



Metode u ekotoksikološkim istraživanjima na nivou životnih zajednica i ekosistema.

Izvode se u strogo kontrolisanim, standardizovanim laboratorijskim uslovima, uvijek se testiraju različite vrste pojedinačno.

—zajedničko

Glavni princip ekotoksikologije je da se zaštite ne individue, već populacije, zajednice i ekosistemi u životnoj sredini.



Ekotoksikološki ishodi se mogu povezati sa štetnim efektima na nivou populacije i na višim nivoima.

A photograph of a family of four sitting in a field of tall grass at sunset. The father is on the left, wearing a brown jacket, hugging a young child with curly blonde hair. The mother is on the right, wearing a light-colored top, with her back to the camera. A young girl with blonde hair, wearing a yellow shirt and blue overalls, is sitting in the middle, looking towards the camera with a smile. The background is a soft, golden glow from the setting sun, creating a warm and intimate atmosphere.

Metode populacione ekotoksikologije

Populaciju čine organizmi
iste vrste koji žive na istom prostoru.



Zajednička svojstva

Sličan genotip, fenotip,
razmnožavanje, isti način prehrane,
slično ponašanje.



Bitne osobine

Gustina (veličina), prostorni raspored,
natalitet, mortalitet, uzrasna
struktura, rast.

Ekstrapolacija toksičnih efekata sa jedinki na populacije komplikovana je iz više razloga:

1. Teško je utvrditi koji su procesi na jednom nivou biološke hijerarhije važni na susjednom, višem ili nižem nivou.
2. Efekti ksenobiotika su raznovrsni.
3. Osjetljivost individua na ksenobiotike drastično varira od jednog do drugog stadijuma životnog ciklusa.

Indikatori toksičnosti

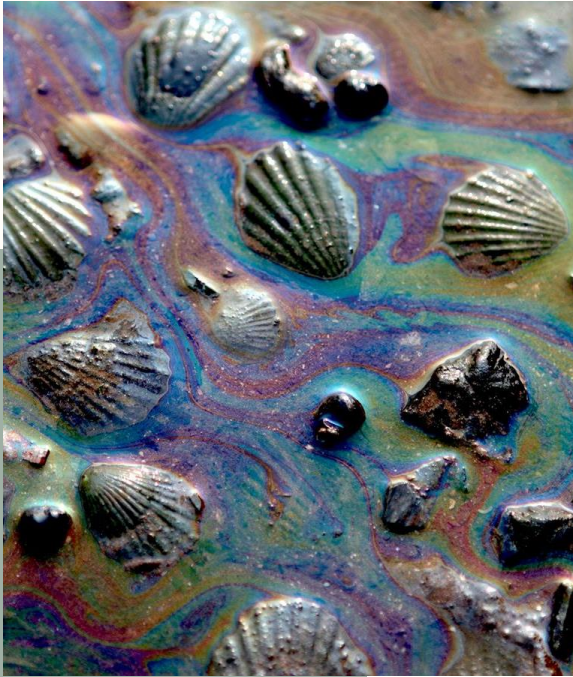


Ekotoksikološki uticaj na nivou populacije:

- Vrste koje su najviše osjetljive biće uništene prije drugih.
- Populacija koja je otporna može da raste još i više jer usled eliminacije osjetljivih vrsta ostaje više resursa za njih.

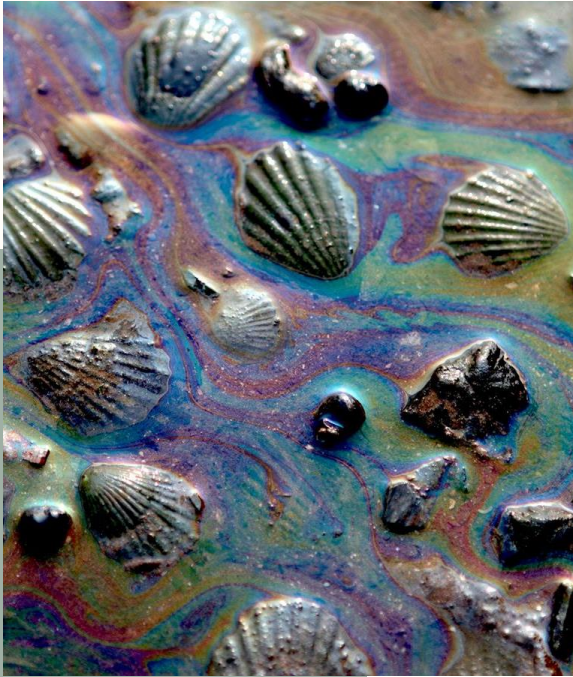
Odsustvo ili obilje određene vrste obično ukazuje na nivo toksikanta u životnoj sredini – indikatori toksičnosti.

Indikatori toksičnosti



Prisustvo nafte u sezoni kada se mlade školjke pridružuju odrasloj populaciji može dovesti do smanjenja broja novih odraslih jedinki školjki i dovesti do smanjenja populacije u narednim godinama.

Indikatori toksičnosti



Povećanje stope mortaliteta predstavlja neprihvatljiv rizik. Važno je procijeniti kako toksični stres utiče na različite starosne kategorije i životne stadijume. Važno je i procijeniti efikasnost oporavka pogođenih populacija.



Bioindikator

Bioindikator: organizam, dio organizma ili zajednica organizama koji sadrže informacije o kvalitetu životne sredine.

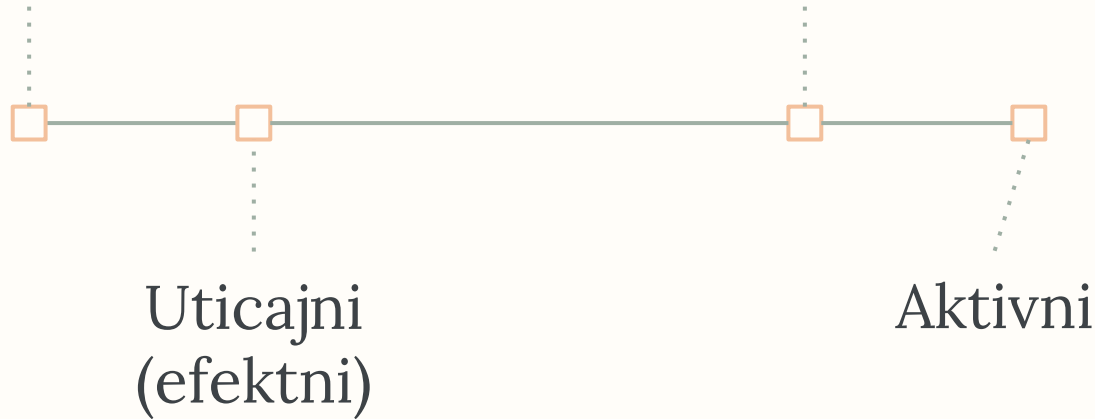


Biomonitor: sadrži informacije i o kvantitativnim aspektima kvaliteta životne sredine.

Bioindikatori

Akumulacioni

Pasivni





Vrste organizana koji se koriste kao bioindikatori



Alge

Pokazuju stanje u životnoj sredini tokom dužih vremenskih perioda.



Morska trava

Akumulira teške metale, ugljovodonike, pesticide, PCB-ove iz vode



Morska salata

Pojavljuje se na mjestima gdje je more onečišćeno.

Vrste organizana koji se koriste kao bioindikatori



Jadranski bračić

Fucus virsoides

Smeđa alga. To je endemska vrsta raširena samo u Jadranu. Ima sluzavo tijelo koje ga štiti od isušivanja u vrijeme oseke. Živi samo u bistrom i čistome moru pa je prirodni pokazatelj čistoće mora.

Vrste organizana koji se koriste kao bioindikatori



Mahovine

Akumulacioni bioindikatori toksičnih metala. Kod nekih mahovina je moguće prepoznati i odvojiti godišnji prirast. Ovo olakšava određivanje starosti i vremena izloženosti dijela koji koristimo za monitoring.

Vrste organizana koji se koriste kao bioindikatori



Lišajevi

Nestanak lišajeva u šumama može ukazivati na „stresove“ u životnoj sredini, kao što su visok nivo sumpor-dioksida i azota. Jako su osjetljivi bioindikatori i reaguju na jedva primjetne promjene kvaliteta vazduha.

Vrste organizana koji se koriste kao bioindikatori



Standardizovane biljke

Biljke usvajaju toksične metale, ne samo one koji su im neophodni za opstanak, kao što su Co, Cu, Fe, Ni i Zn već i one koji ne spadaju u esencijalne za njihov rast, poput Al, Cd, Pb.

Vrste organizana koji se koriste kao bioindikatori



Viola arvensis



Urtica dioica



Urtica urens

Vrste organizana koji se koriste kao bioindikatori



Thlaspi caerulescens

Dok najveći broj biljki pokazuje simptome toksičnosti pri koncentraciji Zn od oko 100 ppm, ova biljka akumulira Zn u koncentraciji od 26 000 ppm bez ikakvih oštećenja.

Vrste organizana koji se koriste kao bioindikatori



Vrste organizana koji se koriste kao bioindikatori



Tubifex

Bioindikator najzagađenijih voda.



Vrste organizana koji se koriste kao bioindikatori



Životinjski bioindikatori

Manje pogodni zbog dinamike kretanje



Biljni bioindikatori

Pogodnije, pričvrćene su i u svom organizmu mogu da akumuliraju toksine.



Crna Gora

Ministarstvo ekologije, prostornog planiranja i urbanizma

Agencija za zaštitu životne sredine

REZIME

Informacije o stanju životne sredine u Crnoj
Gori za 2023. godinu



Praćenje stanja životne sredine (u daljem tekstu: monitoring) se sprovodi sistematskim mjerenjem, ispitivanjem kvantitativnih i kvalitativnih pokazatelja stanja životne sredine koje obuhvata praćenje prirodnih faktora, odnosno promjena stanja i karakteristika životne sredine, uključujući i prekogranično praćenje stanja životne sredine.

Monitoring se vrši na osnovu godišnjeg Programa monitoringa koji priprema Agencija za zaštitu životne sredine i dostavlja ga Ministarstvu ekologije, održivog razvoja i razvoja sjevera najkasnije do 1. novembra tekuće godine za narednu godinu, osim Programa monitoringa kvaliteta voda koji predlaže Ministarstvo poljoprivrede i ruralnog razvoja, koji u skladu sa Zakonom o vodama („Sl. list RCG“, br. 027/07 i „Sl. list CG“, br. 073/10, 032/11, 047/11, 048/15, 052/16, 055/16, 02/17), a realizuje ga Zavod za hidrometeorologiju i seizmologiju Crne Gore. Program monitoringa kvaliteta voda za piće sprovodi organ uprave nadležan za poslove zdravlja na osnovu Zakona o životnoj sredini („Sl. list CG“, br. 52/16, 073/19, 84/24), u skladu sa posebnim propisima. Godišnji Program monitoringa donosi Vlada.

Program praćenja bioloških indikatora i biomarkera

Kvalitet vodenih ekosistema je ugrožen mnogim hemijskim agensima, kao i globalnim klimatskim promjenama. Za procjenu uticaja negativnih činilaca na vodeni ekosistem biološki indikatori i biomarkeri su se pokazali kao dobri alati koji zajedno sa hemijskim analizama, mogu dati precizniji i tačniji odgovor na stanje ekosistema.

Školjke su filtratorski organizmi. Pošto filtriraju velike količine vode, mogu unijeti različite zagađivače u svoje tijelo. Svako jedinjenje ima drugačiji put razgradnje. Neki ulaze u metaboličke puteve organizma pri čemu se razgrađuju pa se u obliku drugih jedinjenja ili molekula akumuliraju u tkivima. Neki od zagađivača akutno utiču na enzimske aktivnosti ili na genetički materijal, a neki se akumuliraju u tkivima školjki i djeluju hronično. Zato su školjke dobri bioindikatora za praćenje kvaliteta vodenih ekosistema. U mnogim laboratorijskim analizama (biotestovima) školjke se primjenjuju za praćenje ekološkog i ekotoksikološkog stanja morskih ekosistema. Uticaj zagađenja na ciljane organizme je dobar i provjereni pokazatelj kvaliteta morske vode i uključen je u okviru Direktive o morskoj strategiji (2008/56/ES).

Područje ispitivanja i uzorkovanja dagnji (*Mytillus galoprovincialis*) vršeno je u aprilu 2023. godine na tri lokacije u Bokokotorskom zalivu i to na lokacijama Luka Risan, Orahovac-Ljuta i IBM Dobrota i na jednoj van zalivskoj lokaciji, Luka Bar. Luka Risan, smatra se da je pod velikim uticajem slatke vode–vrela Sopot i Morinj, usled povećanog dotoka organske materije podložan je eutrofikaciji. Sa svakog lokaliteta prikupljeno je po 40-50 školjki prosječne veličine (dužine) 50-70 mm sa dubine od približno 0,5 m. Izuzetak su bili uzorci iz Luke Bar, čije su veličine školjke bile izuzetno male i u ne najboljem kondicijskom stanju zbog čega je testiranje bilo otežano. Uzorci su u morskoj vodi u buradima uz aeraciju transportovani u Laboratoriju za fiziologiju, Studijskog programa Biologija, PMF-a gdje je vršeno eksperimentalno određivanje biomarkera: aktivnost acetilholinesteraze u škrgama, oštećenje genetičkog materijala u hemocitima školjki (*Mytillus galoprovincialis*) pomoću mikronukleus testa.

Mikronukleus test (MN) je jedan od najpopularnijih i najperspektivnijih ekotoksikoloških testova, koji predstavlja citogenetski pokazatelj oštećenja DNK u ćelijama koje se dijele. Utvrđivanje različitih nivoa oštećenja DNK je od ključnog značaja za utvrđivanje opšteg zdravlja organizama, odnosno populacija, zato se ovi biomarkeri genotoksičnosti sve češće koriste u biomonitoringu voda. Njihova upotreba omogućuje rano otkrivanje ("early warning") genotoksičnog djelovanja zagađenja (prije svega uticaja policikličnih aromatskih ugljovodonika, metala i organohlornih i organofosfornih jedinjenja) prije nego što se takvo negativno djelovanje utvrdi na nivou biocenoze i ekosistema (Bolognesi i Degen, 2001). Oštećenja DNK organizama moguće je otkriti mnogim molekularno-citogenetičkim metodama od kojih se komet-test i mikronukleus-test izdvajaju kao jedne od najpogodnijih (Klobučar i sar., 2003). Mikronukleus na lokaciji Luka Risan iznosio je 2.1 ‰, Orahovac 1.45 ‰, Dobrota 2.55 ‰. Prema nekim studijama mikronukleus se javlja i u nerizičnim sredinama i zavisen je i od temperature. Tako na nezagađenim lokacijama duž

Biodiverzitet

Istraživanje biodiverziteta u 2023. godini obuhvatalo je analizu livada posidonije, zajednice fitofilnih algi i *Cystoseira spp*, koraligene zajednice, strane/invazivne vrste i zooplankton.

Livade *Posidonia oceanica*

Morska trava *Posidonia oceanica* (L.) Del. je zaštićena vrsta u Sredozemnom moru kako po nacionalnoj tako i po međunarodnoj legislativi (Službeni list 76/06, Habitat Direktiva 92/43/EU). Terenska istraživanja ove vrste sprovedena su tokom ljeta 2023. godine u cilju sakupljanja podataka o stanju livada morske trave *Posidonia oceanica*. Za praćenje karakteristika livada morske trave posidonije (*Posidonia oceanica*) kao dobrog bioindikatora određene su 4 pozicije (rt Ratac, Budva, Trašte i Kotor (Sv. Stasija)). Pozicije za oblast istraživanja za sve 4 zone su prikazane na slici 1. Za monitoring se koristila izmijenjena POMI metoda (RAC/SPA - UNEP/MAP, 2014, Guala et al., 2017).

Po izmijenjenoj metodi POMI (RAC/SPA - UNEP/MAP, 2014) mjeri se gustina izdanaka po m² jer je to jedan od najviše korištenih parametara da bi se procijenilo stanje livade morske trave posidonije (Pergent-

Martini et al., 2005). Mjerenje gustine livade se radi u kvadratima 40 x 40 cm jer se to smatra najboljom površinom koja je prihvaćena kao standard na nivou Sredozemlja (Panayotidis et al., 1981). Na svakoj istraživanoj lokaciji i na svakoj mjerenoj dubini kvadrati se postavljaju nasumično, najmanje 1 m udaljeni jedan od drugog i trebalo bi mjeriti gustinu u 8 kvadrata. Prema gustini livade i dubini na kojoj se nalazi određuje se kategorija livade. Po klasifikaciji UNEP-RAC/SPA (2011) livadi može biti dodijeljena jedan od sledećih 5 kategorija: veoma dobra, dobra, srednja, slaba ili veoma slaba. Osim gustine livade treba mjeriti i pokrovnost koja pokazuje kolika je pokrovnost žive biljke u odnosu na podlogu koja je pjeskovita, stjenovita ili se sastoji od mrtvih rizoma posidonije (matte) (Buia et al., 2004). Prema ovom parametru takođe se određuje struktura i stanje livade (Bianchi et al., 2004; Pergent-Martini et al., 2005; Montefalcone, 2009). Pokrovnost se određuje korištenjem transeкта tzv. LIT (Line Intercept Transect). Transekti u dužini od 10 m se polože na morsko dno i zapisuje se dužina pokrovnosti i tip podloge. Na jednoj istraživanoj dubini mjere se 4 transeкта (LIT-a) koji su postavljeni dijagonalno, ali tako da razlika između dubina na krajnjim tačkama ne prelazi više od 3m. Procenat pokrovnosti na svakom transektu se izračunava prema sledećoj formuli:

$$R\% = \sum(Lx / 10 \times 100)$$

gdje je Lx dužina svakog nađenog tipa podloge.

Na osnovu pokrovnosti može da se izračuna i konzervacioni indeks (CI) (Moreno et al., 2001; Montefalcone et al., 2006) koji pokazuje stanje livade i odnos živih i mrtvih djelova livade.

Izračunava se prema sledećoj formuli:

$$CI = P / (P + D)$$

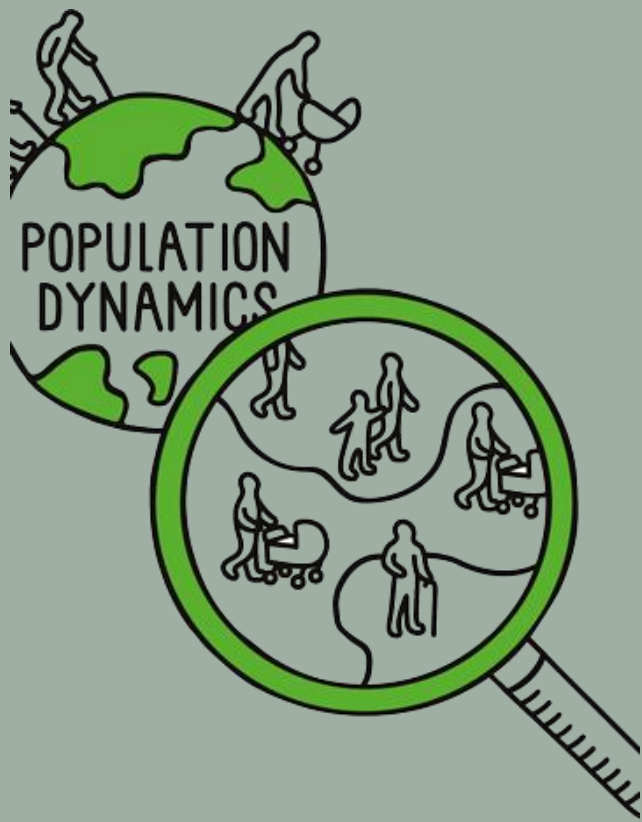
Gdje je P % pokrovnosti žive posidonije, a D je % pokrovnosti mrtvih rizoma.

Prema ovom indeksu livade se klasifikuju u 5 kategorija:

Prema ovom indeksu livade se klasifikuju u 5 kategorija:

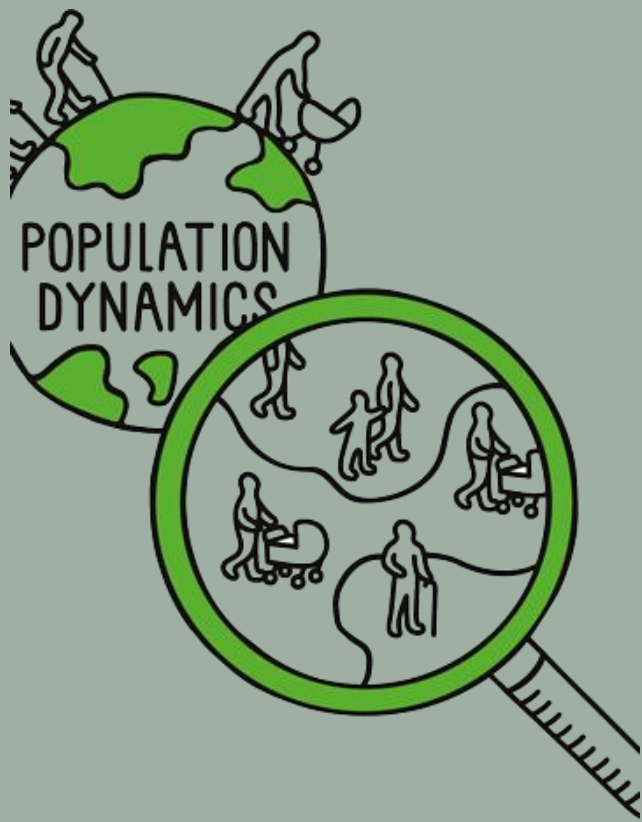
veoma dobro	dobro	srednje	slabo	veoma slabo
>0.9	0.7 - 0.9	0.5 – 0.7	0.3 – 0.5	< 0

Program praćenja bioloških indikatora i biomarkera	104
Pregled rezultata dobijenih primjenom NEAT metode za procjenu stanja morske sredine	105
Biodiverzitet	107
Livade <i>Posidonia oceanica</i>	107
Zajednica fitofilnih algi i <i>Cystoseira</i> spp.....	110
Koraligene zajednice	112
Strane/invazivne vrste	117
Zooplankton	124
Morski sisari i kornjače	126



Ksenobiotici i populaciona dinamika

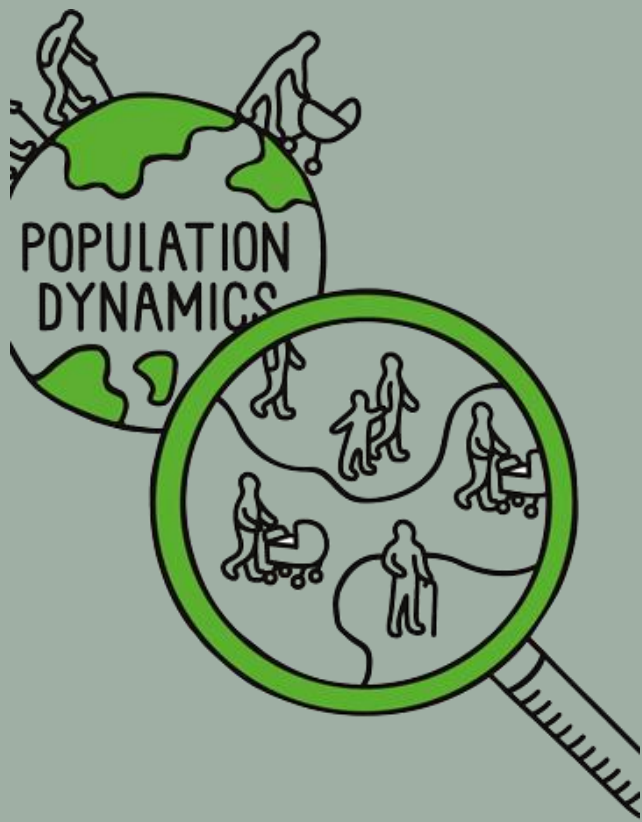
Promjene populacije u vremenu i prostoru čine tzv dinamiku populacije. Za određivanje efekta ksenobiotika na gustinu populacije koriste se metode populacione dinamike.



Ksenobiotici i populaciona dinamika

Stopa rasta populacije

(r)=porast brojnosti populacije u nekoj jedinici vremena prema ukupnom broju individua u populaciji.



Ksenobiotici i populaciona dinamika

Stopa rasta populacije $(r)=+$ ili $-$ ili 0

Da li toksikant dovodi do poremećaja dinamičke ravnoteže populacije, odnosno da li dovodi do pada brojnosti populacije ispod održivog kapaciteta?

Populaciona istraživanja

Gustina
populacije

Starosna
struktura



Biomasa

Cilj: procjena vjerovatnoće
izumiranje populacije u
definisanom vremenu

(ukupna) biomasa =
broj jedinki x težina jedinke

Koristi se za prikazivanje veličine populacije u slučajevima kada je brojanje jedinki teško, nepraktično, neizvodljivo



Izražava se težinski ili zapreminski

Ili u slučajevima kada se lako dolazi do podatka o ukupnoj težini ili zapremini, a brojanje jedinki je teško, nepraktično, neizvodljivo

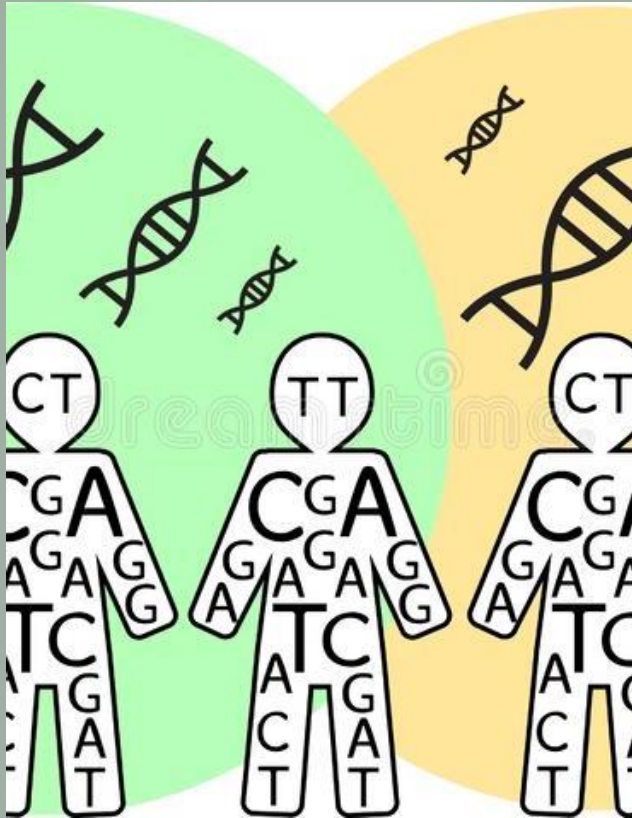
Promjenljivi uslovi životne sredine utiču na populacije



Demografska
stohastičnost



Prostorna
heterogenost



Ksenobiotici i populaciona genetika

Toksikanti mogu prouzrokovati promjenu u učestalosti genotipa i genskom fondu eliminisanjem određenih gena ili podsticanjem određenih otpornih gena.

Pojava rezistentnosti



toksikodinamički

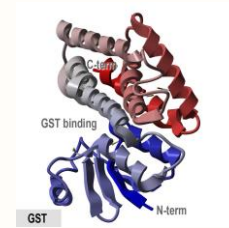
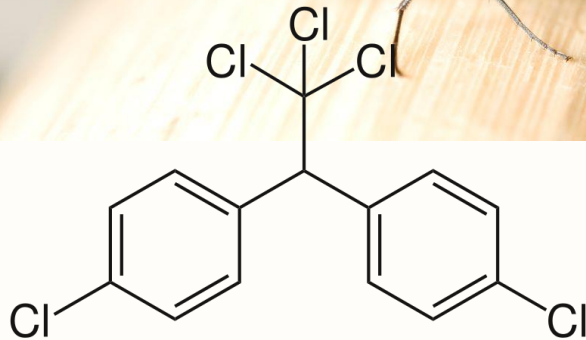
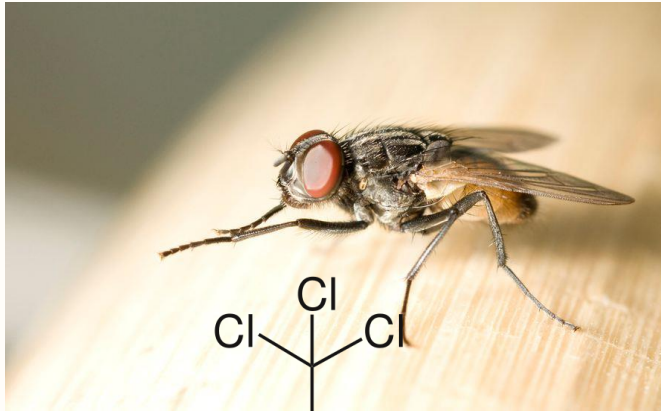
Promjena na ciljnom mjestu dejstva.



toksikokinetički

Promjena načina unosa, povećana metabolička aktivnost, povećanjem detoksikacije.

Pojava rezistentnosti

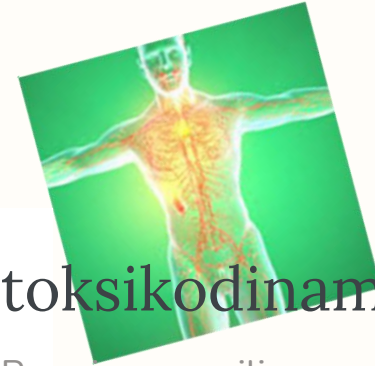
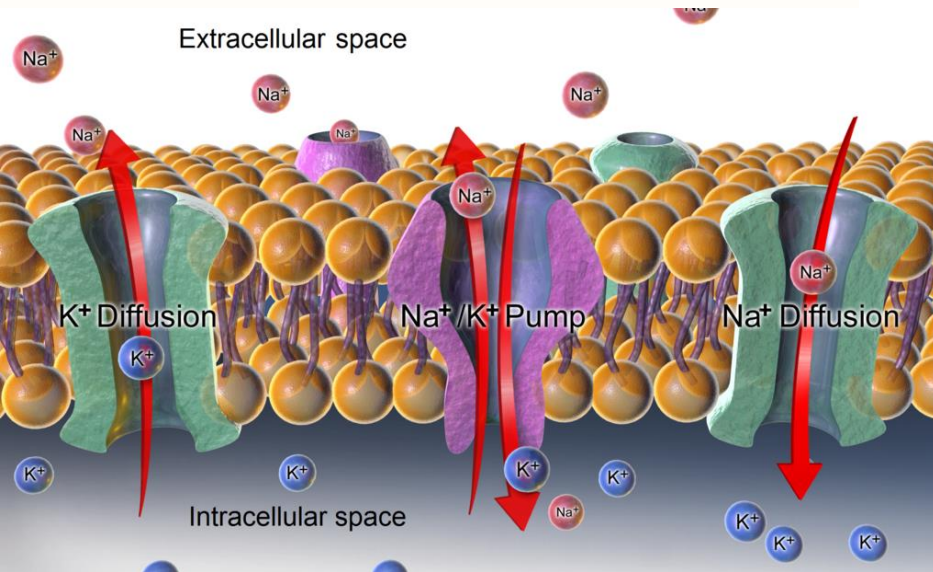


Povišen nivo GST,
DDT-dehidrochlorinaza
Dehidrochlorinacija organohlornih
insekticida

toksikokinetički

Promjena načina unosa,
povećana metabolička
aktivnost.

Pojava rezistentnosti

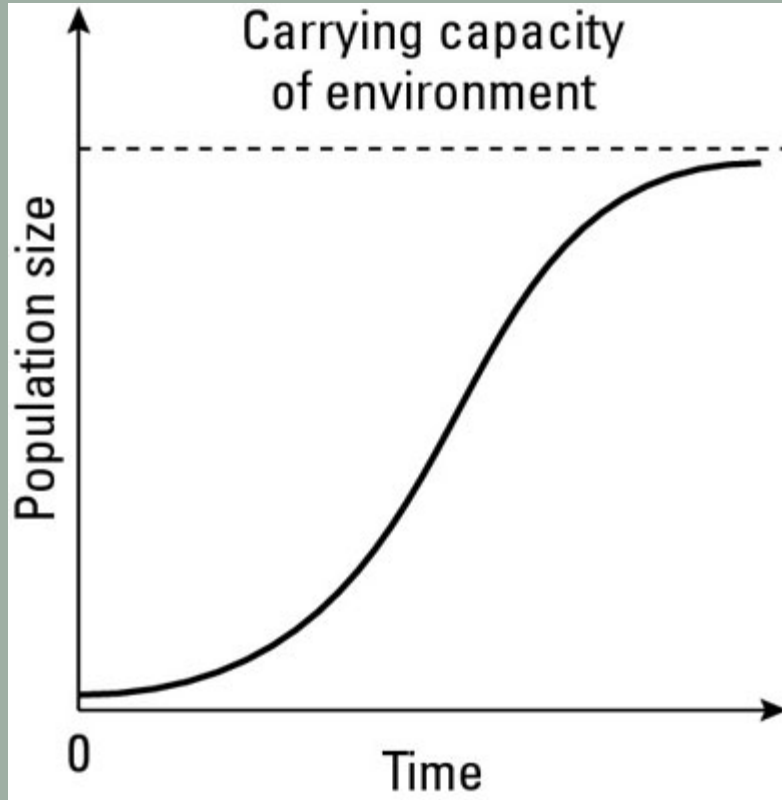


toksikodinamički

Promjena na ciljnom mjestu dejstva

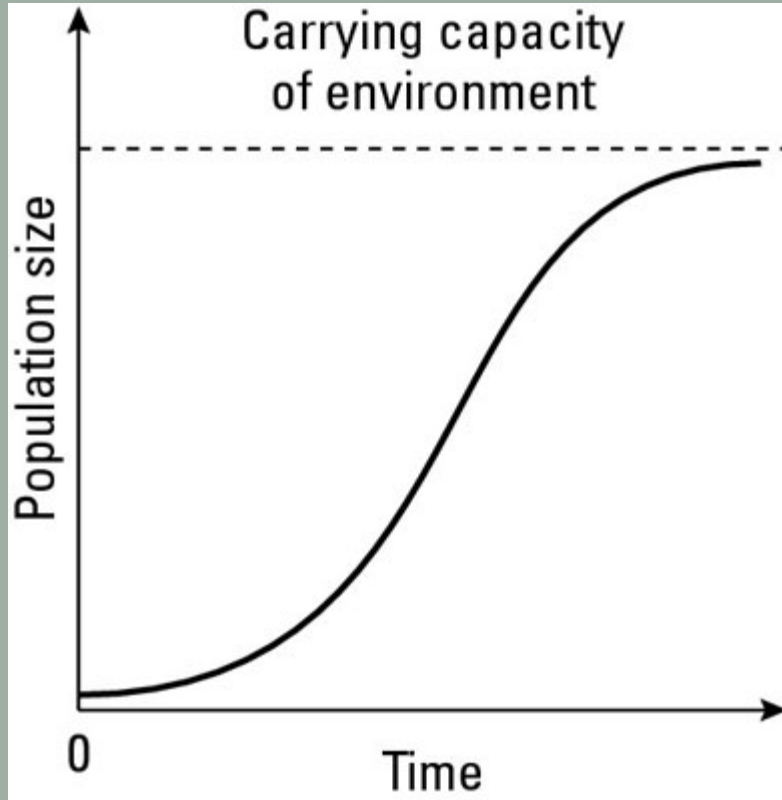


Zamjena jednog izoleucina fenilalaninom u K⁺ jonskom kanalu kod domaće muve, smanjuje efikasnost DDT-a.



Populaciono modelovanje u ekotoksikologiji

Modeli predstavljaju pojednostavljenu verziju stvarnih prirodnih sistema.



Populaciono modelovanje u ekotoksikologiji

Modelima se opisuju promjene u veličini populacije tokom vremena, a kao posledica preživljavanja i reprodukcije.

Primjena populacionih modela:

- Populacioni modeli pružaju kontekst za izučavanje populacione dinamike. Nakon validacije model se koristi za procjenu stabilnih populacionih parametara kao što su stopa rasta populacije, uzrasna struktura i dr.
- Populacioni modeli se mogu koristiti za procjenu efekta različitih ekoloških faktora na stope smrtnosti i reprodukcije. Izvode se matematičke reprodukcije ili kompjuterske simulacije.
- Populacioni modeli predstavljaju logičan način za sumiranje relevantnih informacija, notiranje nepoznanica i usmjeravanje daljnjeg istraživanja.
- Populacioni modeli su pogodni načini za integraciju informacija i predviđanje odgovora populacija. To je razlog zašto igraju važnu ulogu u donošenju upravljačkih odluka u oblasti zaštite životne sredine.

Basic model

01

Razvoj preliminarnog modela populacione dinamike svake pojedinačne izabrane vrste.

03

Validacija modela korišćenjem dodatnih empirijskih podataka.

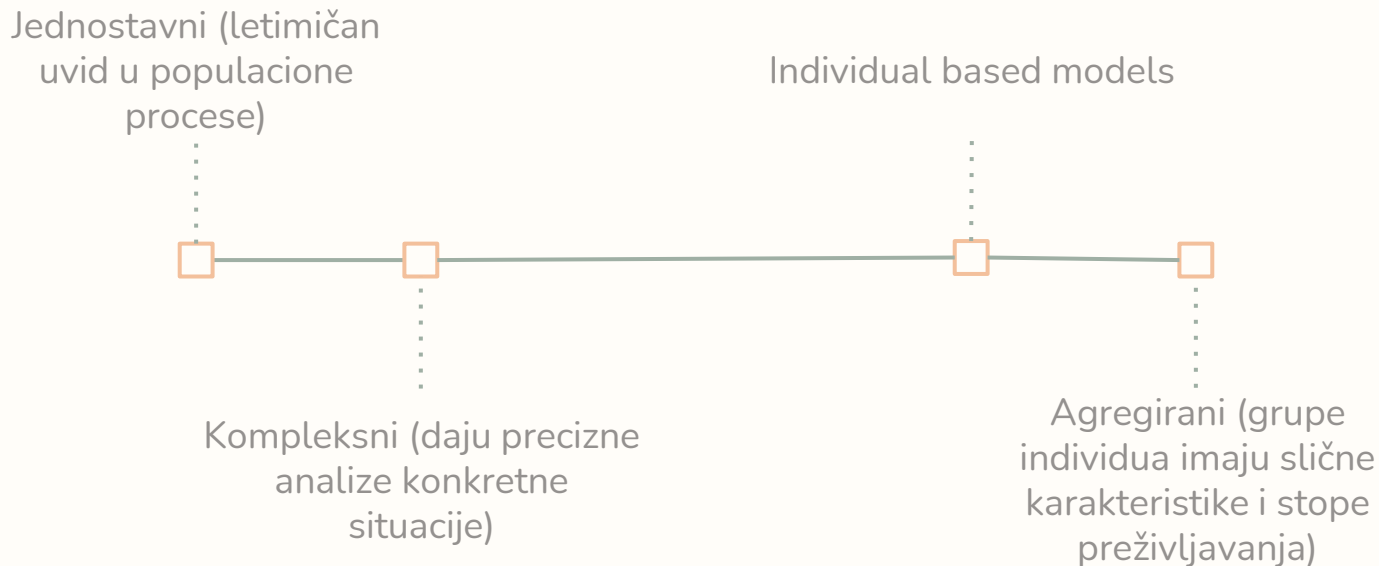
02

Modelovanje populacionih parametara.

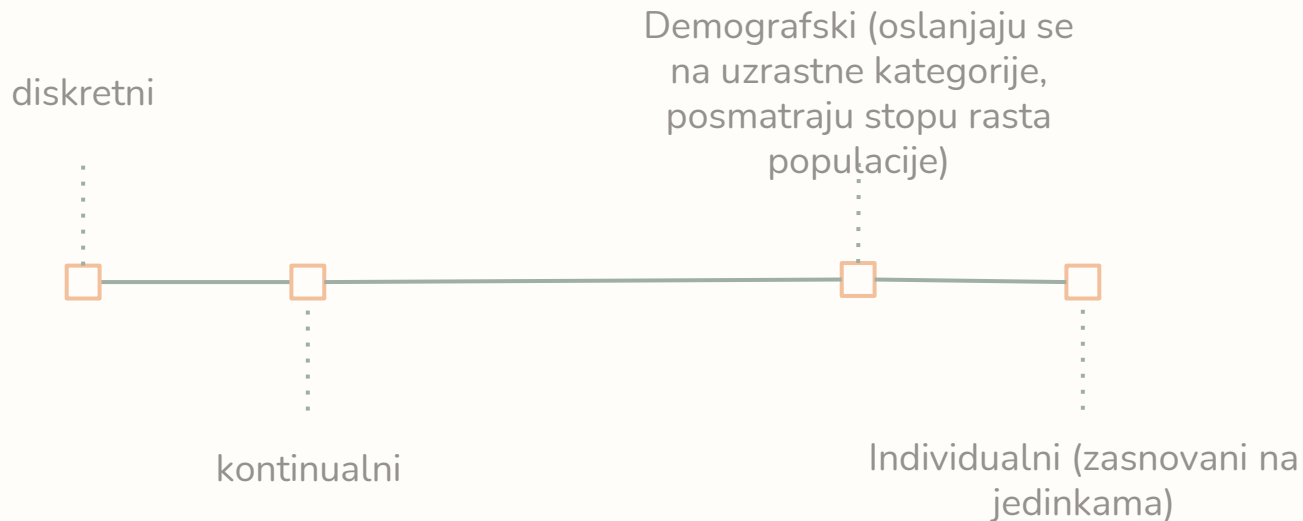
04

Procjena uticaja ksenobiotika na populacionu dinamiku određene vrste za koju je model razvijen.

Različiti tipovi modelovanja



Različiti tipovi modelovanja



Najveći problem modelovanja je nedostatak ekološki važnih informacija za mnoge vrste (osim za najčešće proučavane standardne test vrste).

nedostatak

Intrinzička stopa rasta populacije



Najjednostavniji model u populacionoj ekotoksikologiji za izračunavanje stope rasta populacije.

$$\sum_{x=1}^n e^{-rx} l_x m_x = 1$$

l_x - udio jedinki koje preživljavaju od jedne do druge starosne kategorije

m_x - prosječni broj potomaka jedinke određene starosti x

n – maksimalna moguća starost jedinke u populaciji

Intrinzička stopa rasta populacije



Određuje odnos između reprodukcije, mortaliteta, dužine života i rasta populacije.

$$\sum_{x=1}^n e^{-rx} l_x m_x = 1$$

l_x - udio jedinki koje preživljavaju od jedne do druge starosne kategorije

m_x - prosječni broj potomaka jedinke određene starosti x

n – maksimalna moguća starost jedinke u populaciji

Intrinzička stopa rasta populacije



$$\sum_{x=1}^n e^{-rx} l_x m_x = 1$$

**r – svojstvena (intrinzička) stopa rasta
populacije**

r < 1, brojnost populacije opada

r > 1, brojnost populacije raste

r = 0, brojnost populacije se ne mijenja

Intrinzička stopa rasta populacije



$$\sum_{x=1}^n e^{-rx} l_x m_x = 1$$

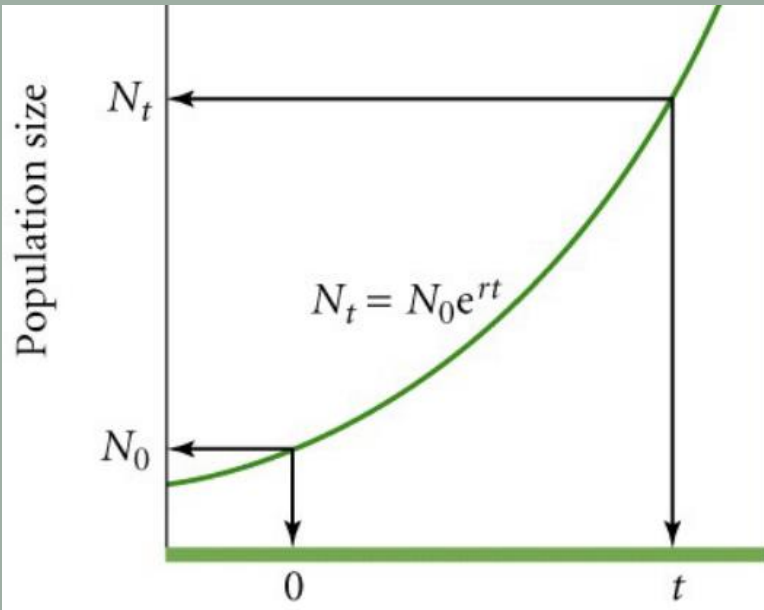
$$N_t = N_0 e^{rt}$$

$r = 0$, stanje dinamičke ravnoteže

Populacija u cjelini, kao i broj jedinki u svakoj starosnoj klasi raste ili opada eksponencijalno u funkciji vremena.

N_t veličina populacije u vremenu t

Intrinzička stopa rasta populacije



$$N_t = N_0 e^{rt}$$

Kriva eksponencijalnog rasta za populaciju koja raste stopom r od vremena 0 do vremena t . Tokom tog razdoblja broj jedinki u populaciji je porastao sa N_0 na N_t .

Eksponencijalni rast u prirodnim uslovima

Da li prirodne populacije ikada rastu eksponencijalno?

Da, ali to se događa samo kratkotrajno jer je eksponencijalni rast tako brz da populacije ne mogu dugo vremena rasti takvim tempom.

Šta možemo zaključiti o eksponencijalnim modelima rasta?

Prognoze koje ovi modeli daju mogu biti upotrebljive samo kroz vrlo kratko razdoblje. Stopa populacionog rasta nije proporcionalna broju jedinki.

Matriční modeli

Matrični modeli

- Moguće je identifikovati određene stadijume životnog ciklusa u kojima su efekti ksenobiotika najviše izraženi.
- Fleksibilni su, mogu biti prošireni bez daljeg usložnjavanja.
- Mogu biti prošireni (obuhvatiti specifične varijacije).
- Uspješno se kombinuju sa drugim tehnikama modeliranja.

Matrični modeli



Ekstrapolacija sa individualnih na populacione efekte. Individualni organizmi se:

- Rađaju
- Rastu
- Sazrijevaju
- Reprodukuju
- Umiru

Vitalne stope: stope rađanja, rasta, sazrijevanja, plodnosti i mortaliteta određene vjerovatnoćom da navedeni faktori zavise od sredine u kojoj se jedinka nalazi.

Matrični modeli



LTRE eksperimenti:

Izlaganje individua ili grupa individua povećanim dozama ksenobiotika tokom njihovog života.

Prate se dnevni mortalitet i reprodukcija i potom ti podaci koriste za izračunavanje **tablice preživljavanja.**

Intrinzička stopa rasta populacije



$$\sum^n e^{-rt} S_t n_t = 1$$

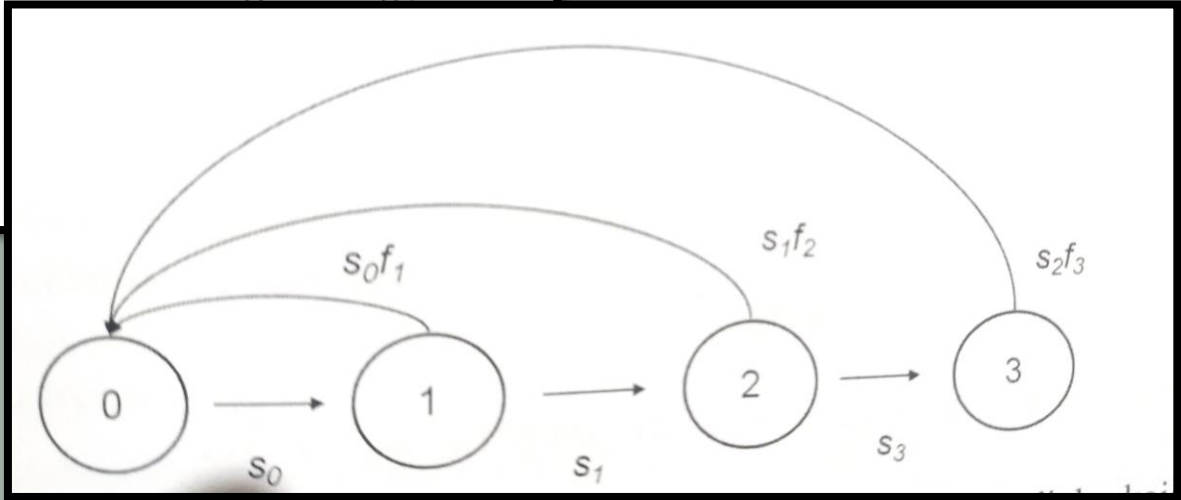
**r – svojstvena (intrinzička) stopa rasta
populacije**

S-vjerovatnoća preživljavanja,
n-rezultat reprodukcije

$$L = \begin{pmatrix} s_0 f_1 & s_1 f_2 & s_2 f_3 & \dots & s_{k-1} f_k & 0 \\ s_0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & s_1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & s_2 & \dots & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & \dots & s_k & 0 \end{pmatrix}$$

Leslijeva matrica

$$L = \begin{pmatrix} s_0 f_1 & s_1 f_2 & s_2 f_3 & \dots & s_{k-1} f_k & 0 \\ s_0 & 0 & 0 & & 0 & 0 \\ 0 & s_1 & 0 & & & \\ 0 & 0 & s_2 & & & \\ \dots & \dots & \dots & & & \\ 0 & 0 & 0 & & & \end{pmatrix}$$



Leslijeva matrica