V02: Vzorčenje in in-situ analize okoljske eDNA prsti

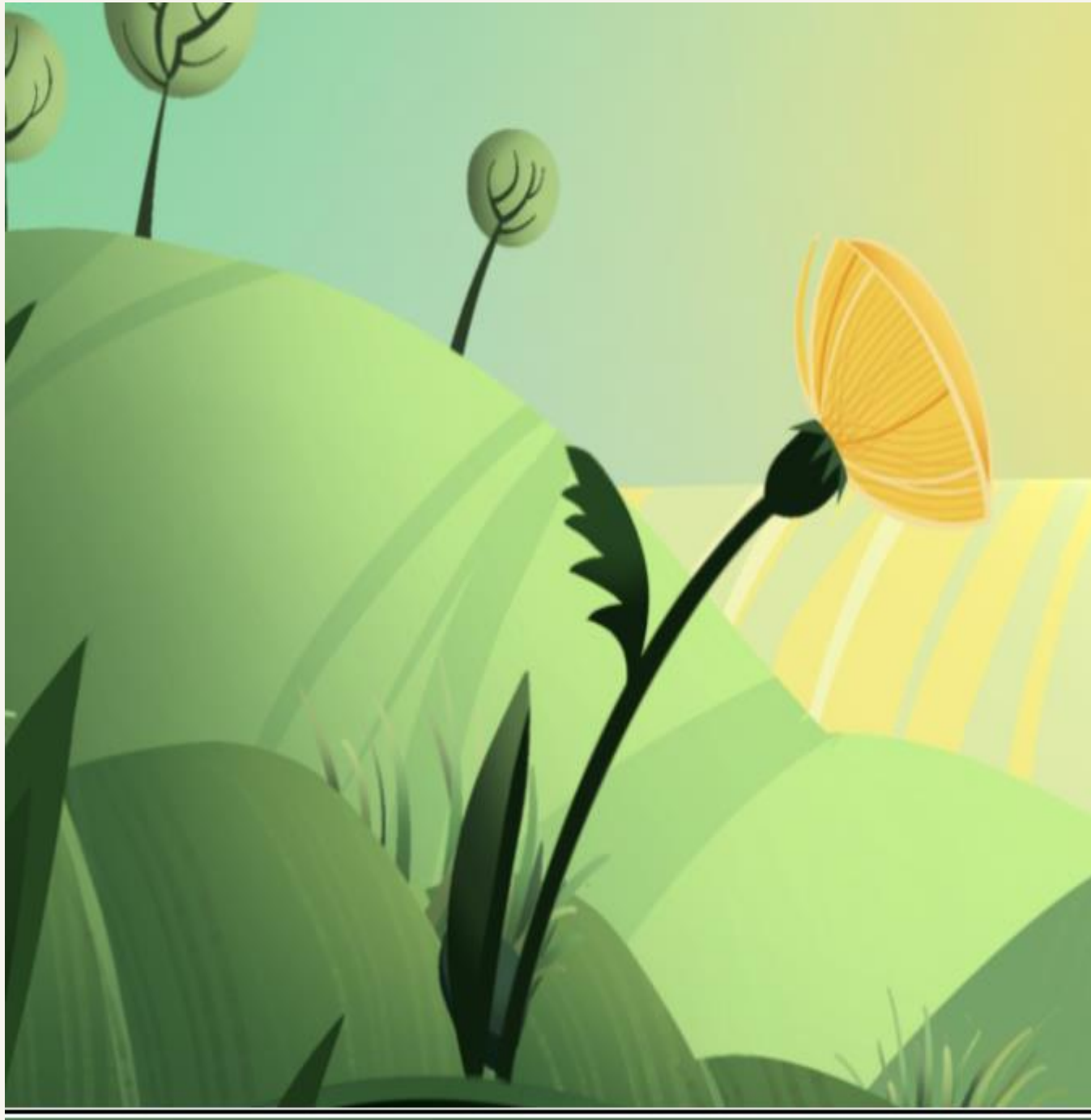
Vrednotenje zdravja (health) vzorcev prsti v sklopu ECHO državljanjskega projekta
+
Proučevanje biodiverzitete ritin

Use as a field briefing before sampling and as a checklist during sample handling.

ECHO app + field sheet

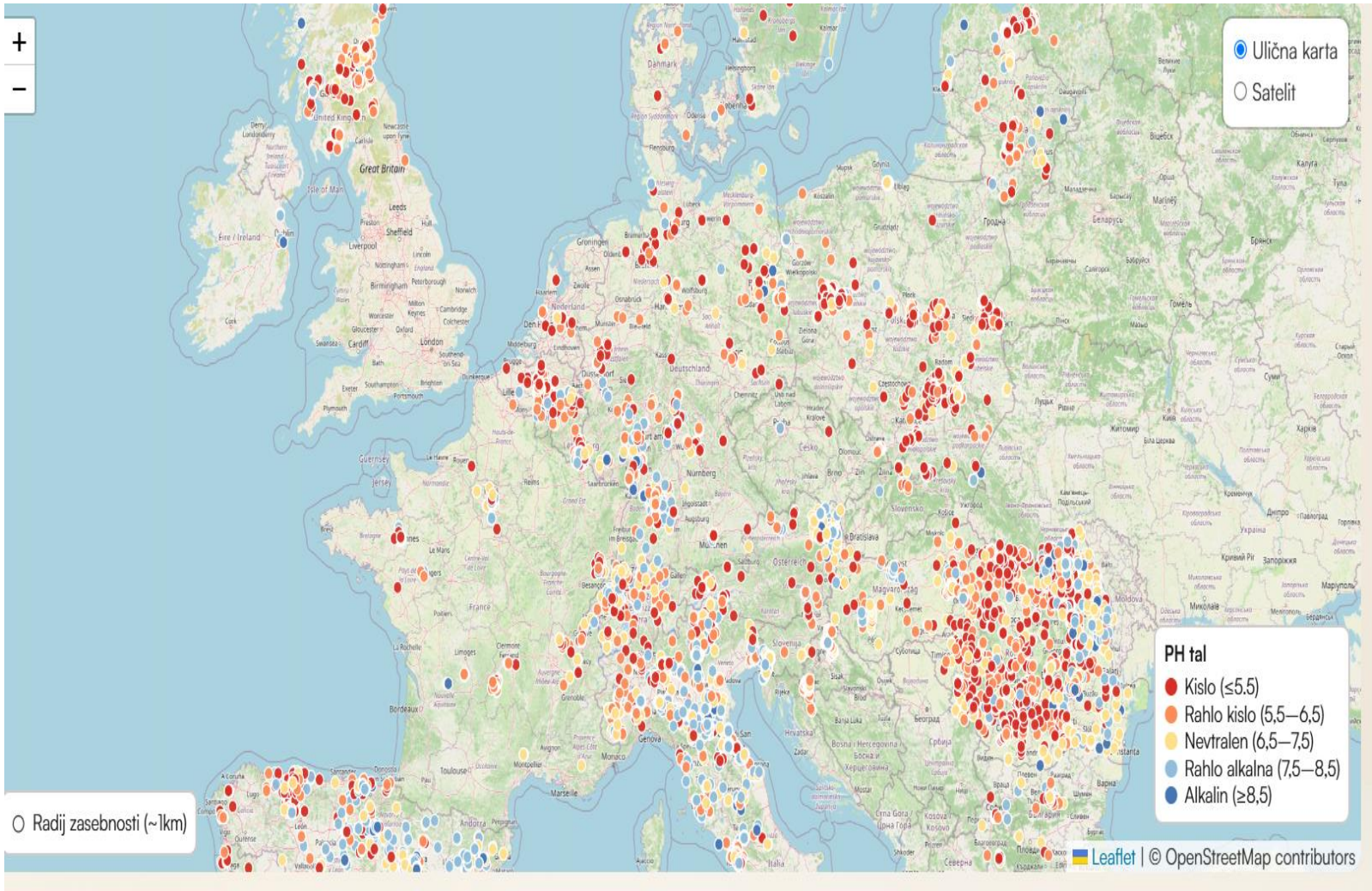
Rooting vs non-rooting

Avoid contamination



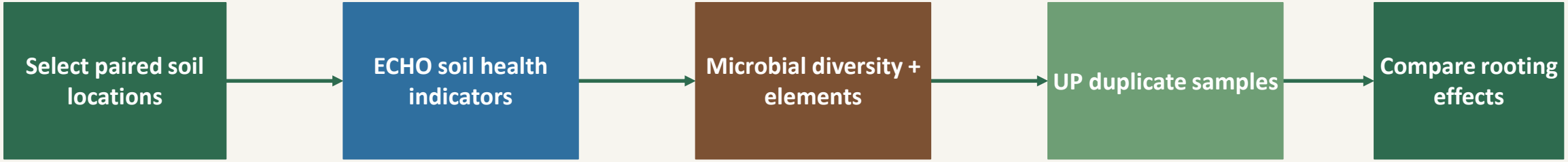
KAJ JE ECHO?

- **Evropski projekt Horizon Europe (2023–2027),** na tematiko monitoringa zdravja in kvalitete tal.
- Vključuje **državljane v spremljanje, varovanje in obnovo tal**.
- Cilj je zbrati podatke z do **16.500 lokacij po Evropi**.
- Rezultati bodo dostopni v odprtem repozitoriju **ECHOREPO**.



https://echosoil.eu/

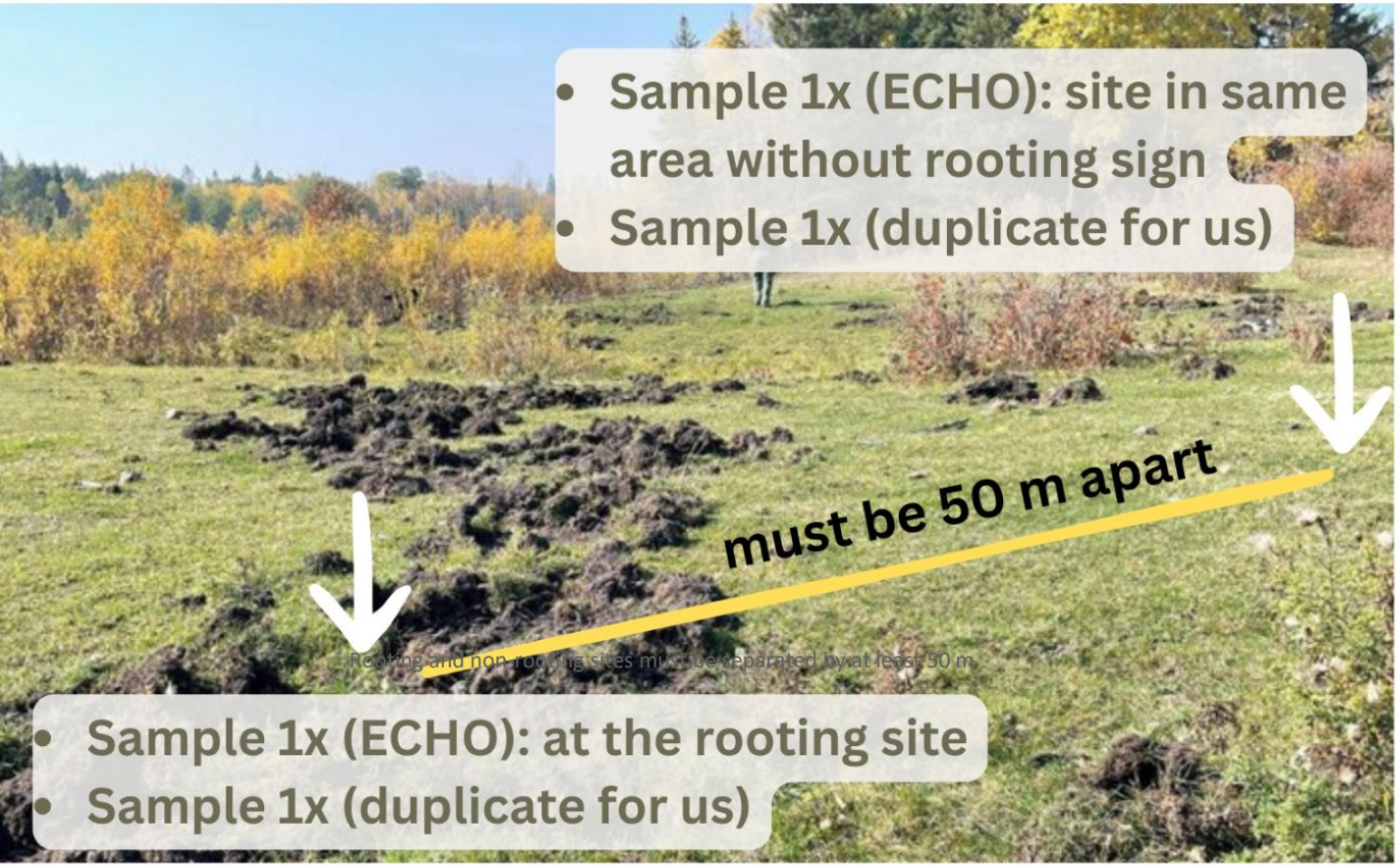
Why we sample: project logic



- ECHO combines on-site citizen-science observations with off-site laboratory analyses.
- For this study, soil data are linked with wild-boar diet/rooting research.
- Main comparison: rooting sites vs nearby non-rooting sites in the same broader area.

Navodila za teren in vzorčenje: točke vzorčenja ≥50 m narazen

Step 1



• Izberite območje z vidnimi ritinami (Rižana in Obrov-Žabnik)

Na vsaki lokaciji:

- **ZA ECHO: en vzorec ritine + en vzorec 50 m ne-ritine.**
- Sledite navodilom ECHO in vnesete vse podatke v ECHO aplikacijo
- Vsak študent: 2 vnosa (2 vzorca) kot Citizen scientist
- **ZA UP FAMNIT: vzamite duplikate vzorcev z istih lokacij kot ECHO** (delali bomo metabarkodiranje biodiverzitete)
- Nujno izpolnete sample_data_sheet vzorca (povezava z ECHO ID, zapis koordinat).

• Ne mešajte vzorce ritin in ne-ritin

Vsaka lokacija: območje ritin+ območje ne-ritin→ ECHO samples + UP duplicate bags

Pred terenom: preglej ECHO navodila, naloži ECHO aplikacijo, reši njihov kviz kot Citizen Scientist



ECHO toolkit contents



Install and test the ECHO app

- **ECHO kit:** navodila, rokavice, lopatka, lesena žlička, papir za Ph meritev, vrečke za vzorce, falkonke za meritve (večja) in vzorce bidoiverzitete (manjša), QR-coded vrečke.
- **UP material**: označene ZIP vrečke po lokacijah (lokacije koordinate imate napisane v navodilih), vrečke razlikujejo po „rooting“ in „nn-rooting“ vrečkah, tabela za podatke o vzorcih za UP, stiroporna škatla s pingvini
- Na teren: pridite **pripravljeni, preberite navodila UP in ECHO, poglejte video vzorčenja ECHO: https://echosoil.eu/for-participants**
- Pridite ustrezno obuti in oblečeni, s seboj imejte telefone, kemične svinčnike in vodo.

Vzorčne lokacije: Rižana in Obrov-Žabnik



Rižana lokacije

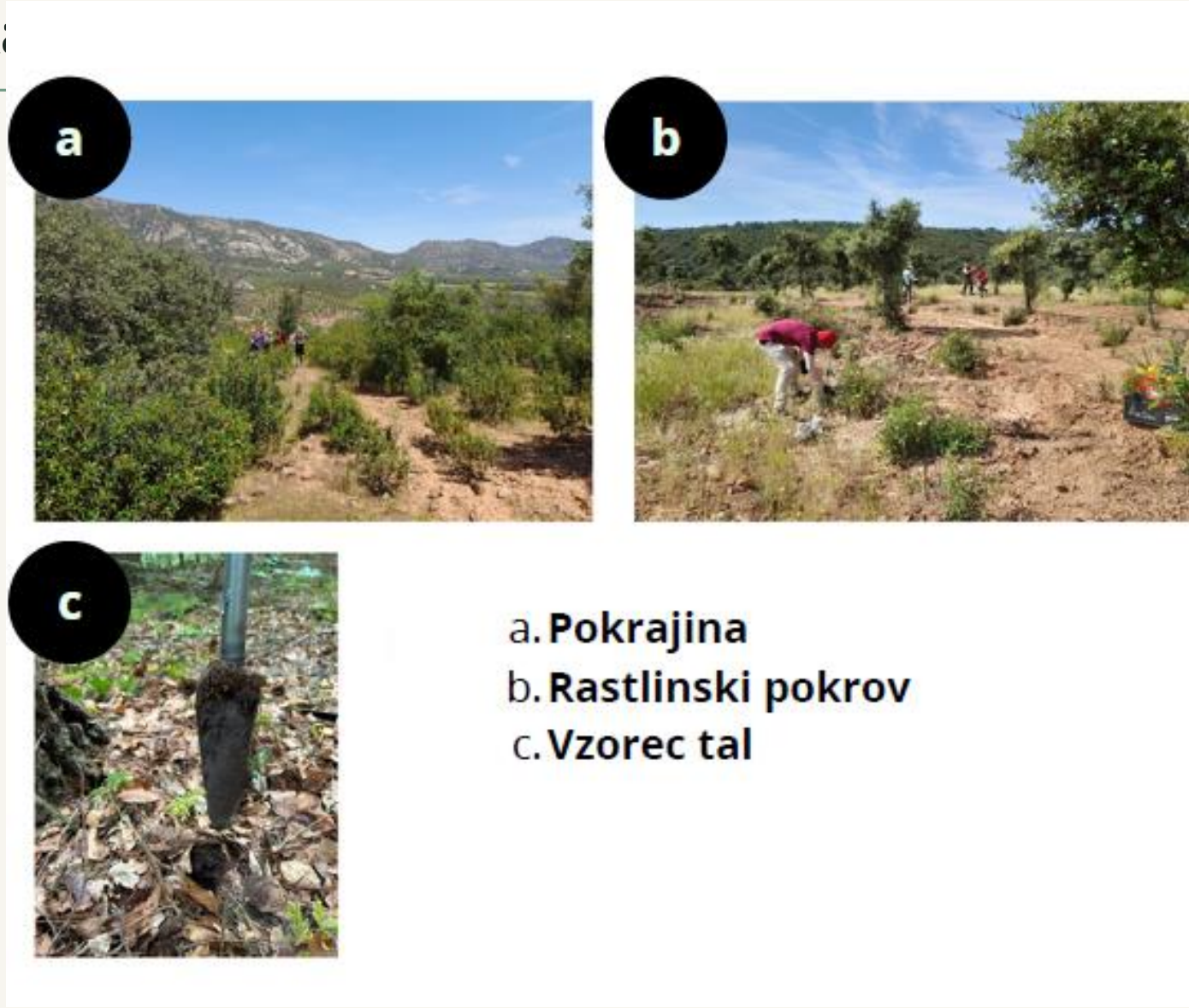


Žabnik–Obrov lokacije

- Koordinate in lokacije so že izbrane (glej navodila UP)
- v primeru nedostopnosti, nevarnosti spremeni lokacijo
- vzorčenje čim bolj suhih tal
- Vedno se vzame prst z ritin
- .med lokacijami mora biti 50 m razdalje

1. Korak: ECHO – podatki o loka

- Posnemi jasne **fotografije krajine, vegetacijskega pokrova in vzorcev prsti**
- Zabeleži pod opombe: roads, industry, waste, pesticides, flooding, standing water, erosion or other potential contamination sources.
- Dodaj (lahko klikneš avtomatsko) **koordinate lokacije** V ECHO aplikacijo
- Hkrati si jasne koordinate zabeleži tudi v tabelo UP sample_field_sheet (zaokroženo na 6-mesto številko, ne le na dvomestno kot v ECHO!!!).



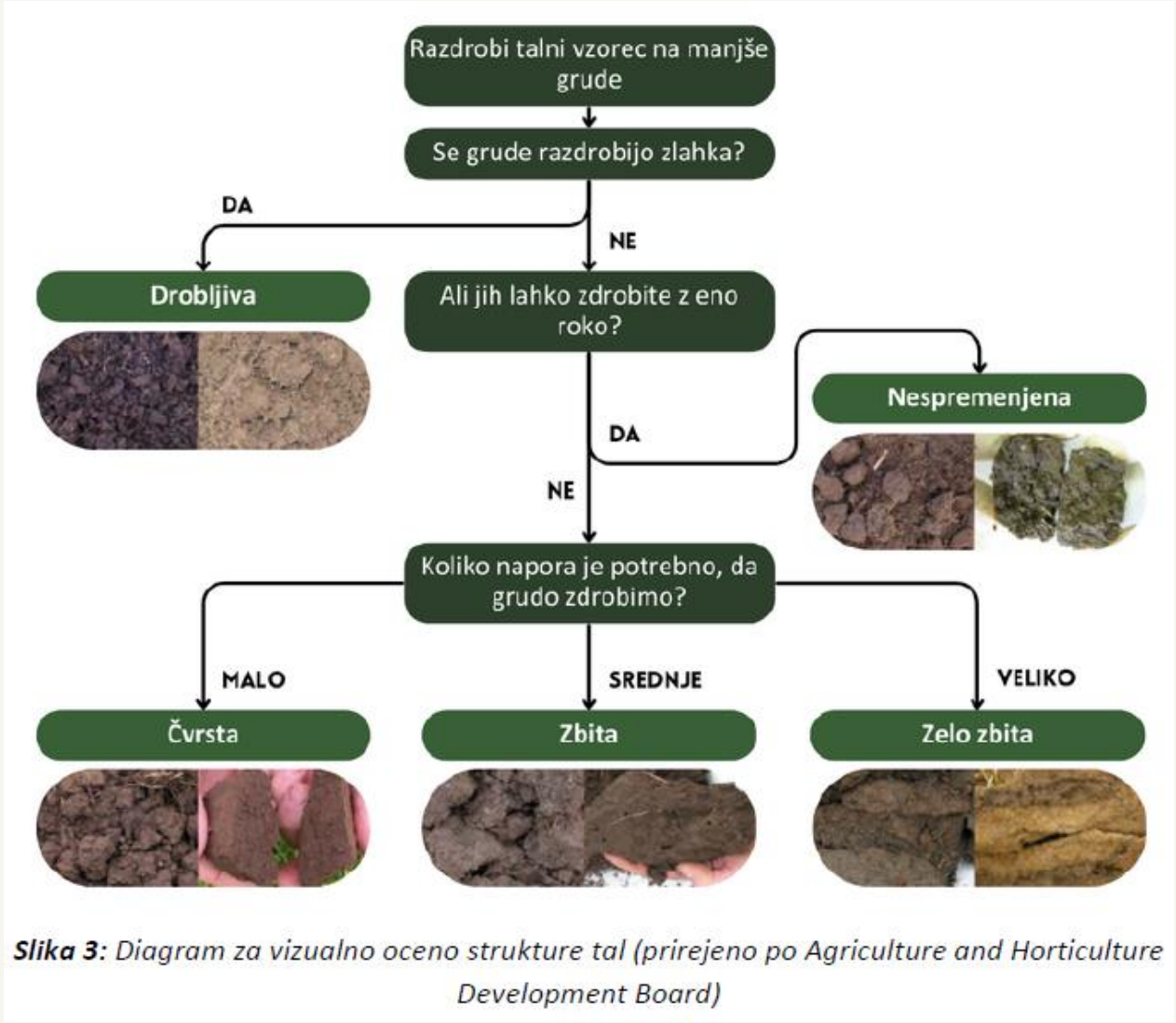
2. Priprava vzorcev prsti



Slika 2: Kopanje

- Nadenite rokavice, še preden začnete kopati in vzemati vzorce prsti (kontaminacija!).
- Odstranite vegetacijski pokrov, smeti, korenine, kamne
- Uporabite lopatko za izkop jame (globina 30 cm) in meritve (30x30x30).
- pustite izkopano zemljo na strani luknje

On-site indikatorji: struktura prsti, fauna in onesnaževala

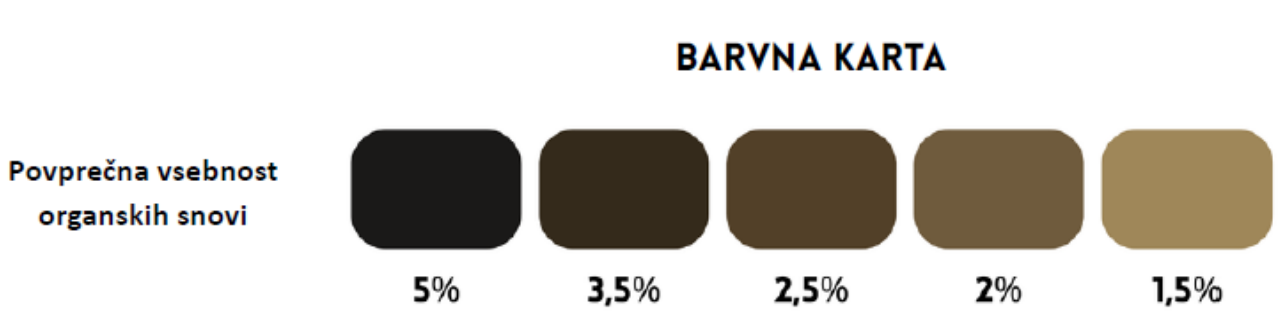


Slika 3: *Diagram za vizualno oceno strukture tal (prirejeno po Agriculture and Horticulture Development Board)*

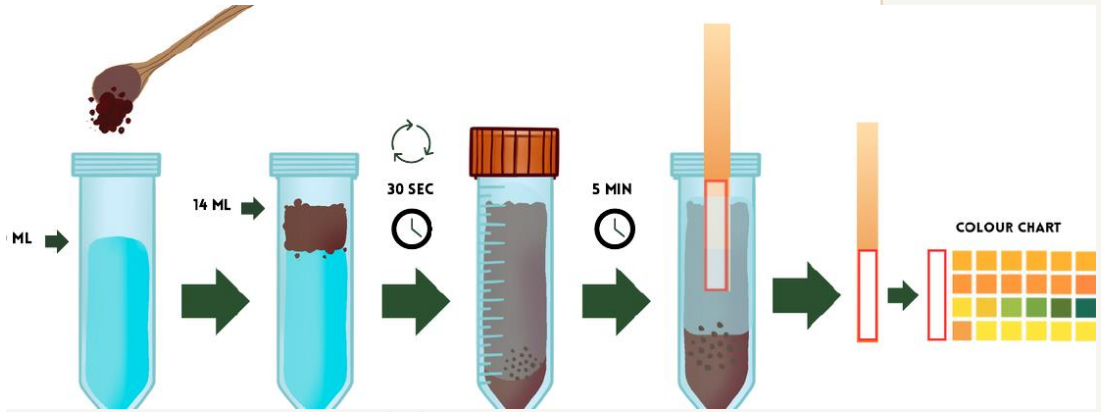
- Vzami eno pest prsti, in razlomi v manjše agregate
- glede na shemo strukture, določi kakšna je
- preštej deževnike, in dodaj v opombe ali opazite še kakšne druge organizme (polži, mravlje, hrošči, krti, ostalo).
- Preglej luknjo, in označi polutante, ki jih najdeš (npr. ostanke kovine, plastike, ostalo).

Record each observation immediately in the ECHO app!!!

In-site indikatorji: vrednotenje org anskeg a materiala, teksture tal in p H

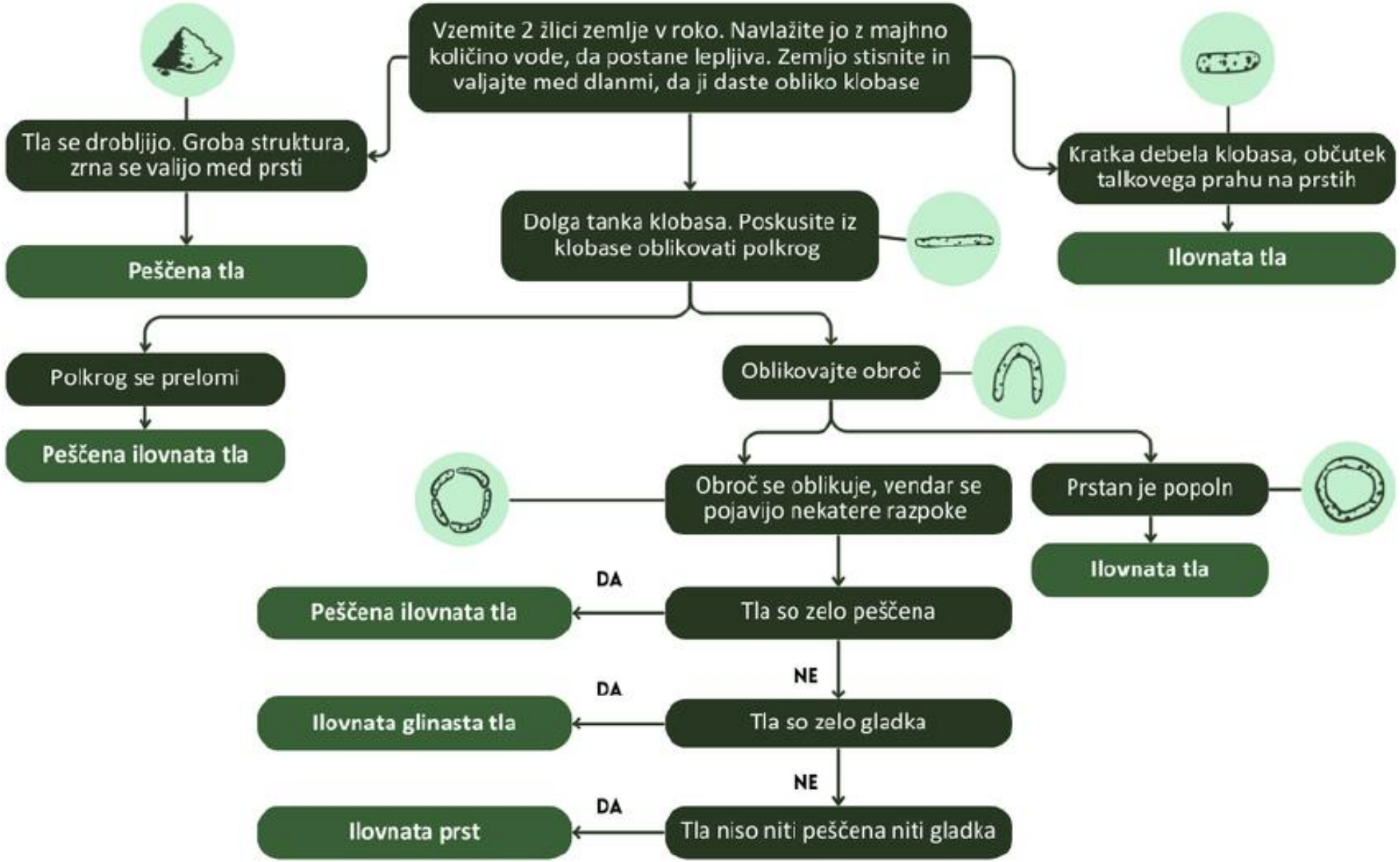


Slika 4: Barvna lestvica za ocenjevanje vsebnosti organskih snovi v tleh



pH paper-strip method

- Primerjaj barvo prsti z barvno lestvico ECHO ➔ vrednotenje organskega materiala
- Določanje teksture: odstani korenine, rastline, zmešaj dobro prst, malo jo navlaži z vodo, in sledi shemi za določanje teksture
- Za pH, dopolni vzorce prsti do oznake 14 mL, mešaj 30 s, počakaj 5 min, namoči Ph listič za 30 s in določi pH.


Vzemite 2 žlici zemlje v roko. Navlažite jo z majhno količino vode, da postane lepljiva. Zemljo stisnite in valjajte med dlanmi, da ji daste obliko klobase
Tla se drobljijo. Groba struktura, zrna se valijo med prsti
Peščena tla
Dolga tanka klobasa. Poskusite iz klobase oblikovati polkrog
Kratka debela klobasa, občutek talkovega prahu na prstih
Ilovnata tla
Polkrog se prelomi
Peščena ilovnata tla
Oblikovajte obroč
Obroč se oblikuje, vendar se pojavijo nekatere razpoke
Prstan je popoln
Ilovnata tla
DA
Peščena ilovnata tla
Tla so zelo peščena
NE
DA
Ilovnata glinasta tla
Tla so zelo gladka
NE
DA
Ilovnata prst
Tla niso niti peščena niti gladka

ECHO off-site sample: soil biodiversity



Slika 8: *Postopek odvzema talnega vzorca za oceno težkih kovin in hranil okolice lokacije proučevanja*

1. **POMEMBEN ECHO:**

obdrži rokavice in vzami vzorce prsti z leseno žličko.

• Vzorce prsti daj v **5 mL tubico, ki vsebuje prezervacijsko tekočino ➔ analize biodiverzitete (bakterije, glive)**

• Zapri in mešaj 15 s

2. POMEMBEN ECHO VZOREC:

• Z leseno žličko dodaj 6 velikih žlic v vrečko kjer je bil Ph, dobro zapri zip vrečko ➔ analize težklih kovin v tleh

Purpose: DNA-based laboratory analysis of bacteria and fungi + heavy metals

UP FAMNIT duplikati vzorcev: povezava s proučevanjem biodiverzitete ritin (nevretenčarji, vretenčarji, rastline, glive)



site_id	lovisce	lokacija	lat_2	long_2	Date of sampling	Sample provider	DEPTH (max)	ECHO ID of sample that u take in same location – written on ECHO bag
SOIL_011	Rižana	Kubed						
SOIL_011_non								
SOIL_012	Rižana	Kubed						
SOIL_012_non								
SOIL_013	Rižana	Kubed						
SOIL_013_non								
SOIL_014	Rižana	Kubed						
SOIL_014_non								
SOIL_015	Rižana	Kubed						
SOIL_015_non								
SOIL_021	Žabnik-Obrov	Brezovo Brdo ob gozdu pri njivi						

- Vzami iste vzorce z istih lokacij kot ECHO sample.
- Zamenjaj rokavice za vsak novi vzorec.
- Vzame se duplikate za UP FAMNIT: rooting + non-rooting.
- Vzorce shrani takoj v stiroporno škatlo z ledom.

Dopolni tabelo vzorčenja (natančne 6-mesečne koordinate + ECHO ID vzorca, da imamo povezavo z ECHO analizami).

- vzorce daš v pravilno označene ZIP vrečke (z istega večjega območja obe vrečki položiš v večjo).

Data entry and field sheet

site_id	hunting area	location	lat / long	date	provider	depth	ECHO ID
SOIL_011	Rižana	Kubed	45.517 / 13.881	08 Oct	name	30 cm	QR code
SOIL_011_non	Rižana	Kubed	nearby ≥50 m	08 Oct	name	30 cm	QR code
SOIL_011_UP	UP duplicate	rooting	same site	08 Oct	name	30 cm	ECHO pair

- Enter ECHO app data during fieldwork, not later.
- Immediately complete the UP FAMNIT field sheet: date, provider, depth and paired ECHO ID.
- The paired ECHO ID is essential to connect ECHO laboratory data with UP duplicate samples.

Quick field checklist

Use before leaving each site

1. Paired location confirmed: rooting + non-rooting ≥50 m apart
2. ECHO app completed: GPS, photos, indicators, comments
3. ECHO biodiversity tube filled to 5 mL, shaken 15 s, in QR bag
4. ECHO metals/nutrients soil bag filled with ~6 spoonfuls, in QR bag
5. UP rooting and non-rooting bags separately labelled and cooled
6. Field sheet completed, including paired ECHO ID
7. Tools/gloves contamination risk controlled
8. All bags sealed and chain-of-custody/storage plan confirmed

Rule of thumb: correct label + clean handling + immediate data entry are as important as the soil itself.

DOMAČA NALOGA PRED TERENOM:

1. **Preberi navodila ECHO** in si naloži **aplikacijo ECHO**: https://echosoil.eu/
2. **Izpolni anketo ECHO pred terenom kot Citizen Scientists**, da boste lahko vnašali:
3. **Preglej si ECHO vide-e o vzorčenju**, da boste lažje sledili: https://echosoil.eu/for-participants
4. Preberi si celotna UP navodila, pripravljena za teren

