

Περιβαλλοντική Τοξικολογία

Δημήτρης Καρπούζας



DEPARTMENT OF
**Biochemistry &
Biotechnology**
UNIVERSITY OF THESSALY

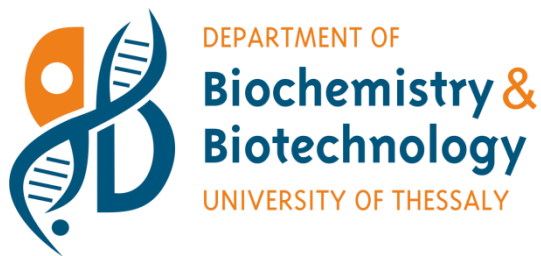


UNIVERSITY OF
THESSALY

Περιβαλλοντική Τοξικολογία

- *Εισαγωγή στην Περιβαλλοντική Τοξικολογία*
- *Μέθοδοι εκτίμησης της Τοξικότητας*
- *Διαδικασίες εκτίμησης της τοξικότητας γεωργικών φαρμάκων*
- *Μικροβιακή αποτοξικοποίηση οργανικών ρύπων*

Εισαγωγή στην Περιβαλλοντική Τοξικολογία



UNIVERSITY OF
THESSALY

Τοξικότητα

Το σύνολο των ανεπιθύμητων επιδράσεων μιας ξενοβιοτικής ουσίας σε οργανισμούς μη-στόχους **(υπάρχουν και τα γεωργικά φάρμακα!!!)**

Αναφέρεται σε όλους τους οργανισμούς και όχι μόνο στους ανώτερους

Η επιστήμη που εξετάζει τις τοξικές επιδράσεις ξενοβιοτικών ουσιών σε όλους τους οργανισμούς που διαβιούν στο περιβάλλον ονομάζεται **Οικοτοξικολογία (Ecotoxicology)** ή **Περιβαλλοντική Τοξικολογία (Environmental Toxicology)**

Κατηγορίες Τοξικότητας

- **Οξεία τοξικότητα (Acute toxicity)**
- **Χρόνια τοξικότητα (chronic toxicity)**

Οξεία Τοξικότητα

- Δυσμενείς επιδράσεις εμφανίζονται αμέσως μετά την επαφή του οργανισμού με μια μόνο δόση της ξеноβιοτικής ουσίας
- Είναι αναστρέψιμη
- Οφείλεται συνήθως στην αναστολή λειτουργίας ενός φυσιολογικού συστήματος του οργανισμού και μπορεί να προσδιορισθεί ποσοτικά (LD_{50} , LC_{50} , ED_{50} , EC_{50})

Οξεία Τοξικότητα

LD₅₀ (Lethal Dose): Η ποσότητα μιας ξενοβιοτικής ουσίας που μπορεί να θανατώσει το 50% ενός τυχαία επιλεγμένου πληθυσμού ενός συγκεκριμένου οργανισμού και εκφράζεται ως mg ουσίας/kg σωματικού βάρους του υπό εξέταση οργανισμού

Οξεία Τοξικότητα – LD₅₀

Πλεονεκτήματα:

Αφαιρεί τον παράγοντα σωματικό βάρος

Μειονεκτήματα:

1. Δεν λαμβάνει υπόψη την παραλακτικότητα μεταξύ ατόμων του ίδιου οργανισμού λόγω ηλικίας ή λόγω φύλλου
2. Παρέχει στοιχεία για πειραματικά κυρίως είδη και μόνο ενδείξεις τοξικότητας σε άνθρωπο και κτηνοτροφικά είδη

Λοιπές Παράμετροι Προσδιορισμού Οξείας Τοξικότητας

LC₅₀ (Lethal Concentration): Η συγκέντρωση μιας ξενοβιοτικής ουσίας στον περιβάλλοντα αέρα ή νερό που περιβάλλει τους οργανισμούς ικανή να προκαλέσει το θάνατο του 50% του πληθυσμού

Για μέτρηση τοξικότητας σε ψάρια ή οργανισμούς που έχουν εισπνεύσει ατμούς δηλητηρίων. Εξαρτάται από το χρονικό διάστημα επαφής της ουσίας με τον οργανισμό

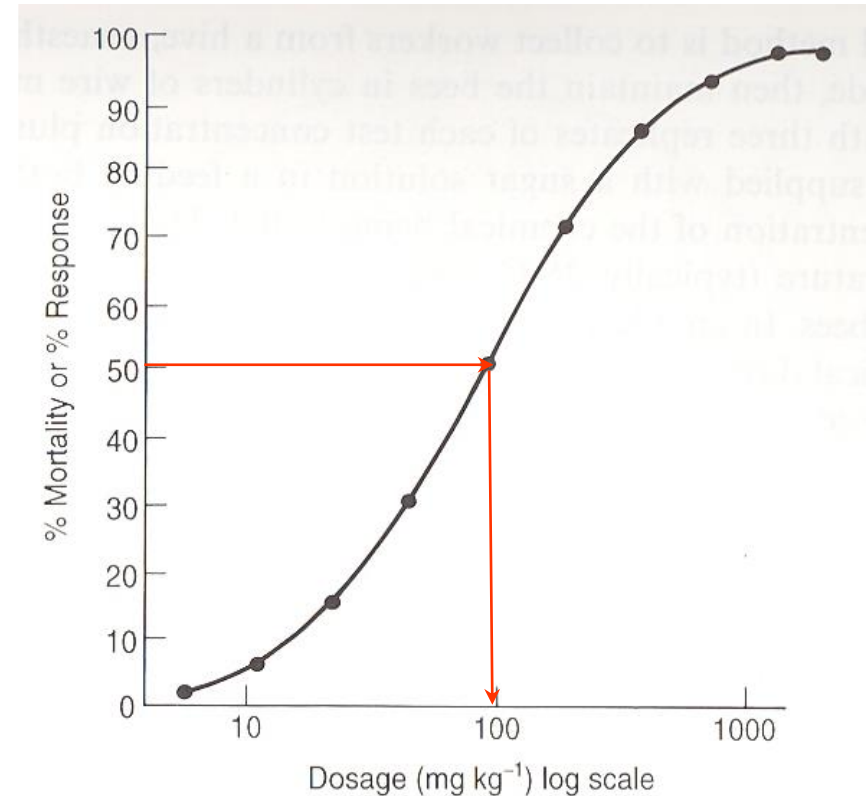
Λοιπές Παράμετροι Προσδιορισμού Οξείας Τοξικότητας

ED₅₀ ή EC₅₀ (Effective Dose): χρησιμοποιούνται όταν σαν κριτήριο τοξικότητας δεν λαμβάνεται ο θάνατος του οργανισμού αλλά άλλο αξιολογήσιμο στοιχείο από τον βιολογικό κύκλο του υπό εξέταση είδους **(Ποια?)**

- Αναστολή ανάπτυξης (άλγη, υδροχαρή φυτά)
- Ακινητοποίηση (*Daphnia magna*)
- Αδυναμία αναπαραγωγής (*Daphnia magna*)

Προσδιορισμός LD₅₀

Πληθυσμός του υπό εξέταση οργανισμού έρχεται σε επαφή με διαφορετικές συγκεντρώσεις της ουσίας και το ποσοστό των ατόμων που πεθαίνουν καταγράφεται και τα αποτελέσματα του παραπάνω πειράματος περιγράφονται από σιγμοειδή καμπύλη



Οξεία Τοξικότητα - Τιμές

$LD_{50} < 1 \text{ mg/kg}$

Πάρα πολύ τοξικές

$1 < LD_{50} < 50 \text{ mg/kg}$

Πολύ τοξικές

$50 < LD_{50} < 500 \text{ mg/kg}$

Μετρίως τοξικές

$500 < LD_{50} < 5000 \text{ mg/kg}$

Ελαφρώς τοξικές

Χρόνια Τοξικότητα

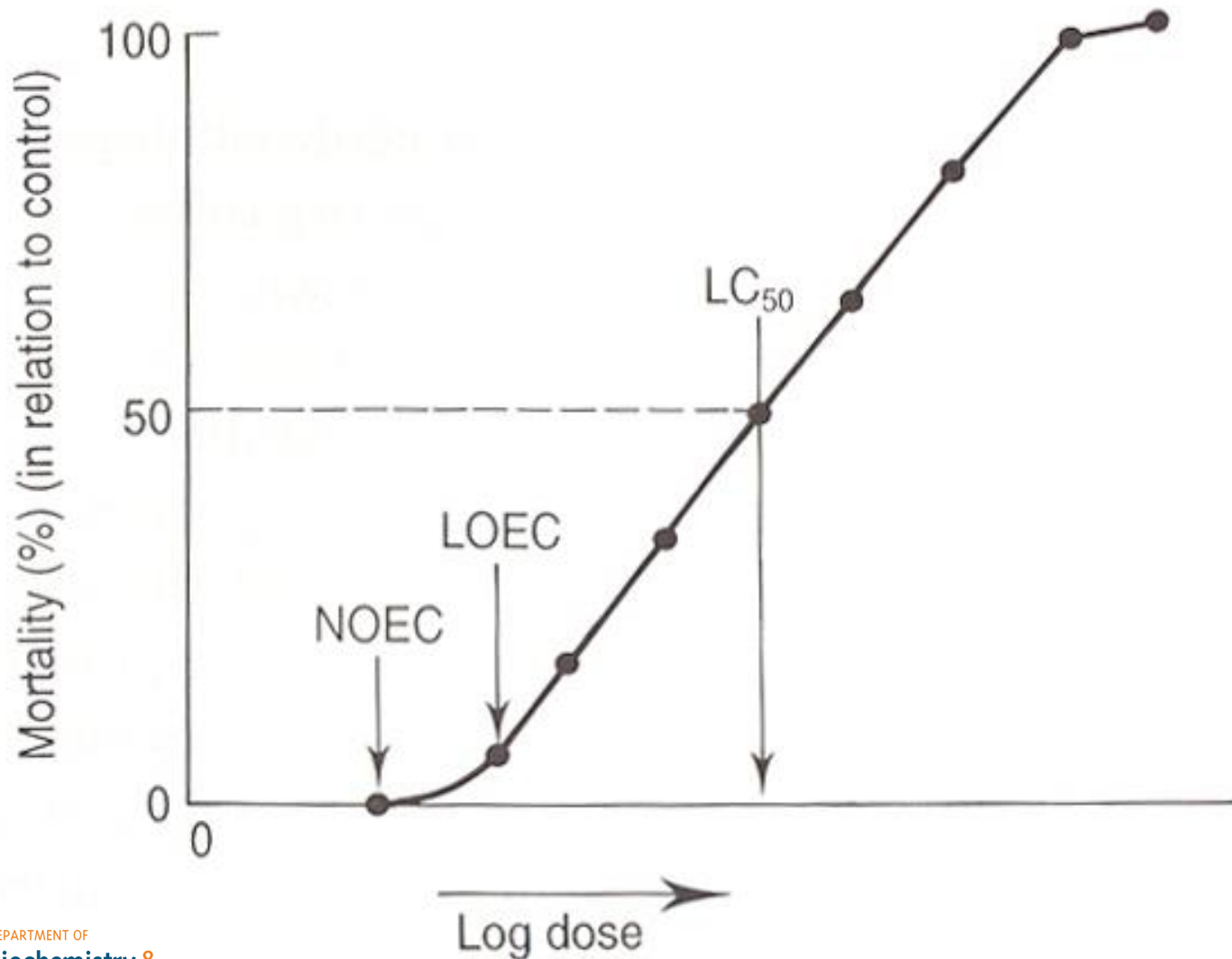
- Δυσμενείς επιδράσεις εμφανίζονται μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα ως αποτέλεσμα της επαναλαμβανόμενης επαφής ενός οργανισμού με μικρές και μη θανατηφόρες δόσεις μιας ξеноβιοτικής ουσίας
- Μη αναστρέψιμη
- Εμφανίζεται με την μορφή
 - **ορμονικών διαταραχών**
 - **καρκινογένεσης ή τερατογένεσης**
 - **μεταλλαξιγένεσης**

Προσδιορισμός Χρόνιας Τοξικότητας

Πληθυσμός ενός οργανισμού τρέφεται για χρονικό διάστημα με ποικιλία συγκεντρώσεων του φαρμάκου και η υψηλότερη δόση που δεν προκαλεί κανένα πρόβλημα στο υπό εξέταση είδος ονομάζεται **Non Observed Effect Concentration (NOEC mg/kg σωμ. βαρ./ημέρα)**

Η χαμηλότερη ημερήσια δόση που προκαλεί συμπτώματα τοξικότητας στο υπό εξέταση είδος ονομάζεται αντίστοιχα **Lowest Observed Effect Concentration (LOEC)**

Προσδιορισμός Χρόνιας Τοξικότητας



Μέθοδοι Εκτίμησης της Τοξικότητας Ουσιών στο Περιβάλλον

Σε τι επίπεδο προσδιορίζουμε την τοξικότητα μια ουσίας

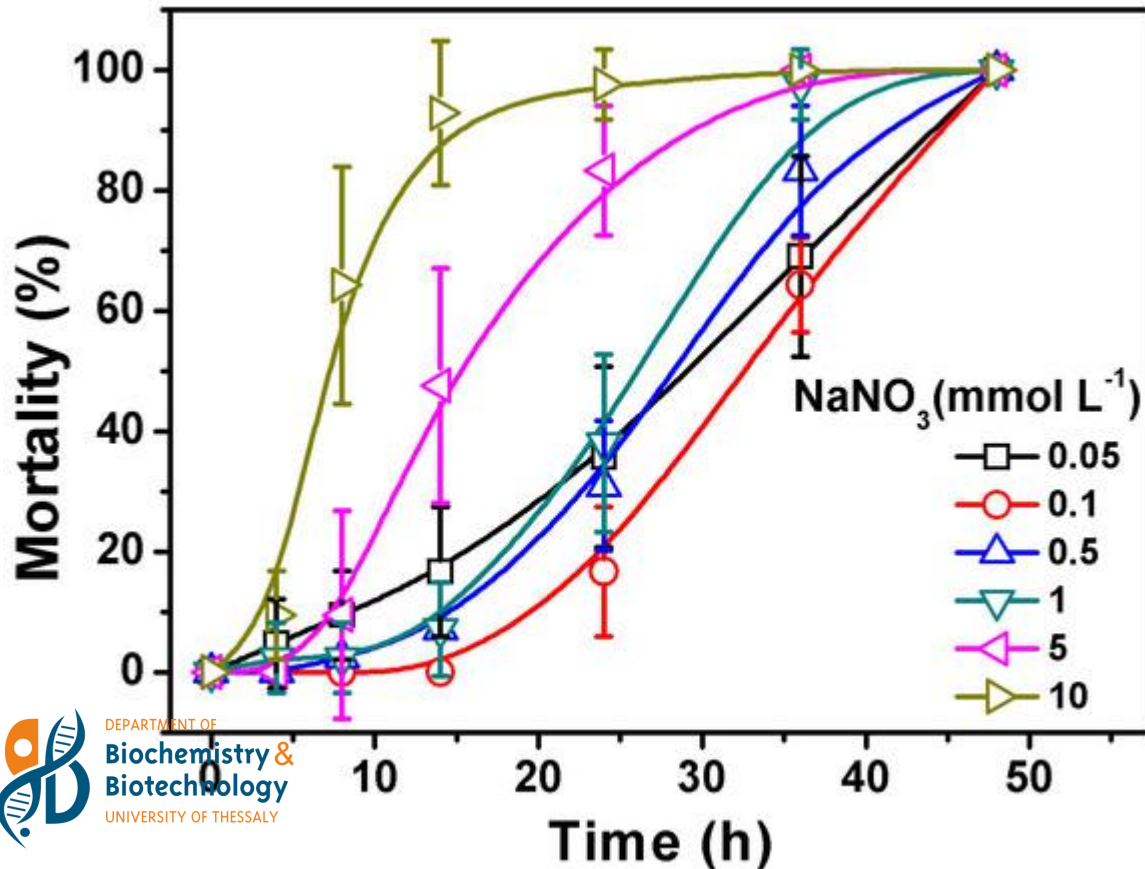
- Εργαστηρίου (ελεγχόμενες συνθήκες έκθεση)
- Ανοικτού Πεδίου (ρεαλιστικές συνθήκες έκθεσης)

Παρακολούθηση Τοξικότητας σε Επίπεδο Εργαστηρίου

- Απλά και εύκολα στον χειρισμό πειράματα
- Χαμηλό κόστος και απαιτήσεις σε εξοπλισμό
- Ύπαρξη λεπτομερών πειραματικών πρωτοκόλλων που περιγράφουν πλήρως και με κάθε λεπτομέρεια τα διάφορα στάδια του πειραματισμού

Ποια είναι τα κύρια τεστ αξιολόγησης της τοξικότητας μιας ουσίας στο εργαστήριο;

Τεστ Τοξικότητας Ενός Οργανισμού (Single-Species Tests)



Single Species Test - Προβλήματα

Αντικατοπτρίζουν πάντα worst-case scenarios
χρησιμοποιώντας ιδιαίτερα συντηρητικές παραδοχές **(Γιατί
αποδεχόμαστε ότι είμαστε υπερβολικοί?)**

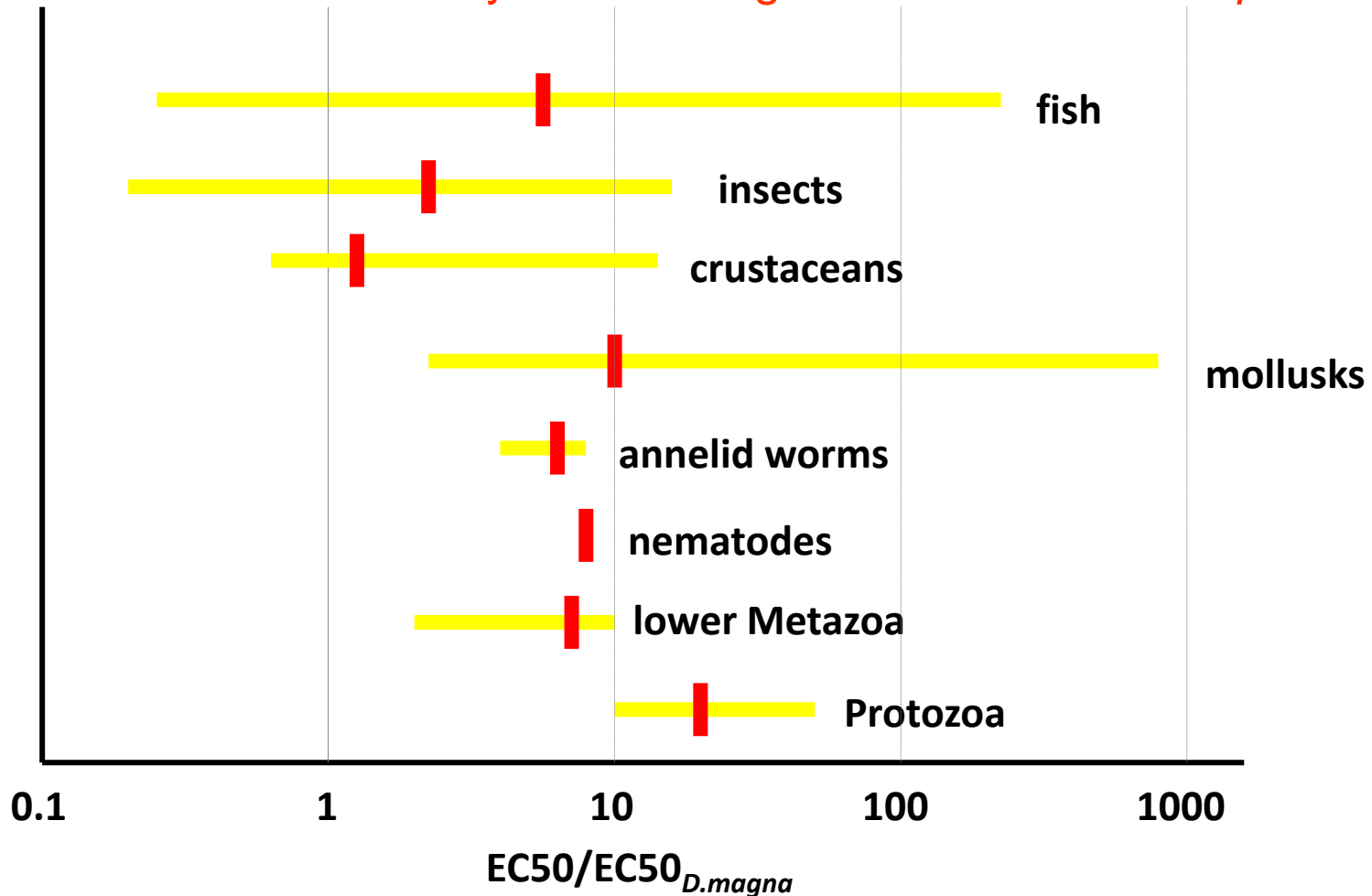
*Προτιμότερο να είσαι, τουλάχιστον στα αρχικά στάδια
αξιολόγησης του κινδύνου, υπέρ του δέοντος
προστατευτικός για το περιβάλλον και όχι τόσο
ρεαλιστής!*

Ποίες είναι οι συντηρητικές παραδοχές που κάνουμε στα SST;

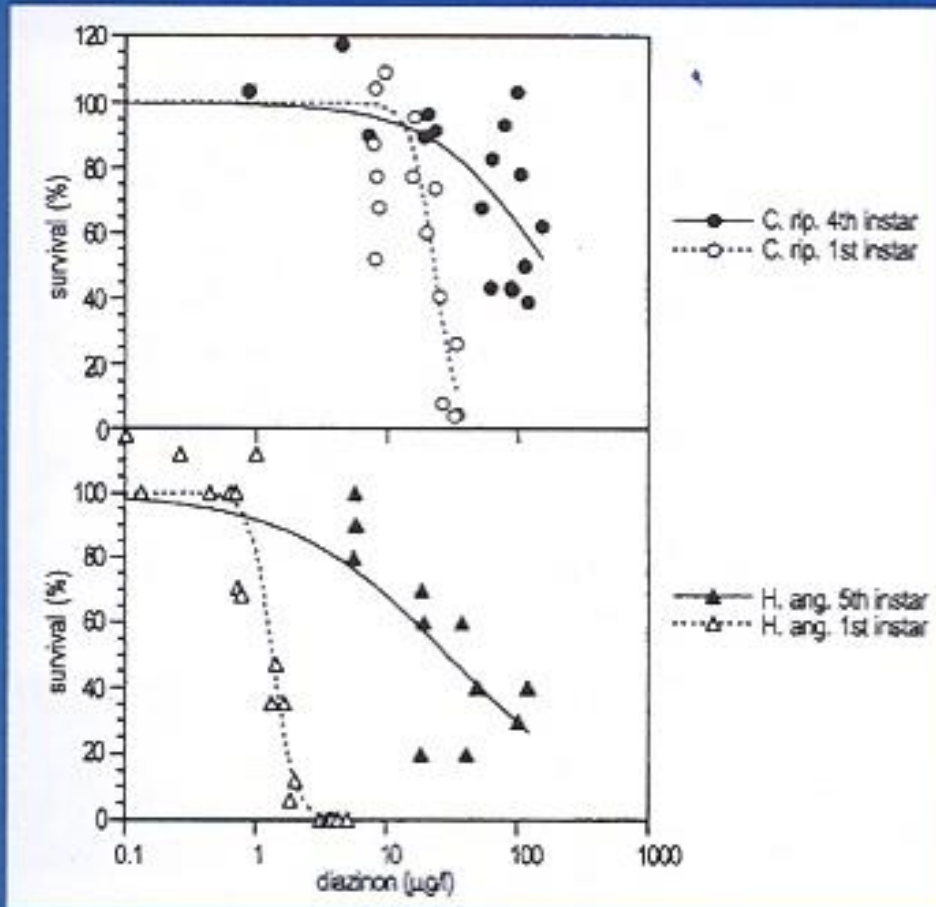
- Οι οργανισμοί-δείκτες που χρησιμοποιούνται ως αντιπροσωπευτικοί ομάδων οργανισμών (ασπόνδυλα, σπονδυλωτά) είναι πάντα οι πιο ευαίσθητοι
- Χρήση σταδίων του βιολογικού κύκλου των οργανισμών-δεικτών που είναι τα πιο ευαίσθητα
- Τα άτομα του υπό εξέταση οργανισμού εκτίθενται καθόλη την διάρκεια του τεστ σε σταθερές συγκεντρώσεις της ουσίας
- Τα άτομα του υπό εξέταση οργανισμού εκτίθενται πλήρως
- Δεν δίνεται η δυνατότητα και δεν λαμβάνεται υπόψη πιθανή ανάκαμψη (recovery) του πληθυσμού

Οι οργανισμοί-δείκτες που χρησιμοποιούνται ως αντιπροσωπευτικοί ομάδων οργανισμών (ασπόνδυλα, σπονδυλωτά) είναι πάντα οι πιο ευαίσθητοι

Insecticides and sensitivity of water organisms relative to *Daphnia magna*



Χρήση σταδίων του βιολογικού κύκλου που είναι τα πιο ευαίσθητα **(Μόνο αυτά υπάρχουν στο περιβάλλον?)**

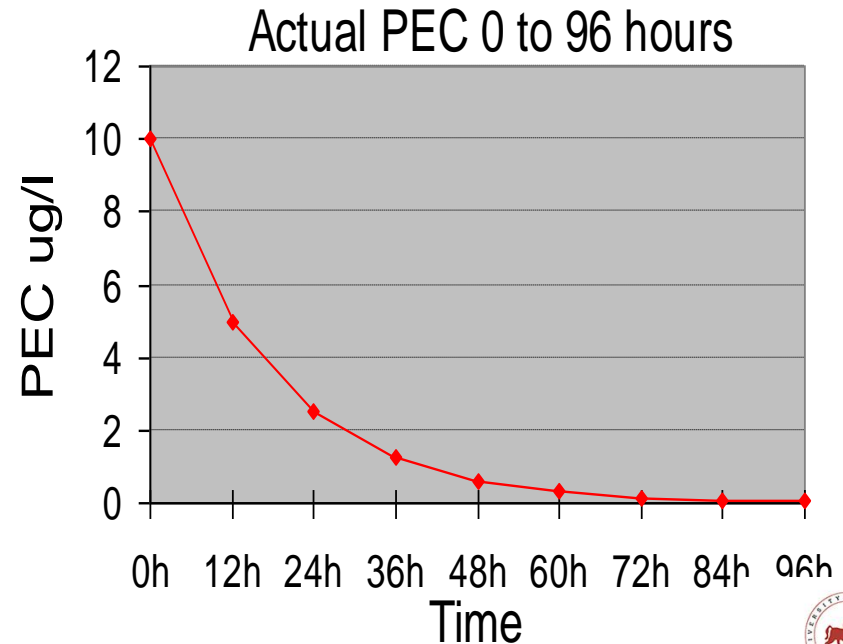
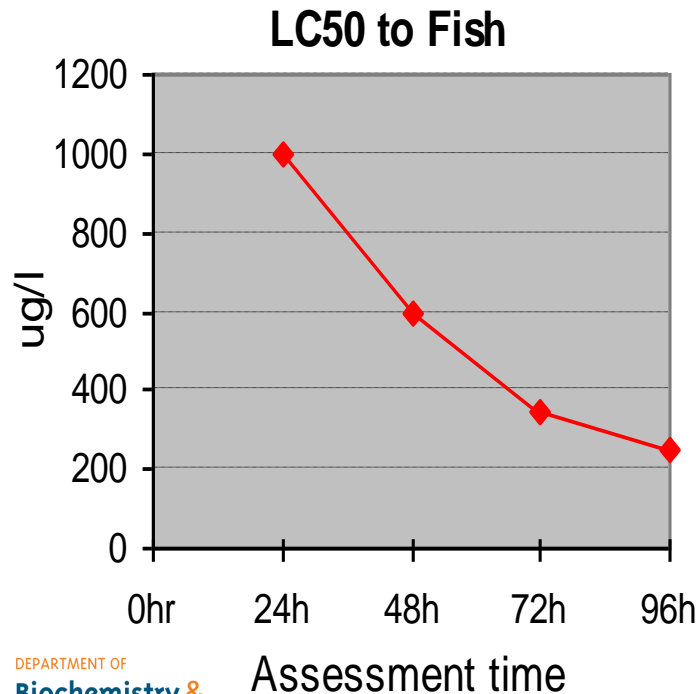


*Chironomus
riparius*

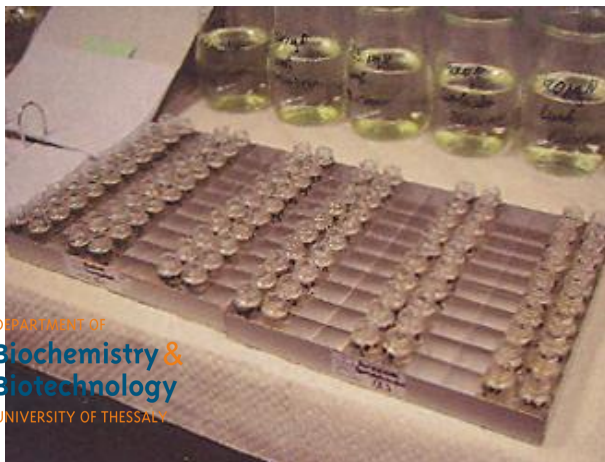
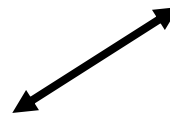
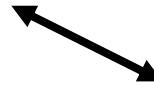
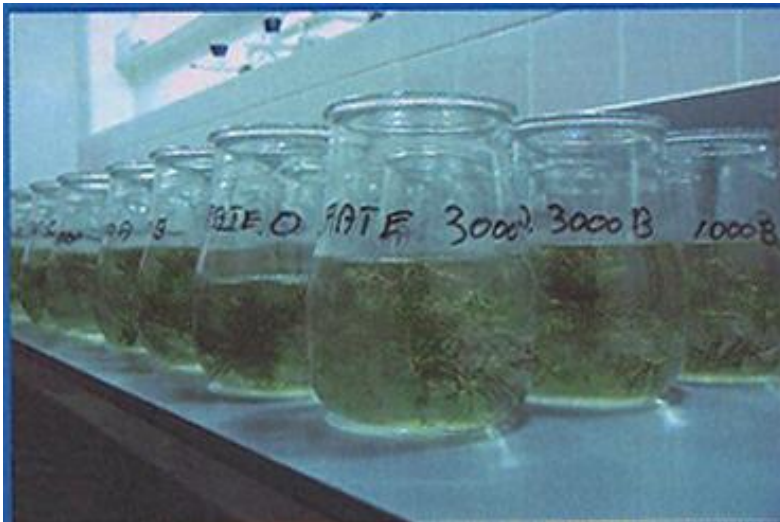
*Hydropsyche
angustipennis*

Stuijzand 99

Τα άτομα του υπό εξέταση οργανισμού εκτίθενται σε όλη την διάρκεια του τεστ σε σταθερές συγκεντρώσεις της ουσίας (Τι γίνεται σε δυναμικά υδροφόρα συστήματα?)

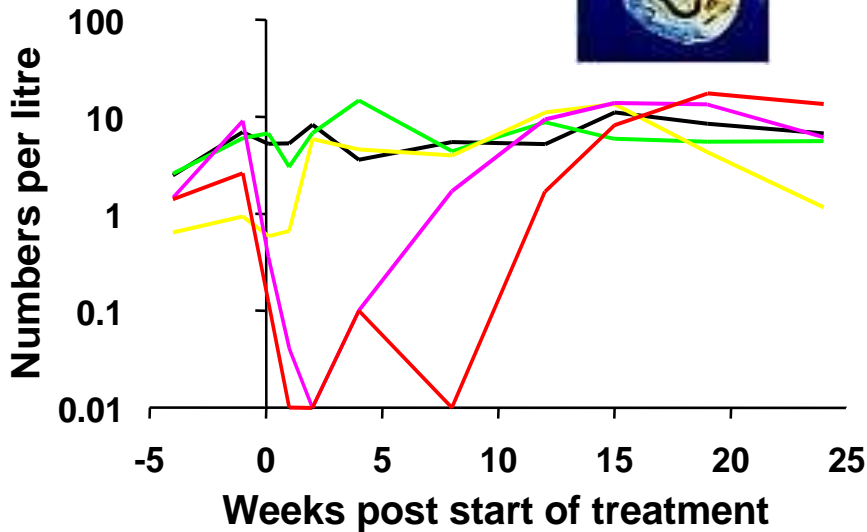


Τα άτομα του υπό εξέταση οργανισμού εκτίθενται πλήρως
(Δεν υπάρχουν σημεία να προστατευτούν?)

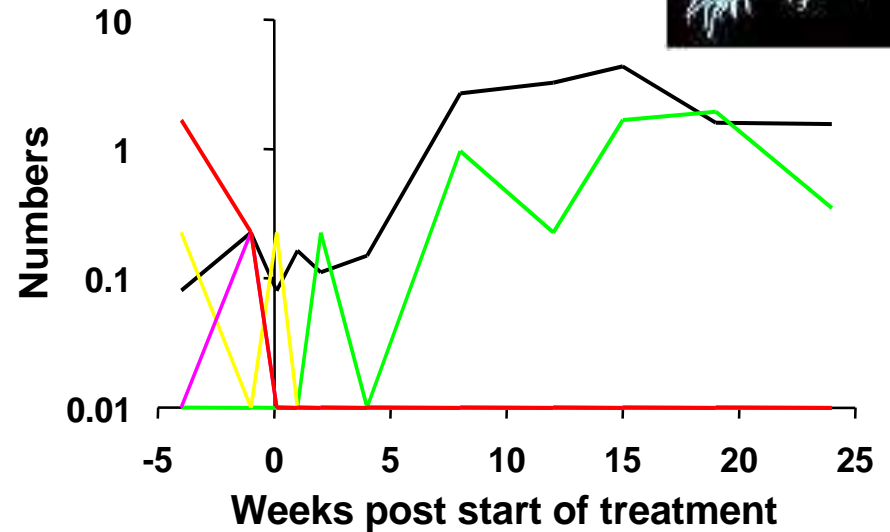


Δεν δίνεται η δυνατότητα και δεν παρατηρείται πιθανή ανάκαμψη (recovery) του πληθυσμού

Simocephalus vetulus
(EC50= 0.4 µg/L)

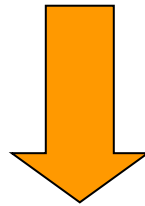


Gammarus pulex
(EC50= 0.08 µg/L)



— Control — 0.1 µg/L — 0.9 µg/L — 6 µg/L — 44 µg/L — Control — 0.1 µg/L — 0.9 µg/L — 6 µg/L — 44 µg/L

Μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τα δεδομένα από τα εργαστηριακά τεστ (SSTs) για να προβλέψουμε με μεγαλύτερο ρεαλισμό και λιγότερη αβεβαιότητα την τοξικότητα μιας ουσίας?



**Κατανομή Ευαισθησίας Ειδών
(Species Sensitivity Distributions)**

Τι είναι οι κατανομές ευαισθησίας ειδών?

Στατιστικές κατανομές που χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν την **παραλλακτικότητα** και **αβεβαιότητα** στην αξιολόγηση της τοξικότητας μιας ουσίας όταν αυτή στηρίζεται σε δεδομένα εργαστηρίου (SSTs) και εξάγουμε συμπεράσματα ότι το ίδιο συμβαίνει και στα φυσικά οικοσυστήματα

Παραλλακτικότητα (Variation)

Η ποικιλία των παραγόντων που επηρεάζουν την τελική επίδραση μιας ουσίας

- Η τοξικότητα διαφέρει μεταξύ ειδών του ίδιου οργανισμού
- Η τοξικότητα διαφέρει σε επίπεδο χρόνου και τόπου

Αβεβαιότητα (Uncertainty)

Προκύπτει από την περιορισμένη γνώση σχετικά με παράγοντες που επηρεάζουν την επίδραση μιας ουσίας

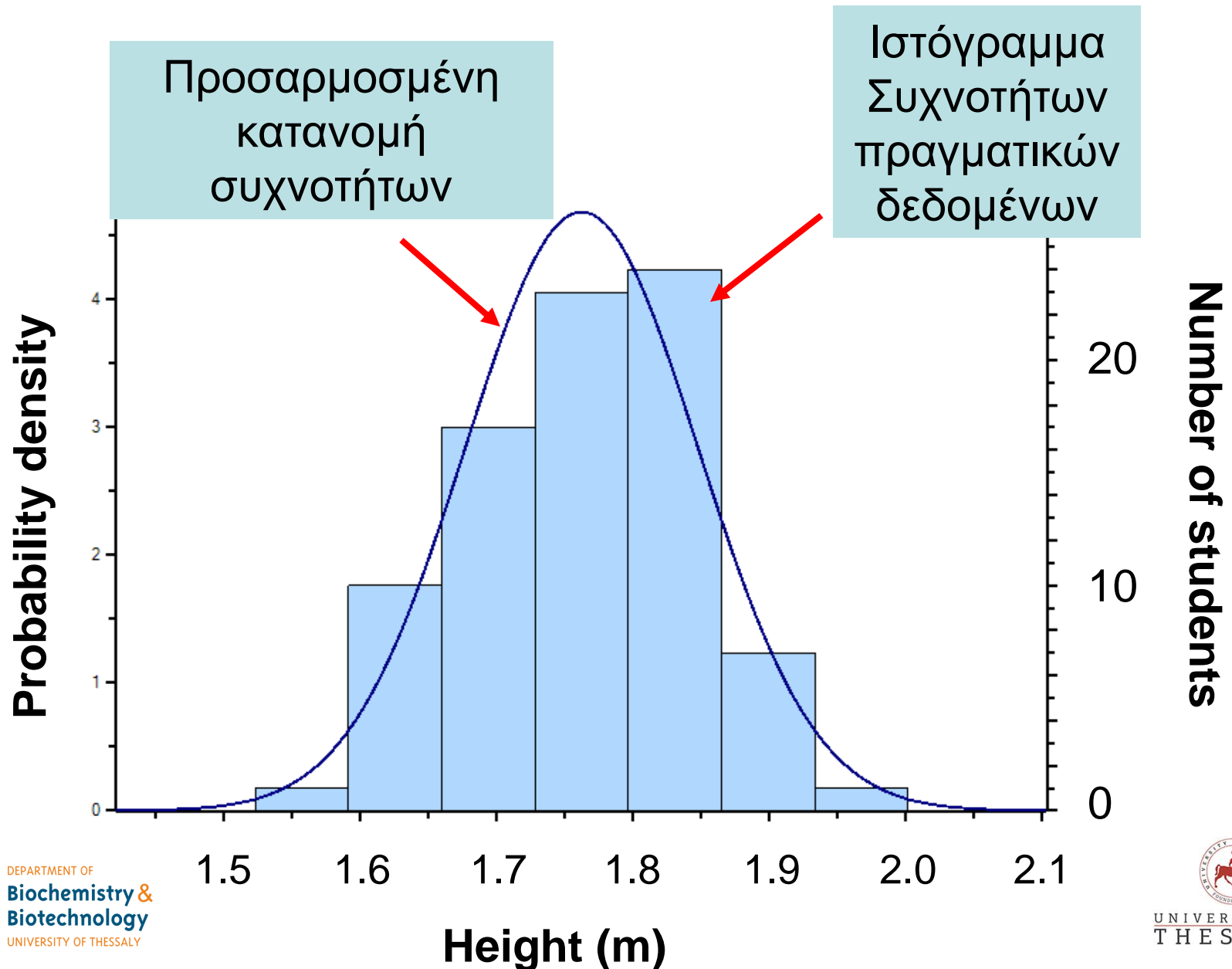
- Υποθετικός προσδιορισμός της τοξικότητας σε επίπεδο οικοσυστήματος βασιζόμενοι σε παρατηρήσεις εργαστηρίου

Παράδειγμα κατασκευής Κατανομής Ευαισθησίας Ειδών

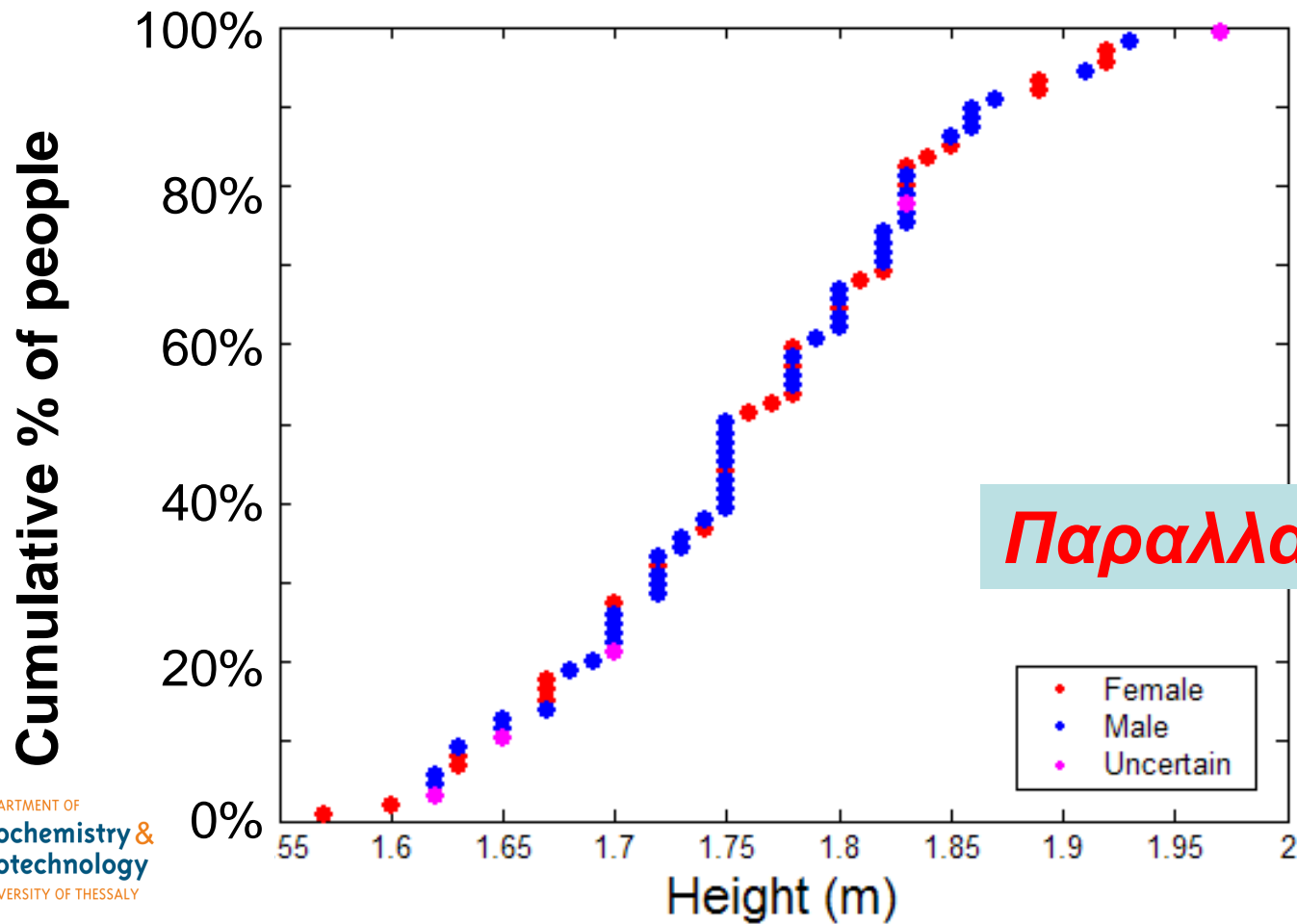
Τα ύψη των φοιτητών στο τρίτο έτος

1.60	1.83	1.65	1.72
1.80	1.70	1.67	1.78
1.83	1.69	1.83	1.78
1.78	1.73	1.80	1.63
1.75	1.63	1.87	1.80
1.86	1.68	1.97	1.75
1.70	1.82	Etc.	(m)

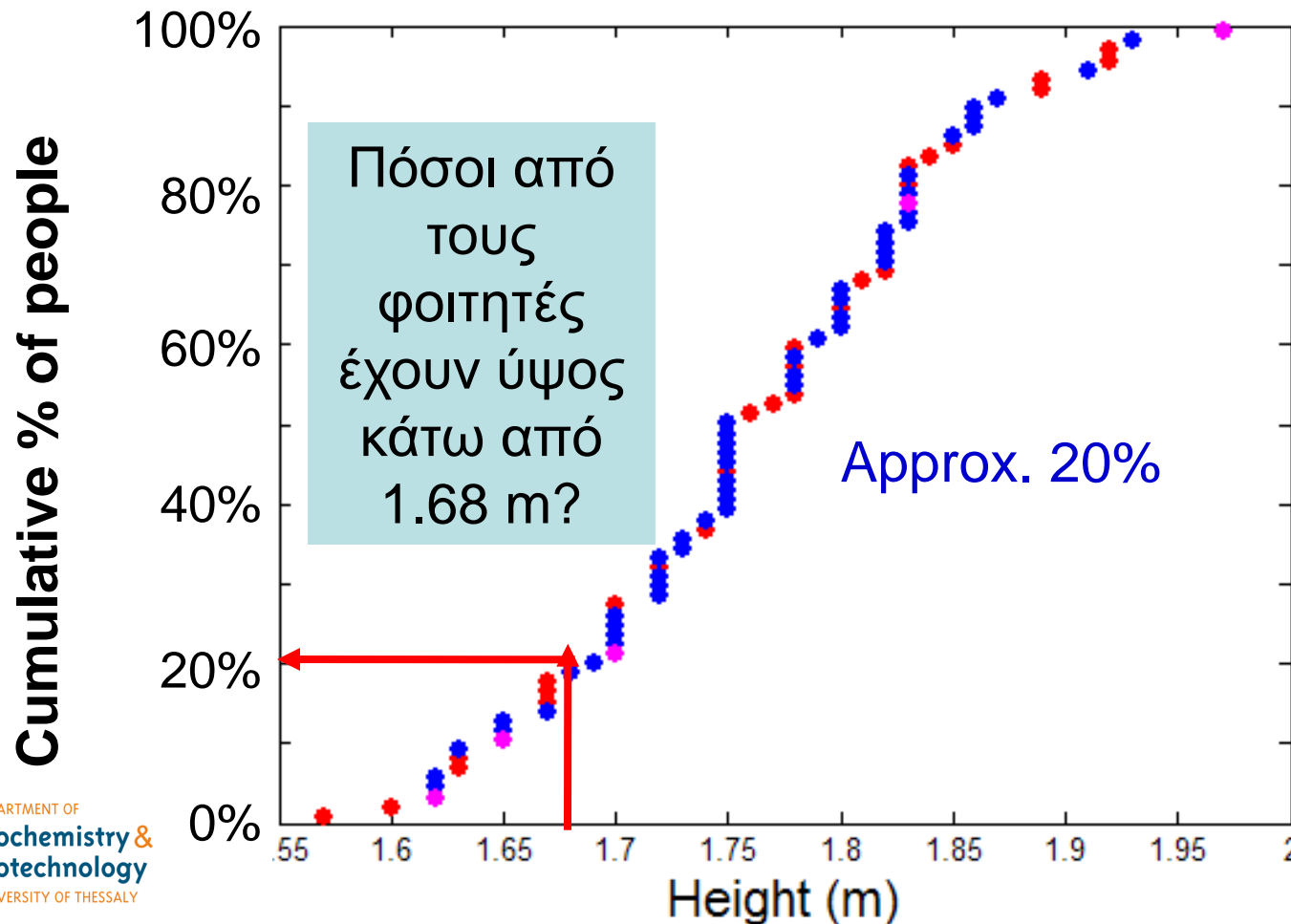
Τα ύψη των φοιτητών ακολουθούν κανονική κατανομή



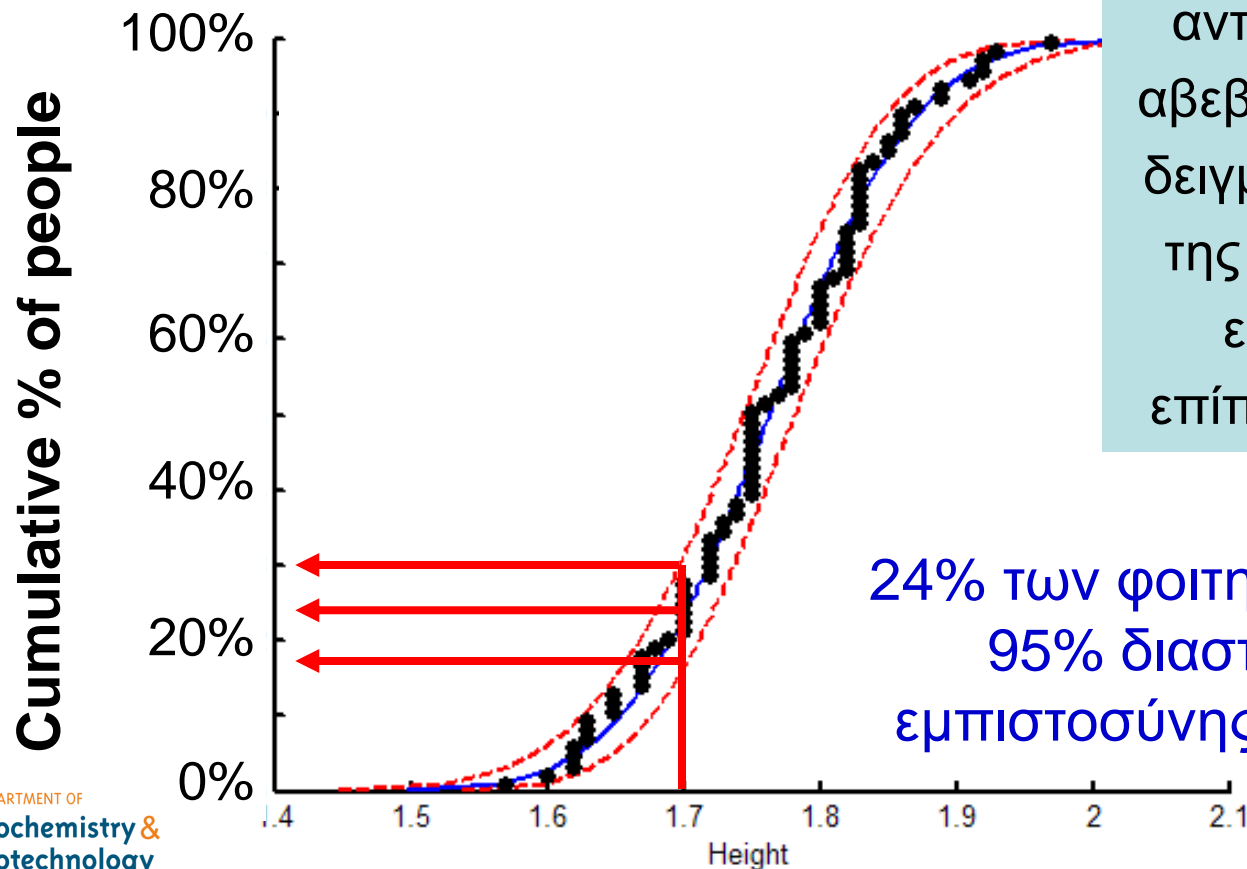
Τα ίδια δεδομένα μπορούν να σχεδιαστούν ως συσσωρευτική κατανομή (**cummulative distribution**) εάν τοποθετήσουμε τα ύψη με φθίνουσα σειρά



Οι συσσωρευτικές κατανομές χρησιμοποιούνται συχνά στην περιβαλλοντική τοξικολογία γιατί δίνουν εύκολα απαντήσεις σε ερωτήματα



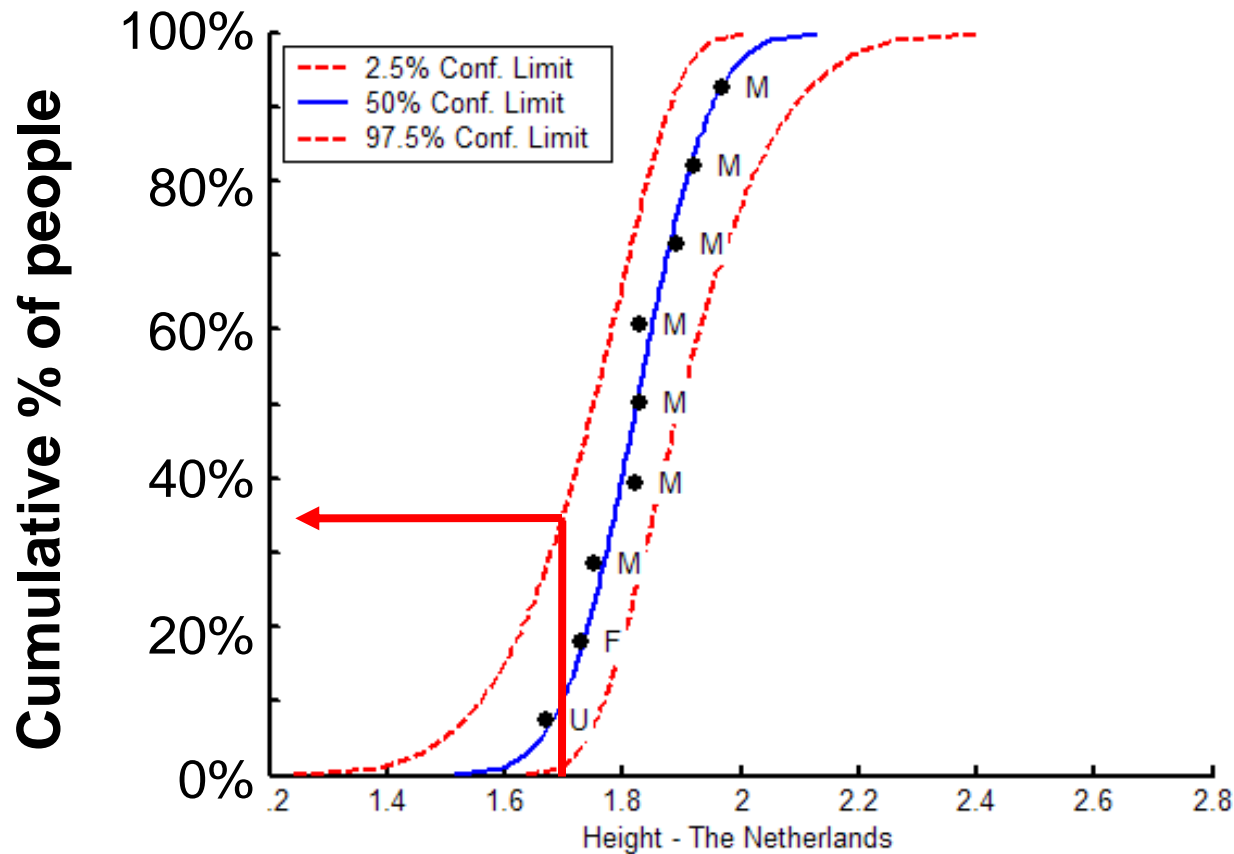
Δυνατός ο προσδιορισμός μιας προσαρμοσμένης κατανομής των τιμών και διαστημάτων εμπιστοσύνης για κάθε τιμή



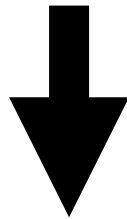
Τα διαστήματα εμπιστοσύνης αντιπροσωπεύουν αβεβαιότητα κατά την δειγματοληψία, λόγω της γενίκευσης των ευρημάτων σε επίπεδο πληθυσμού

24% των φοιτητών < 1.7m
95% διαστήματα εμπιστοσύνης = 17-29%

Μικρό δείγμα παρατηρήσεων σημαίνει αυξημένη αβεβαιότητα και ευρύτερα διαστήματα εμπιστοσύνης



EC50 ή NOEC τιμές για μια βιοκτόνο ουσία υπολογίζονται πειραματικά αρχικά με τους οργανισμούς δείκτες (*Daphnia magna*, *Selenastrum capricornutum*, *Lemna minor* etc.)



Συνήθης πρακτική είναι να πραγματοποιούνται και απλές μετρήσεις τοξικότητας (SSTs) και για άλλους οργανισμούς οι οποίοι θεωρούνται για γεωγραφικούς ή οικολογικούς λόγους περισσότερο σημαντικοί από τους οργανισμούς-δείκτες



Esanthelphusa dugasti



καραβίδα

Περίπτωση Εντομοκτόνου Chlorpyrifos

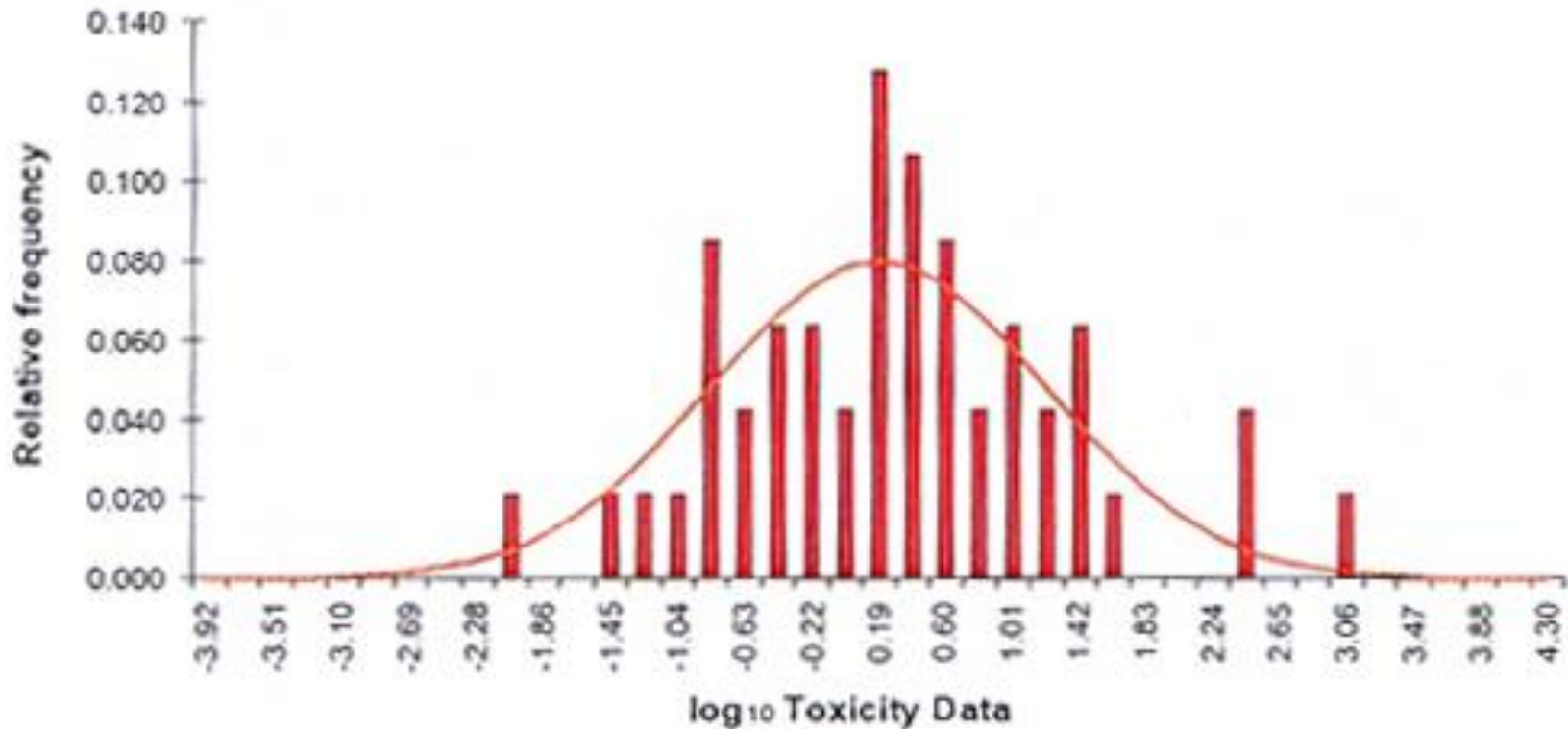
➤ Βασικά δεδομένα για οργανισμούς-δείκτες

- Άλγη ($EC_{50} > 10000 \mu\text{g/L}$, $NOEC > 10,000 \mu\text{g/L}$)
- Ασπόνδυλα ($EC_{50} = 1.3 \mu\text{g/L}$, $NOEC 0.032 \mu\text{g/L}$)
- Ψάρια ($LC50 = 1.3 \mu\text{g/L}$, $NOEC 0.09 \mu\text{g/L}$)

➤ Επιπλέον δεδομένα από SSTests

- 22 ασπόνδυλα είδη
- 25 είδη ψαριών

Οι τιμές τοξικότητας μιας ουσίας σε διαφορετικά είδη μπορεί να ακολουθούν κανονική κατανομή

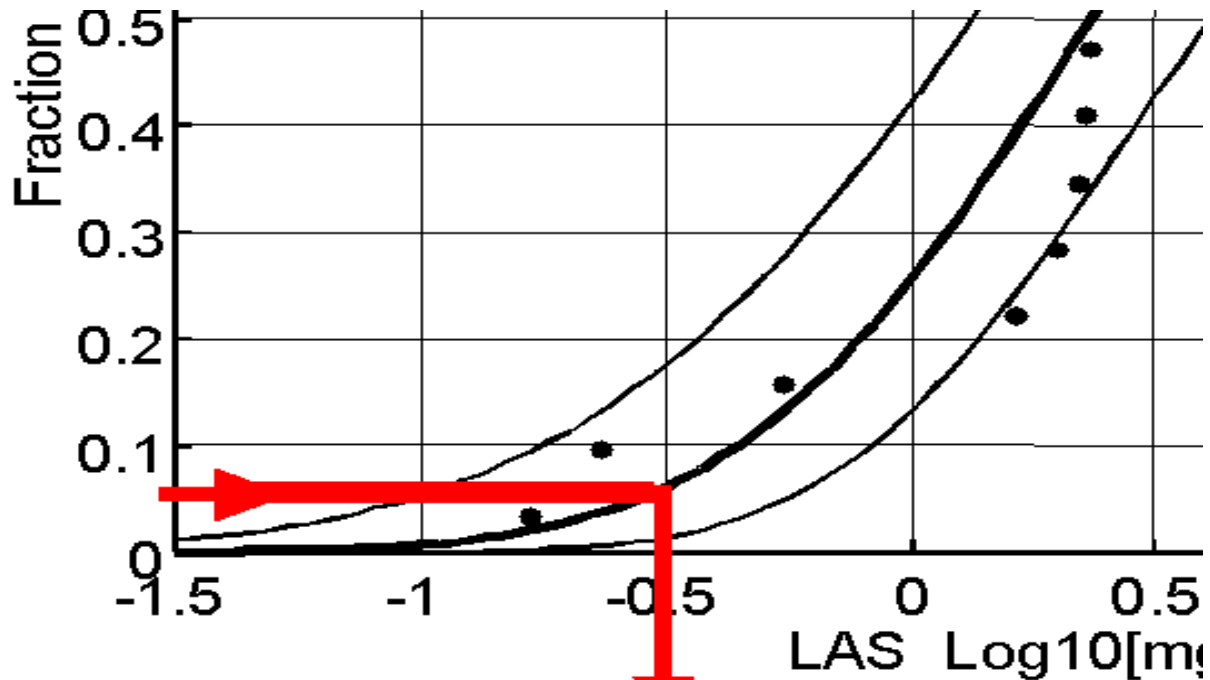


Species Sensitivity Distribution Curves

Χρησιμοποιούμε τις τιμές τοξικότητας μιας ουσίας (EC50, LC50, NOEC) όπως έχουν μετρηθεί σε Single Species Tests με διάφορα είδη-δείκτες

Προσδιορισμός των ανώτερων περιβαλλοντικών επιπέδων μιας ουσίας που δεν πρόκειται να προκαλέσει καμία επίδραση στο 95% του πληθυσμού μιας τάξης οργανισμών ή της κοινότητας ενός οικοσυστήματος

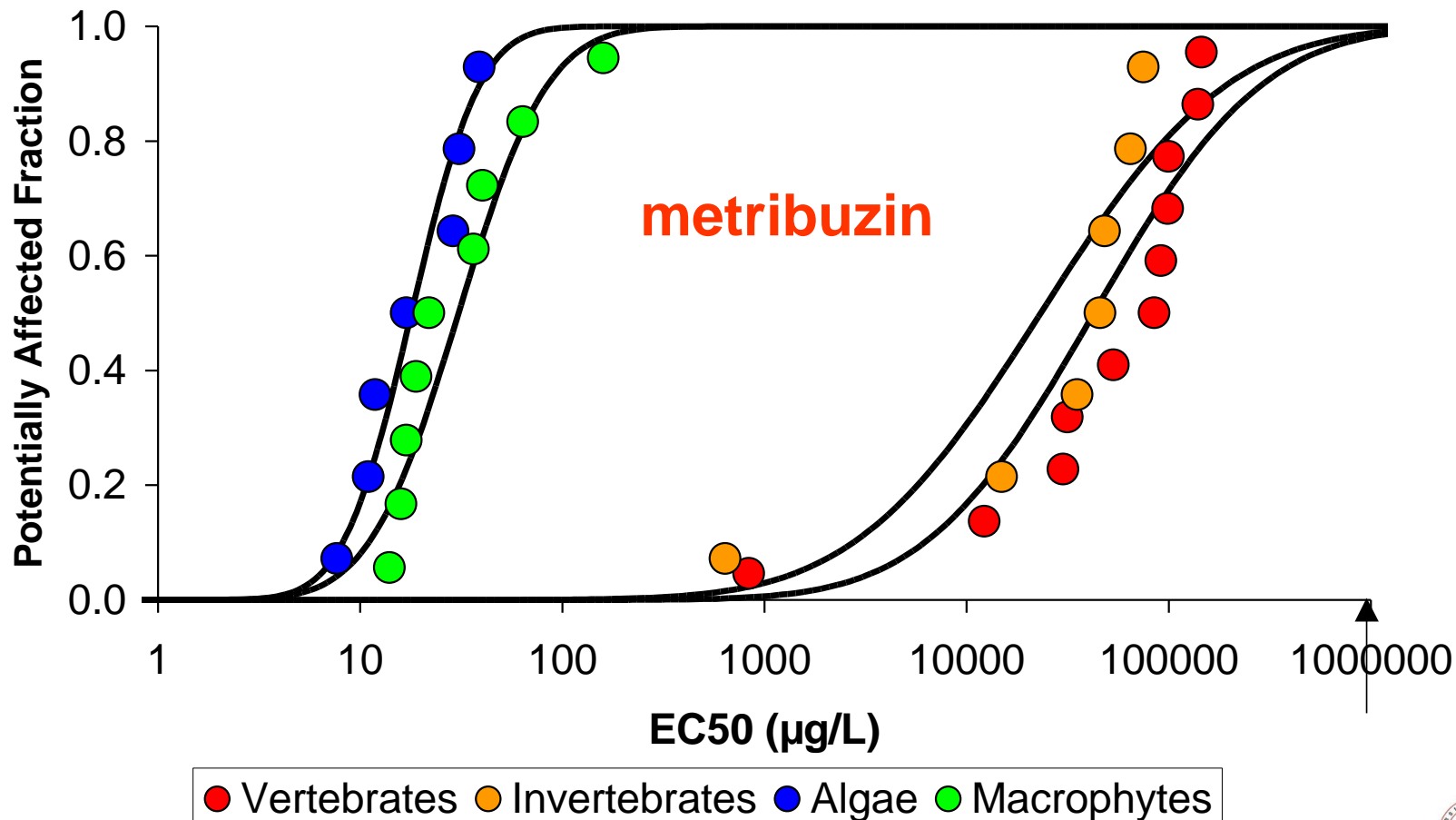
Species Sensitivity Distribution (SSDs)



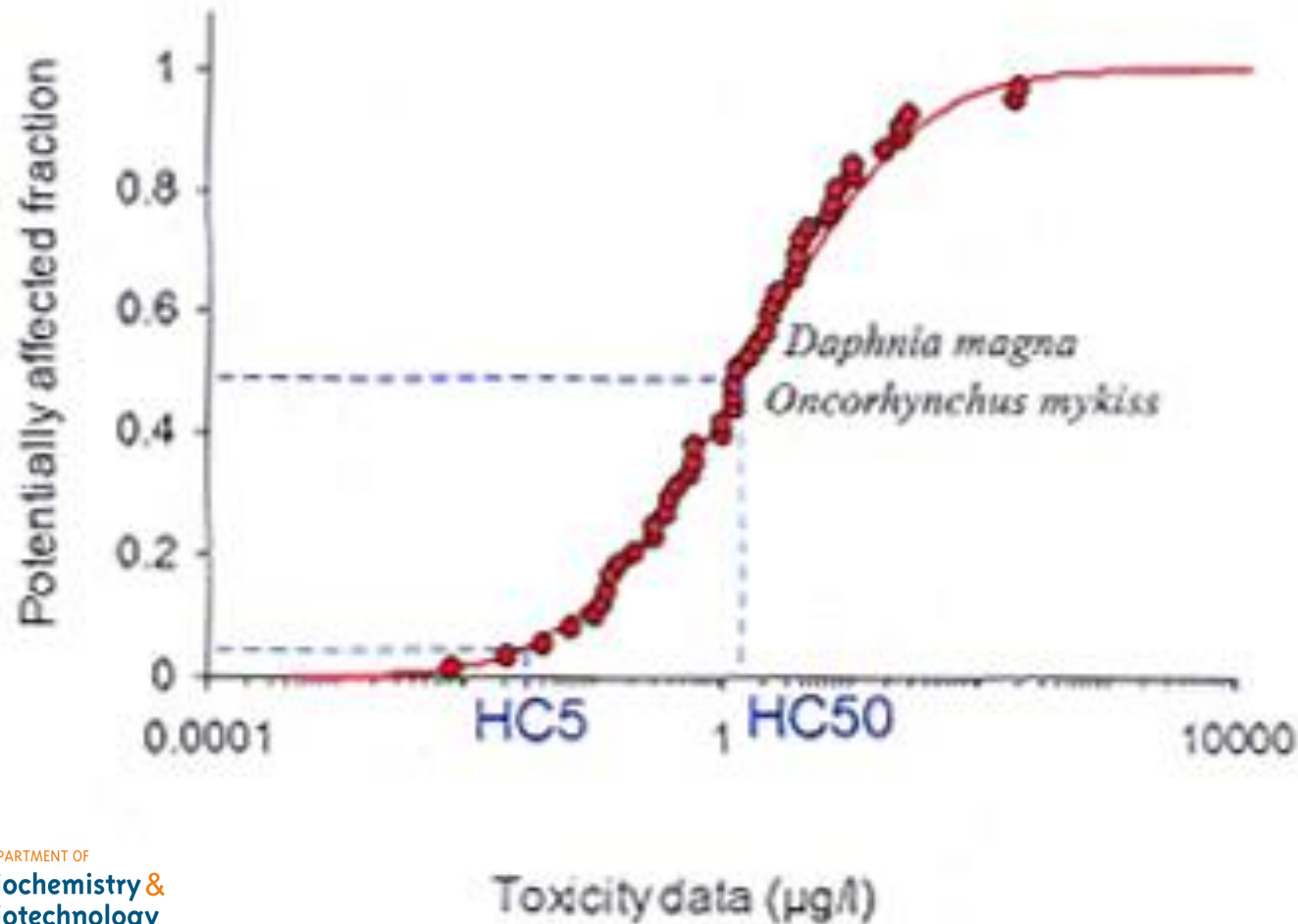
Standard setting : HC5

HC5 (Hazard concentration 5%): είναι η συγκέντρωση μιας ουσίας στο περιβάλλον που θα προκαλέσει αρνητική επίδραση στο 5% του πληθυσμού μια συγκεκριμένης τάξης οργανισμών (πχ. Ασπόνδυλα)

SSDs μπορούν να κατασκευαστούν με τιμές LC50 ή NOEC από διαφορετικά είδη οργανισμών που ανήκουν στην ίδια τάξη (Αρθρόποδα, Ασπόνδυλα, Σπονδυλωτά, Άλγη)



SSDs μπορούν να κατασκευαστούν και χρησιμοποιώντας τοξικολογικά δεδομένα για είδη που ανήκουν σε διαφορετικές τάξεις οργανισμών



Παραδοχές για την κατασκευή των SDDs

- Για την κατασκευή τους με χαμηλή αβεβαιότητα απαιτείται η χρήση μεγάλου αριθμού δεδομένων
- Ποιο είναι το καλύτερο ποσοστό HC_x που μπορούμε να πούμε ότι δεν δημιουργεί προβλήματα τοξικότητας σε επίπεδο κοινωνίας (community level)?
- Παραδοχή ότι τα είδη των οργανισμών που επιλέχθηκαν για την δημιουργία των SDDs είναι αντιπροσωπευτικά
- Η παραδοχή ότι η κατανομή της αντίδρασης των οργανισμών που εξετάστηκαν μεμονωμένα αντιπροσωπεύουν την επίδραση σε επίπεδο οικοσυστήματος

Που εφαρμόζονται οι SSDs;

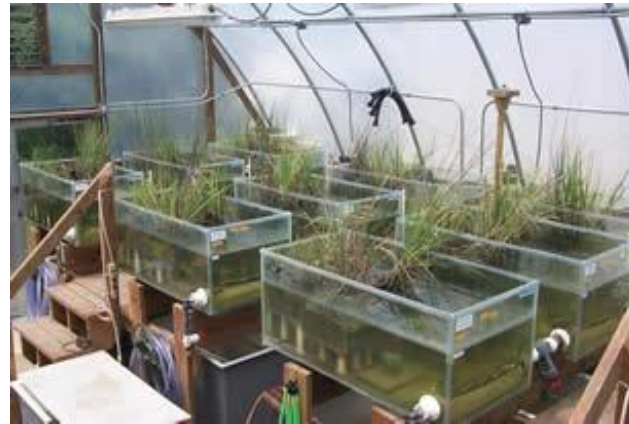
Στην Ολλανδία εάν ο έλεγχος τοξικότητας μιας ουσίας με την χρήση SSDs δείξει ότι το **κατώτερο όριο HC5 είναι χαμηλότερο από τις περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις της ουσίας** τότε θεωρείται ότι η εφαρμογή της ουσίας δημιουργεί κίνδυνο τοξικότητας σε επίπεδο κοινότητας οργανισμών

Παρακολούθηση Τοξικότητας σε Επίπεδο Ανοικτού Πεδίου

- Σύνθετα συστήματα που απαιτούν σύνθετες προσεγγίσεις εκτίμησης της τοξικότητας
- Εισαγάγουμε περισσότερο ρεαλισμό στην εκτίμηση της τοξικότητας μια ουσίας στο περιβάλλον

Ποιες Λύσεις Υπάρχουν για περισσότερο ρεαλισμό στην αξιολόγηση της τοξικότητας μια ουσίας?

✓ Μικρόκοσμοι



✓ Μεσόκοσμοι



Μικρόκοσμοι – Τι είναι;

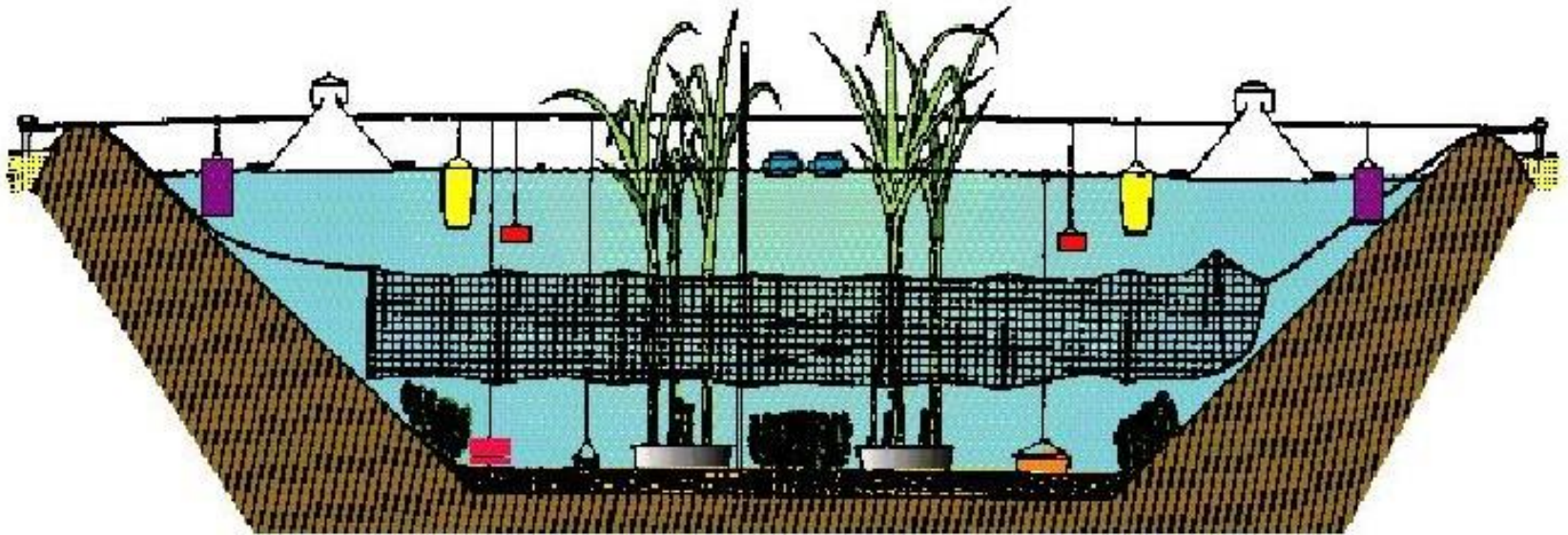
Οι μικρόκοσμοι παρουσιάζουν τα παρακάτω χαρακτηριστικά

1. Προσπαθούν να μιμηθούν πραγματικά οικοσυστήματα
2. Κατηγοριοποιούνται ανάλογα με το είδος των φυσικών υδρόβιων συστημάτων τα οποία προσπαθούν να αναπαραστήσουν
3. Μπορεί να είναι εσωτερικοί (indoors microcosms) ή εξωτερικοί (outdoors microcosms)

Μικρόκοσμοι



Μεσόκοσμοι



Μεσόκοσμοι – Πως ορίζονται;

Σύμφωνα με το Odum (1984) Οι μεσόκοσμοι αποτελούν εξωτερικές διαμορφωμένες πειραματικές κατασκευές που αντιπροσωπεύουν συστήματα μεταξύ των εργαστηριακών μικρόκοσμων και των σύνθετων, φυσικών οικοσυστημάτων

Ο πιο πρόσφατος ορισμός των μεσοκόσμων τους περιγράφει ως φυσικά διαχωρισμένα πολυτροφικά και αυτοσυντηρούμενα συστήματα που έχουν χρόνο διάρκειας που ξεπερνά τον χρόνο του βιολογικού κύκλου του είδους που βρίσκεται στο ανώτερο τροφικό επίπεδο και έχουν μέγεθος αρκετό ώστε η λήψη δειγμάτων και η πραγματοποίηση μετρήσεων να γίνεται χωρίς σοβαρή επίδραση στην σύσταση και δυναμική του συστήματος

Εγκαταστάσεις Μεσοκόσμων

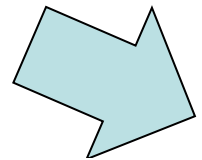


Ποιο είναι το μέγεθος των μεσοκόσμων;

- Μικρότερα σε μέγεθος και σε πολυπλοκότητα από φυσικά οικοσυστήματα
- Το μέγεθος τους κυμαίνεται από 10-20 m μήκος.
- Μεγαλύτεροι μεσόκοσμοι παρουσιάζουν προβλήματα υψηλής παραλλακτικότητας ενώ
- Μικρότεροι μεσόκοσμοι δεν παρέχουν αρκετό χώρο για ανάπτυξη σχέσεων μεταξύ οργανισμών των διαφόρων τροφικών επιπέδων ενώ η συχνή λήψη δειγμάτων θα επηρεάζει την ισορροπία του οικοσυστήματος

Πως κατασκευάζουμε ένα μεσόκοσμο;

- **Νερό:** Συνήθως προέρχεται από φυσικά «μη ρυπασμένα» υδάτινα οικοσυστήματα (Ανάλυση Νερού?)
- **Ίζημα:** Συνήθως προέρχεται από φυσικά «μη ρυπασμένα» υδάτινα οικοσυστήματα αλλά χρησιμοποιούνται εναλλακτικά τεχνητά υποστρώματα ή μίγματα φυσικού ιζήματος και τεχνητών υποστρωμάτων
- **Οργανισμούς:** Είδη από διάφορα τροφικά επίπεδα που θα έχουν δομικό αλλά και λειτουργικό ρόλο στην δημιουργία και σταθεροποίηση του τεχνητού οικοσυστήματος



Τι είδους οργανισμούς θα εμβολιάσουμε στους μεσοκόσμους?

- Οργανισμούς που εξασφαλίζουν δομική σταθερότητα **πχ. μακρόφυτα**
- Οργανισμούς που αποτελούν πρωτογενείς παραγωγούς **πχ. άλγη**
- Οργανισμούς που συμμετέχουν στην αποδόμηση και ανακύκλωση της οργανικής ύλης **πχ. μικροοργανισμούς και ασπόνδυλα)**

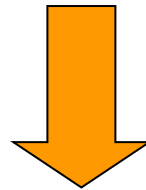
Η προσθήκη ψαριών δεν ενδείκνυται (Γιατί?) εκτός εάν βασικός στόχος είναι η μελέτη της επίδρασης της ουσίας σε αυτά

Αμέσως μετά την εισαγωγή των οργανισμών στους μεσόκοσμους απαιτείται ένα χρονικό διάστημα σταθεροποίησης και ωρίμανσης του οικοσυστήματος (**stabilization period**) που ανάλογα με το μέγεθος των μεσοκόσμων κυμαίνεται από 2 – 12 μήνες

Τι μετράμε στους μεσόκοσμους;

- Μέτρηση Δεικτών λειτουργικότητας των μεσόκοσμων
**Διαλυτό Οξυγόνο, Διάσπαση Οργανικής Ύλης,
Αλκαλικότητα κ.α.**
- Μέτρηση Πληθυσμού των οργανισμών που διαβιούν στο μεσόκοσμο
**Μεταβολές στον πληθυσμό αλγών, μακροφύτων,
ασπονδύλων**

Τα πιο σύνθετα συστήματα αξιολόγησης της τοξικότητας μιας ουσίας παρέχουν μια ρεαλιστική, όσο το δυνατό, εικόνα της τοξικότητας της ουσίας στο περιβάλλον αλλά συνήθως σύνθετα συστήματα δίνουν και σύνθετες παρατηρήσεις που απαιτούν σύνθετη ανάλυση ώστε να βγουν συμπεράσματα



Καμπύλες Κύριας Αντίδρασης

Τι είναι οι Καμπύλες Κύριας Αντίδρασης;

- Πολύπλοκές στατιστικές προσεγγίσεις για την απεικόνιση της τοξικότητας μια ουσίας τόσο σε επίπεδο οικοσυστήματος όσο και σε επίπεδο είδους
- Στηρίζεται στην πρόβλεψη της αφθονίας κάθε συγκεκριμένου είδους οργανισμού με την χρήση συγκεκριμένων στατιστικών μοντέλων
- ***Η επίδραση της κάθε μεταχείρισης είναι η μέση διαφορά του πληθυσμού στους μεσόκοσμους της μεταχείρισης A σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στους μεσόκοσμους του μάρτυρα ανά εβδομάδα***

$$Y_{d(j)tk} = \bar{y}_{0tk} + b_k c_{dt} + e_{d(j)tk}$$

$Y_{d(j)tk}$ = ο πληθυσμός του είδους k στο μεσόκοσμο j της μεταχείρισης d στο χρόνο t

\bar{y}_{0tk} = ο πληθυσμός του είδους k στο χρόνο t στο μεσόκοσμο μάρτυρα ($d=0$)

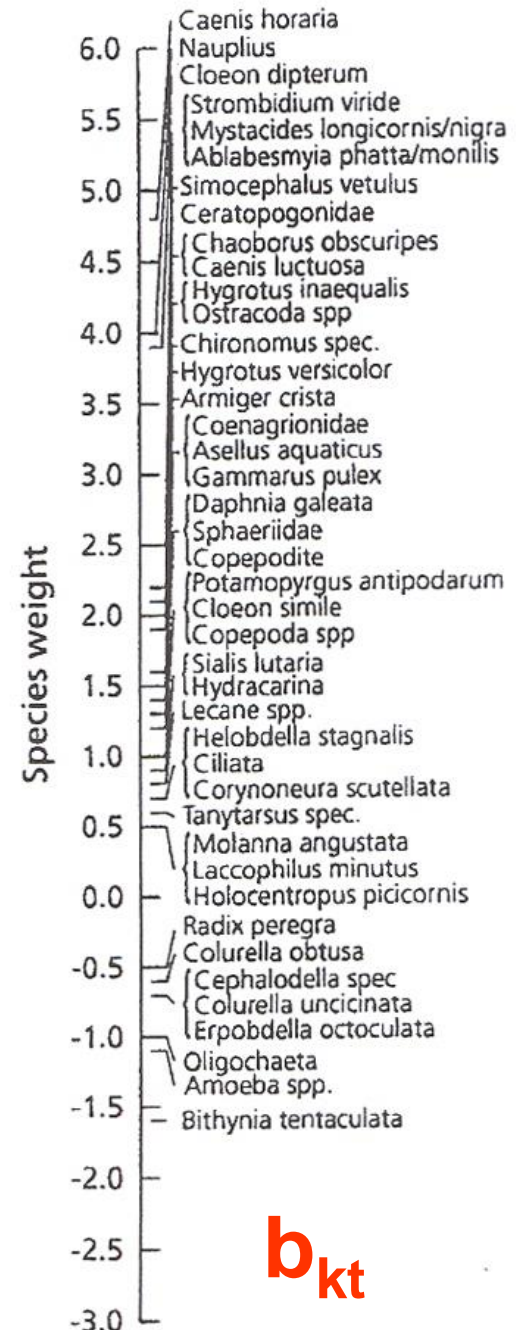
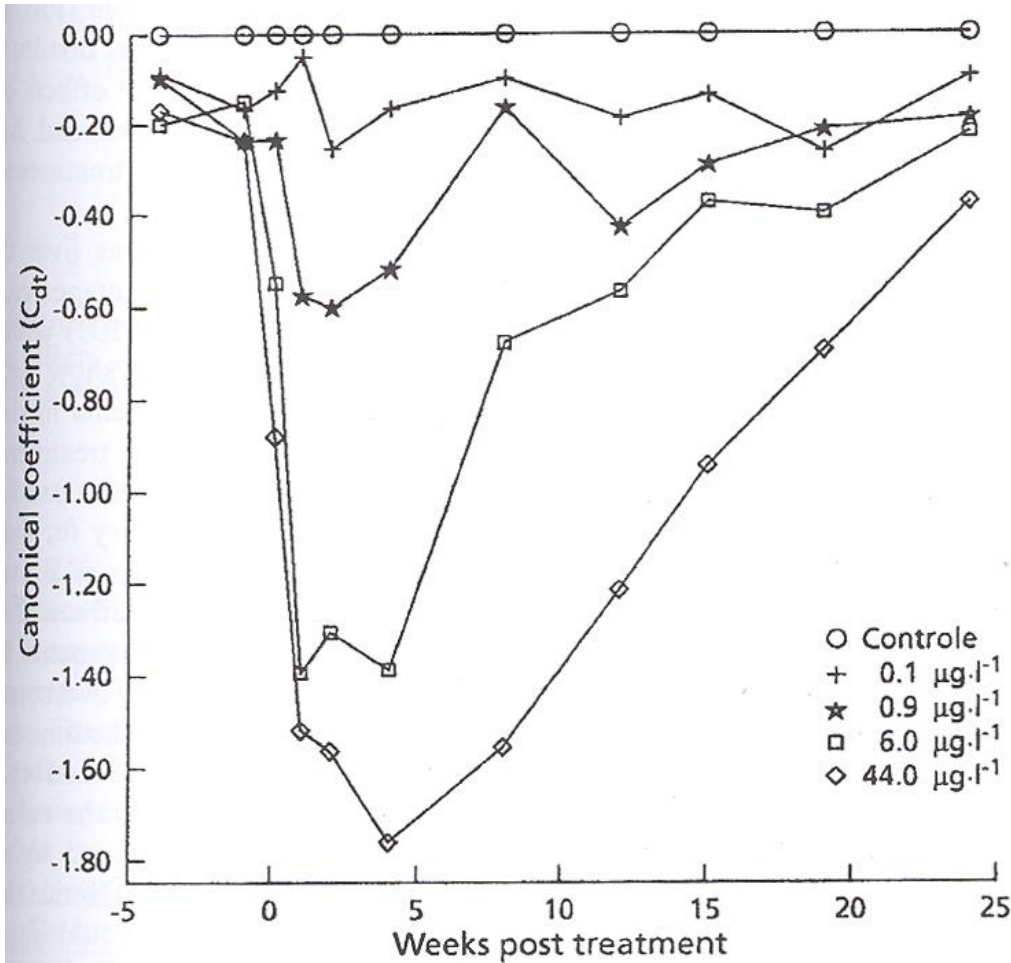
$e_{d(j)tk}$ = στατιστικό λάθος

b_k = species weight

c_{dt} = συντελεστής κανονικότητας

$b_k \times c_{dt} = T_{dtk}$ (% effect of the treatment relative to the control)

Παράδειγμα Καμπύλης Κύριας Αντίδρασης- Ασπόνδυλα

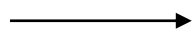


$$b_k \times c_{dt} = T_{dtk} \text{ (% effect of the treatment relative to the control)}$$

b_{kt}

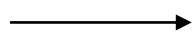
Πως μπορούμε να πάρουμε πληροφορίες για την αντίδραση κάθε στην έκθεση στην υπό αξιολόγηση ουσία από τις καμπύλες κύριας αντίδρασης;

**Τιμές b_{kt} υψηλές
και θετικές**



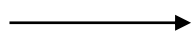
Οι μεταβολές στον πληθυσμό του είδους λόγω της μεταχείρισης ακολουθούν την τάση που περιγράφεται από την PRC

**Τιμές b_{kt} υψηλές
και αρνητικές**

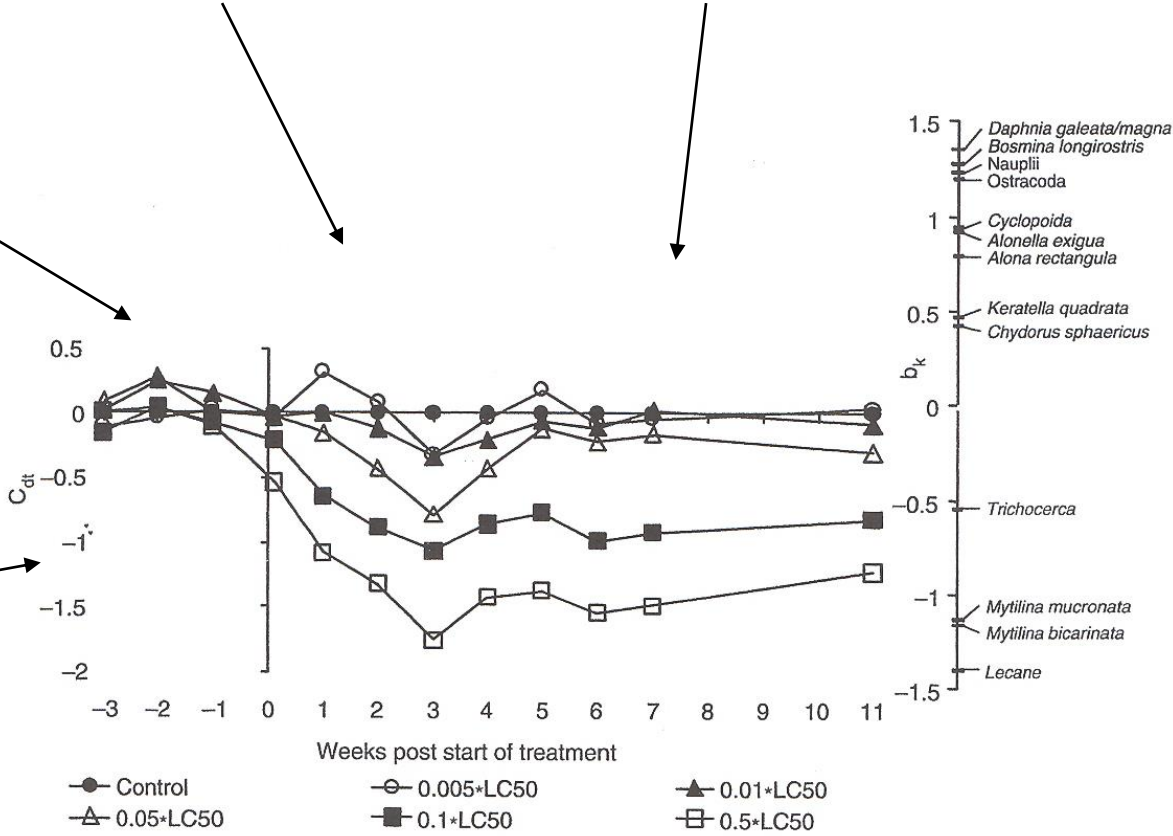
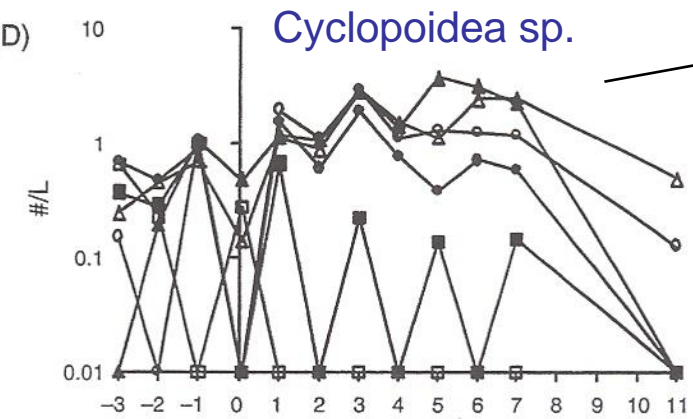
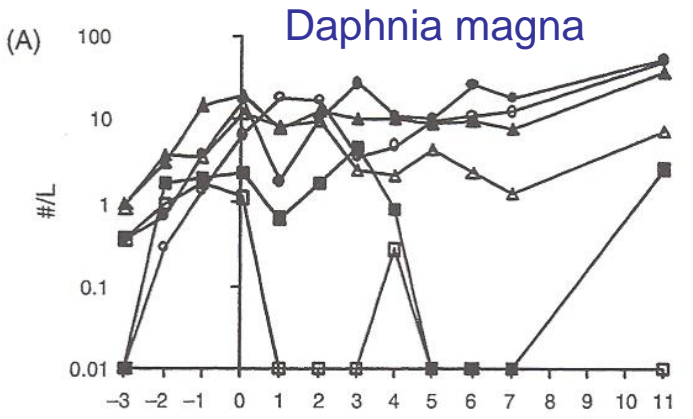
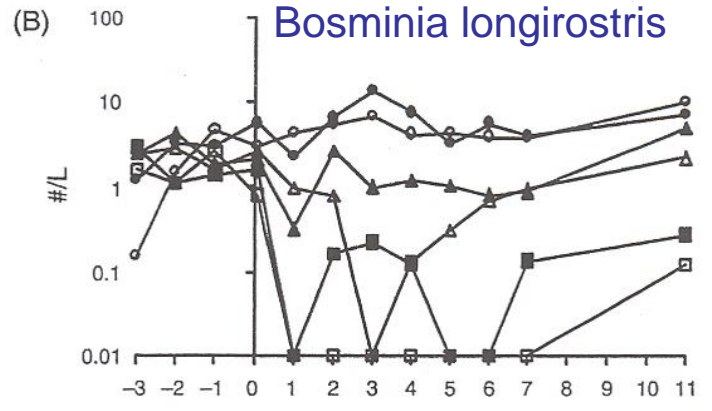
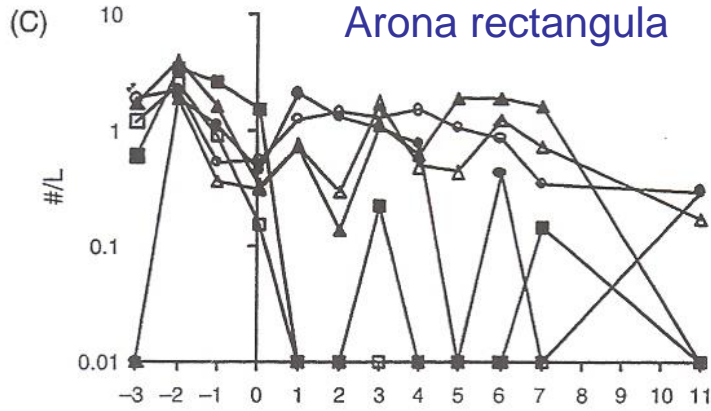


Οι μεταβολές του πληθυσμού του είδους λόγω της μεταχείρισης ακολουθούν την ακριβώς αντίθετη τάση από αυτή που περιγράφεται από την PRC

$-0.5 < \text{Τιμές } b_{kt} < 0.5$



Ο πληθυσμός του είδους δεν παρουσιάζει καμία αντίδραση ως αποτέλεσμα της μεταχείρισης ή η αντίδραση που παρουσιάζει δεν συσχετίζεται με την τάση της PRC



Ασπόνδυλα - ζωοπλαγκτόν

Πλεονεκτήματα Μεσοκόσμων

- Πιο ρεαλιστική προσέγγιση του περιβάλλοντος και των συνθηκών έκθεσης αν και εμπεριέχουν ακόμη κάποιες συντηρητικές παραδοχές (κλειστά συστήματα)
- Αποτελούν τεστ πολλαπλών ειδών και συνεπώς επιτρέπουν την ύπαρξη αλληλεπιδράσεων μεταξύ ειδών που διαβιούν στο ίδιο ενδιαίτημα
- Δυνατή η παρακολούθηση του ρυθμού ανάκαμψης του πληθυσμού διαφόρων ειδών και η επαναποίκηση
- Άμεση παρακολούθηση των επιδράσεων από την έκθεση στις ξενοβιοτικές ουσίες που συνεπάγεται περιορισμένη αβεβαιότητα (**uncertainty**)

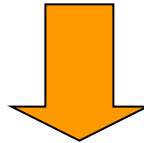
Μειονεκτήματα Μεσοκόσμων

- Αυξημένη παραλλακτικότητα μεταξύ επαναλήψεων
- Δύσκολη η ανάλυση των δεδομένων από τέτοια πολύπλοκα και πολυπαραγοντικά τεστ
- Υψηλό κόστος
- Σχετικά πρόσφατες πειραματικές προσεγγίσεις που δεν έχουν ακόμη ξεκάθαρα πρωτόκολλα για την πραγματοποίησή τους (πχ. Πιο κριτήριο χρησιμοποιούμε για να πούμε ότι είδαμε επίδραση.....θάνατο, αναπαραγωγή, αναστολή ανάπτυξης?)

Εκτίμηση της τοξικότητας ουσιών στο σε φυσικά οικοσυστήματα

Πως μπορούμε να αξιολογήσουμε την ποιότητα των επιφανειακών νερών σε ένα φυσικό οικοσύστημα?

Χημική ποιότητα: Παρακολούθηση με τακτικές χημικές αναλύσεις των συγκεντρώσεων οργανικών, ανόργανων ρύπων στα νερά

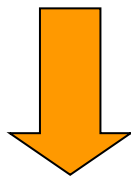


Η χρήση πολυδύναμων μεθόδων ανάλυσης με την χρήση ιδιαίτερα ευαίσθητου αναλυτικού εξοπλισμού (GC-MS, LC-MS) επιτρέπουν την ανίχνευση και ταυτοποίηση οργανικών ρύπων (γεωργικών φαρμάκων και προϊόντων μεταβολισμού τους, κ.α.) σε περιβαλλοντικά δείγματα νερού σε επίπεδα 0.001 ppb με αξιοπιστία

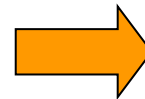
Πως μπορούμε να αξιολογήσουμε την ποιότητα των επιφανειακών νερών σε ένα φυσικό οικοσύστημα?

Οι χημικές αναλύσεις παρέχουν πληροφορίες για την ταυτότητα και τις συγκεντρώσεις των ρύπων σε περιβαλλοντικά δείγματα

Δεν μπορούν όμως να μας δώσουν πληροφορίες για την τοξική επίδραση αυτών των συγκεντρώσεων στους οργανισμούς που διαβιούν στο υδρόβιο περιβάλλον, η ποιότητα του οποίου μελετάται



Παρουσία πολλών ρύπων στο ίδιο οικοσύστημα (μίγματα ρύπων και συνεργισμός?)



Χρειαζόμαστε τεστ τοξικότητας για να εκτιμήσουμε την οικολογική ποιότητα των νερών

Σύστημα Microtox®

Εμπορικά κιτ που περιέχουν λιοφυλλοποιημένα φθορίζοντα θαλάσσια βακτήρια του είδους *Vibrio fischeri* και χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της τοξικότητας περιβαλλοντικών δειγμάτων (νερά, εδάφη, ιζήματα) αλλά και άλλων ουσιών σε καθαρή μορφή

Το 1981 η εταιρεία Beckman Instruments εισήγαγε στην αγορά το σύστημα Microtox®

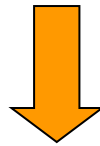


Αρχή Συστήματος Microtox®

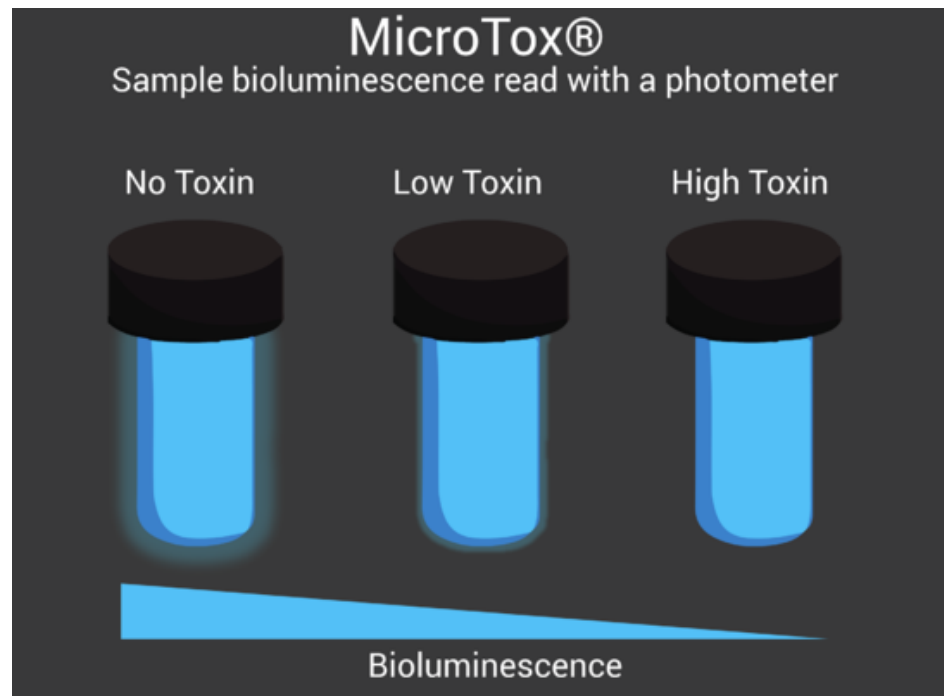
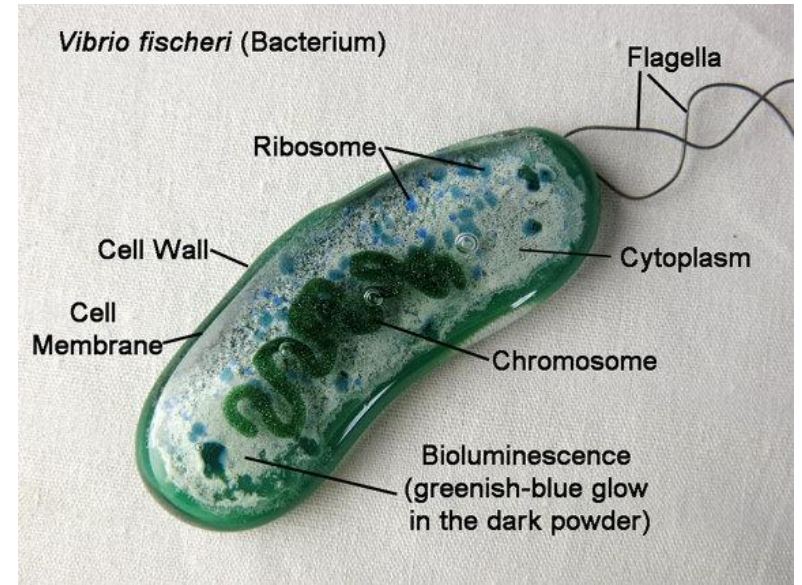
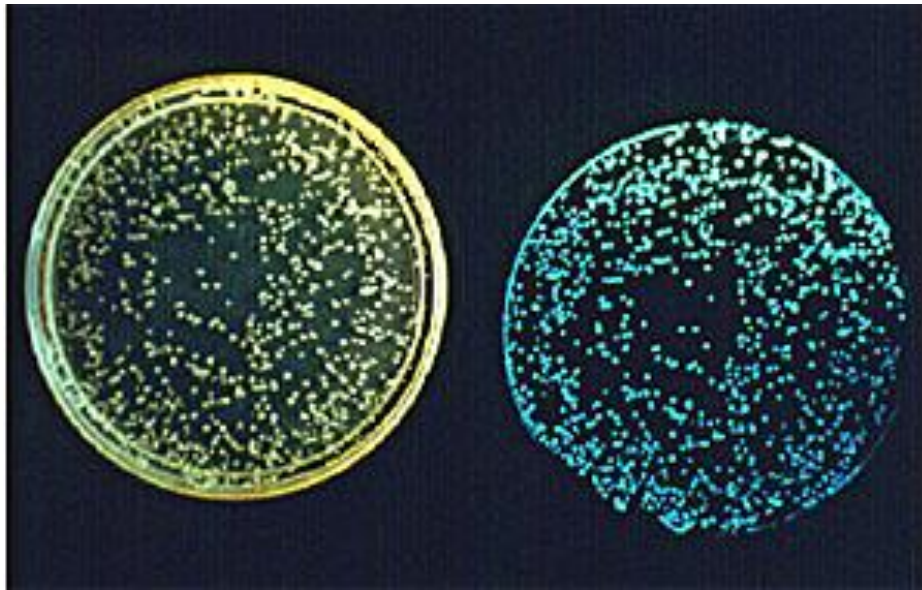
Ο μηχανισμός φθορισμού του βακτηρίου *Vibrio fischeri* είναι άμεσα συνδεδεμένος με την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και παραγωγής ενέργειας από το βακτήριο



Μείωση του φθορισμού σημαίνει αναστολή της μεταβολικής δραστηριότητας του βακτηρίου



Έκθεση του βακτηρίου σε περιβαλλοντικά δείγματα που περιέχουν διάφορους ρύπους και μείωση του φθορισμού σε σχέση με τον φθορισμό βακτηρίων που εκτέθηκαν σε νερό είναι ένδειξη της τοξικότητας του δείγματος



Αξιολόγηση Συστήματος Microtox®

- Ευαίσθητο σε πλήθος ρύπων όπως γεωργικά φάρμακα, μέταλλα, αμμωνία, φαινολικά, οργανικούς διαλύτες, PAHs
- Καλή συσχέτιση των δεδομένων τοξικότητας με την χρήση Microtox® σε σχέση με άλλα παραδοσιακά τεστ τοξικότητας με οργανισμούς-δείκτες (*Daphnia magna*, *Pimephales promeles*, *Selenastrum capricornutum*)

Αξιολόγηση Συστήματος Microtox®

