	12	4
5%	22	15	9	13	4
5%	22	16	10	13	4
5%	22	17	11	13	4
5%	22	18	12	13.5	4
5%	22	19	13	13.5	4
5%	22	20	14	14	4
5%	23	7	1	1	5
5%	23	8	2	1	5
5%	23	9	3	1	5
5%	23	10	4	1	5
5%	23	11	5	1.5	5
5%	23	12	6	2	5
5%	23	13	7	2	5
5%	23	14	8	2	5

5%	23	15	9	2	5
5%	24	7	1	1.5	6
5%	24	8	2	4	6
5%	24	9	3	7	6
5%	24	10	4	7.5	6
5%	24	11	5	8	6
5%	24	12	6	10	6
5%	24	13	7	12	6
5%	24	14	8	12	6
5%	24	15	9	13	6
5%	24	16	10	14	6
5%	24	17	11	15	6
5%	24	18	12	16	6
5%	24	19	13	16.5	6
5%	24	20	14	17	6
5%	25	7	1	1	7
5%	25	8	2	1	7
5%	25	9	3	1	7
5%	25	10	4	1	7
5%	25	11	5	1.5	7
5%	25	12	6	1.5	7
5%	25	13	7	2	7
5%	25	14	8	2.5	7
5%	25	15	9	3	7
5%	25	16	10	4	7
5%	25	17	11	4	7
5%	25	18	12	4	7
5%	25	19	13	4	7
5%	25	20	14	4	7
10%	26	7	1	0	1
10%	26	8	2	0.5	1
10%	26	9	3	1	1
10%	26	10	4	1.5	1

10%	26	11	5	2	1
10%	26	12	6	4	1
10%	26	13	7	5.5	1
10%	26	14	8	5.5	1
10%	26	15	9	5.5	1
10%	26	16	10	6	1
10%	27	7	1	2	2
10%	27	8	2	4.5	2
10%	27	9	3	5	2
10%	27	10	4	5.5	2
10%	27	11	5	6	2
10%	27	12	6	6	2
10%	27	13	7	6	2
10%	27	14	8	6.5	2
10%	27	15	9	6.5	2
10%	27	16	10	7	2
10%	27	17	11	7	2
10%	27	18	12	7.5	2
10%	27	19	13	8	2
10%	27	20	14	8	2
10%	28	7	1	1.5	3
10%	28	8	2	2	3
10%	28	9	3	3	3
10%	28	10	4	3	3
10%	28	11	5	3	3
10%	28	12	6	5	3
10%	28	13	7	6	3
10%	28	14	8	7.5	3
10%	28	15	9	8.5	3
10%	28	16	10	8.5	3
10%	28	17	11	7	3
10%	28	18	12	7.5	3
10%	28	19	13	8	3

10%	28	20	14	8	3
10%	29	7	1	2.5	4
10%	29	8	2	3.2	4
10%	29	9	3	6	4
10%	29	10	4	6	4
10%	29	11	5	6.5	4
10%	30	7	1	2	5
10%	30	8	2	4.5	5
10%	30	9	3	7	5
10%	30	10	4	7	5
10%	30	11	5	7	5
10%	30	12	6	7	5
10%	30	13	7	7.5	5
10%	30	14	8	7.5	5
10%	30	15	9	7.5	5
10%	30	16	10	8	5
10%	30	17	11	8	5
10%	30	18	12	9	5
10%	30	19	13	9	5
10%	30	20	14	9	5
10%	31	7	1	1	6
10%	31	8	2	1	6
10%	31	9	3	2	6
10%	31	10	4	2.5	6
10%	31	11	5	3	6
10%	31	12	6	3.5	6
10%	31	13	7	4	6
10%	31	14	8	4	6
10%	31	15	9	5.5	6
10%	31	16	10	6	6
10%	31	17	11	6	6
10%	32	7	1	0.5	7
10%	32	8	2	2	7

10%	32	9	3	4	7
10%	32	10	4	4.5	7
10%	32	11	5	5	7
10%	32	12	6	6	7
10%	32	13	7	6	7
10%	32	14	8	7	7
10%	32	15	9	9	7
10%	32	16	10	11	7
10%	32	17	11	11.5	7
10%	32	18	12	12.5	7
40%	33	7	1	3.5	1
40%	34	7	1	3	2
40%	35	7	1	1	3
40%	35	8	2	4.5	3
40%	35	9	3	5.5	3
40%	35	10	4	5.5	3
40%	35	11	5	6	3
40%	35	12	6	7.5	3
40%	35	13	7	10	3
40%	35	14	8	10.5	3
40%	35	15	9	11	3
40%	35	16	10	11	3
40%	35	17	11	11.5	3
40%	35	18	12	11.5	3
40%	35	19	13	11.5	3
40%	35	20	14	11.5	3
40%	36	7	1	2	4
40%	36	8	2	2.5	4
40%	36	9	3	5	4
40%	36	10	4	6	4
40%	36	11	5	7.5	4
40%	36	12	6	9	4
40%	36	13	7	11	4

40%	36	14	8	11	4
40%	36	15	9	12	4
40%	36	16	10	13	4
40%	36	17	11	13	4
40%	36	18	12	14	4
40%	36	19	13	14.5	4
40%	36	20	14	14.5	4
40%	37	7	1	3	5
40%	37	8	2	3	5
40%	37	9	3	3	5
40%	37	10	4	3	5
40%	37	11	5	3	5
40%	37	12	6	4.5	5
40%	37	13	7	6	5
40%	37	14	8	8	5
40%	37	15	9	9	5
40%	37	16	10	10	5
40%	37	17	11	10.5	5
40%	37	18	12	11	5
40%	37	19	13	11	5
40%	37	20	14	11	5
40%	38	7	1	0.5	6
40%	38	8	2	4	6
40%	38	9	3	7.5	6
40%	38	10	4	7.5	6
40%	38	11	5	8	6
40%	38	12	6	10.5	6
40%	38	13	7	12	6
40%	38	14	8	14	6
40%	38	15	9	14.5	6
40%	38	16	10	15.5	6
40%	38	17	11	15.5	6
40%	38	18	12	15.5	6

40%	38	19	13	16	6
40%	38	20	14	16	6
40%	39	7	1	0	7
40%	39	8	2	1	7
40%	39	9	3	1.5	7
40%	39	10	4	2	7
40%	39	11	5	2.5	7
40%	39	12	6	5.5	7
40%	39	13	7	7	7
40%	39	14	8	8	7
40%	39	15	9	9	7
40%	39	16	10	10	7
40%	39	17	11	11	7
40%	39	18	12	11	7
40%	39	19	13	11.5	7
40%	39	20	14	12	7
40%	40	7	1	0.5	8
40%	40	8	2	2	8
40%	40	9	3	4	8
40%	40	10	4	6	8
40%	40	11	5	7	8
40%	40	12	6	8.5	8
40%	40	13	7	8.5	8
40%	40	14	8	8.5	8
40%	40	15	9	10.5	8
40%	40	16	10	11	8
40%	40	17	11	11.5	8
40%	40	18	12	12	8
40%	40	19	13	12	8
40%	40	20	14	12	8