

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Θ  
Ε  
Μ  
Α

ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΦΥΣΙΚΑ ΝΕΡΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΣ: ΒΑΚΟΥΛΗ ΜΑΡΙΑ

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών με τίτλο «Περιβαλλοντική Αγροχημεία και Βιολογικές Καλλιέργειες», στο τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Εκπονήθηκε κατά το χρονικό διάστημα Ιούλιος 2012 – Μάιος 2013.

Κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους του Μεταπτυχιακού Προγράμματος είχα την τιμή να γνωρίσω προσωπικά τον Καθηγητή και Πρύτανη του Πανεπιστημίου κ. Αλμπάνη Τριαντάφυλλο, μέσω του μαθήματος Αγροχημείας. Εντυπωσιάσθηκα από την επιστημονική του κατάρτιση και το διδασκαλικό του ταλέντο και του ζήτησα να μου υποδείξει θέμα μεταπτυχιακής διατριβής και να συνεργαστούμε. Μετά από συζητήσεις ο κ. Αλμπάνης ενέκρινε τη συνεργασία μας και μου ανέθεσε το θέμα: «ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΦΥΣΙΚΑ ΝΕΡΑ». Θεωρώ υποχρέωσή μου να τον ευχαριστήσω θερμά.

Το θέμα της συγκεκριμένης εργασίας μου φάνηκε αρκετά ενδιαφέρον και το ακολούθησα μη γνωρίζοντας φυσικά αν θα τα καταφέρω. Πέρασα από διάφορες καταστάσεις, άλλες ευχάριστες και άλλες δύσκολες. Βίωσα αισιοδοξία, απορίες, σύγχυση, επικοινωνιακή συνεργασία, άγχος, επιπλήξεις, συστηματική προσπάθεια και χαρά δημιουργίας. Τώρα φθάνοντας στην Ιθάκη, κοιτώντας πίσω, διαπιστώνω ότι μέσα από τα κύματα αποκόμισα αρκετές γνώσεις, γνώσεις για τη δομή ενός επιστημονικού συγγράμματος, «πνεύμα συνεργασίας», πειθαρχία και εμπειρία.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά τη Διδάκτορα κ. Χαρούλα Τσούτση για την άμεση παρακολούθηση και το συνεχές ενδιαφέρον για την πορεία της εργασίας σε όλα της τα στάδια.

Ιωάννινα, Μάιος 2013

Μαρία Φ. Βάκουλη



**Ευχαριστώ τους γονείς μου  
για τη συμπαράστασή τους σε όλα μου τα βήματα.**



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup> : ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΟΙΚΟΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ

|        |                                                                                     |    |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1    | Εισαγωγή Περιβαλλοντικής Τοξικολογίας και Οικοτοξικολογίας.....                     | 1  |
| 1.1.1. | Η έννοια της Τοξικότητας.....                                                       | 2  |
| 1.2.   | Βασικοί όροι και έννοιες της τοξικολογίας και της περιβαλλοντικής τοξικολογίας..... | 4  |
| 1.2.1. | Αρχή δόσης – απόκρισης.....                                                         | 4  |
| 1.2.2. | Επίπεδα τοξικής δράσης.....                                                         | 5  |
| 1.2.3. | Παράγοντες που επηρεάζουν την τοξική δράση ουσιών.....                              | 8  |
| 1.3.   | Αναγκαιότητα οικοτοξικολογικών αναλύσεων.....                                       | 11 |
| 1.4.   | ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 1 <sup>ου</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ.....                                         | 13 |

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup> : ΟΙ ΒΑΣΙΚΕΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΡΥΠΩΝ ΣΤΟ ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΟΙ ΤΟΞΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΥΔΡΟΒΙΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ

|          |                                                         |       |
|----------|---------------------------------------------------------|-------|
| 2.1.     | Εισαγωγή.....                                           | 14    |
| 2.1.1.   | Ρύπανση των υδάτων .....                                | 15    |
| 2.1.2.   | Πηγές (αιτίες) ρύπανσης των υδάτων.....                 | 16    |
| 2.2.     | Είδη ρυπαντών στο υδάτινο περιβάλλον.....               | 19    |
| 2.2.1.   | Χημικοί ρύποι στο υδάτινο περιβάλλον.....               | 19-32 |
| 2.2.2.   | Βιολογικοί ρύποι ή ρυπογόνοι οργανισμοί των υδάτων..... | 33-34 |
| 2.2.3.   | Θερμική ρύπανση υδάτων.....                             | 35    |
| 2.3.     | Υδρόβιοι οργανισμοί.....                                | 36    |
| 2.3.1.   | Κατηγορίες υδρόβιων οργανισμών.....                     | 36    |
| 2.3.1.1. | Οι βενθική οργανισμοί.....                              | 37-38 |



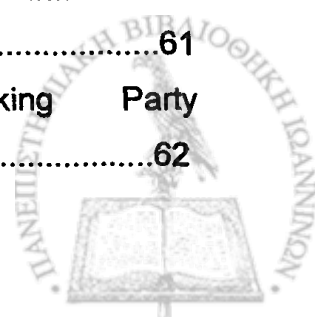
|                                                                                                                                       |       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 2.4. Οδοί πρόσληψης χημικών ουσιών στους υδρόβιους οργανισμούς και παράγοντες που επηρεάζουν τη δράση τους στα υδάτινα συστήματα..... | 39    |
| 2.5.Τοξικές επιδράσεις χημικών ουσιών στους υδρόβιους οργανισμούς.....                                                                | 40-42 |
| 2.6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 2 <sup>ου</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ.....                                                                                      | 43    |

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup> : Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΤΟΞΙΚΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΩΝ ΡΥΠΩΝ ΣΤΟ ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

|                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------|----|
| 3. Εισαγωγή.....                                                         | 45 |
| 3.1. Μέθοδοι Εκτίμησης του Περιβαλλοντικού Κινδύνου Από Κάποιο Ρύπο..... | 45 |
| 3.2. Βιομάρτυρες ή Δείκτες Stress.....                                   | 47 |
| 3.3. Ερμηνεία των βιοδεικτών.....                                        | 49 |
| 3.4. Κριτήρια επιλογής βιοδεικτών.....                                   | 51 |
| 3.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 3 <sup>ου</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ.....                          | 52 |

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup> : Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΓΑ ΤΑ ΝΕΡΑ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.Εκτίμηση της ποιότητας των υδάτων με βιολογικές μεθόδους.....      | 55 |
| 4.2.Η εμφάνιση και εξέλιξη των βιολογικών μεθόδων και δεικτών.....     | 57 |
| 4.3.Πρωτόκολλα δεικτών.....                                            | 59 |
| 4.3.1.Βιοτικός δείκτης Indice Biotico Estesio (IBE).....               | 59 |
| 4.3.2Βιοτικός δείκτης Belgian Biotic Index (BBI).....                  | 61 |
| 4.3.3.Βιοτικός δείκτης Biological Monitoring Working Party (BMWP)..... | 62 |



|                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.3.4.Βιοτικός δείκτης Average Score Per Taxon(ASPT).....                                                         | 63 |
| 4.3.5.Βιοτικός δείκτης Iberian Biological Monitoring Working Party(IBMP ή BMWP).....                              | 64 |
| 4.3.6.Βιοτικός δείκτης Hellenic Evaluation Score (HES).....                                                       | 64 |
| 4.4.Εκτίμηση της ποιότητας των ποταμών με τη χρήση βιοτικών δεικτών.....                                          | 65 |
| 4.5.Τα χαρακτηριστικά ορισμένων υδρόβιων οργανισμών που χρησιμοποιούνται ως βιοτικοί δείκτες σε ρέοντα ύδατα..... | 68 |
| 4.5.1.Μακροασπόνδυλα.....                                                                                         | 68 |
| 4.5.2.Διάτομα.....                                                                                                | 72 |
| 4.5.3.Περίφυτο-άλγη.....                                                                                          | 73 |
| 4.5.4.Υδρόβια φυτά-μακρόφυτα.....                                                                                 | 74 |
| 4.5.5.Ψάρια.....                                                                                                  | 76 |
| 4.6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 4 <sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ.....                                                                   | 79 |

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>Ο</sup> : ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗΣ

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1.Εισαγωγή: Παράμετροι Περιβαλλοντικής Τοξικολογίας και Οικοτοξικολογίας.....                                         | 84 |
| 5.1.1.Βασικές αρχές στα πειράματα προσδιορισμού τοξικότητας.....                                                        | 86 |
| 5.1.2.Νομοθετικό πλαίσιο για τις οικοτοξικολογικές αναλύσεις.....                                                       | 87 |
| 5.1.3.Περιπτώσεις όπου εφαρμόζονται αναλύσεις της Υδατικής Τοξικολογίας.....                                            | 88 |
| 5.2. Πειράματα προσδιορισμού τοξικότητας.....                                                                           | 91 |
| 5.3. Δοκιμασίες της υδατικής τοξικολογίας σε ένα είδος απλού οργανισμού                                                 |    |
| 5.3.1.Πείραμα ακινητοποίησης της <i>Daphnia</i> (24 or 48 hours acute immobilization test) τεστ οξείας τοξικότητας..... | 92 |
| 5.3.2.Πείραμα ελέγχου ακινησίας <i>Thamnocephalus platyurus</i> .....                                                   | 95 |



|                                                                                                                                                        |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.3.3.Πείραμα ακινησίας τροχοζώων <i>Brachionus calicyflorus</i> .....                                                                                 | 96  |
| 5.3.4.Δοκιμασία μακροχρόνιας τοξικότητας με <i>Daphnia magna</i> 21ημερων.....                                                                         | 97  |
| 5.3.5. Δοκιμασία αναπτυξιακής τοξικότητας σε φύκος 96 ωρών ( <i>Algal</i> 96 h growth toxicity test).....                                              | 98  |
| 5.3.6.Τα πειράματα με μύκητες, όπως είναι <i>Sacharomyces cerevisiae</i> .....                                                                         | 100 |
| 5.3.7.Πείραμα αναστολής της βιοφωταύγειας των βακτηρίων <i>Vibrio fischeri</i> Microtox test .....                                                     | 101 |
| 5.3.8.Τα τεστ με τους μικροοργανισμούς <i>Brachionus plicatilis</i> και <i>Artemia franciscana</i> (παλαιότερη ονομασία <i>Artemia salamina</i> )..... | 104 |
| 5.3.9. Δοκιμασία τερατογένεσης σε έμβρυο βατράχου(FETAX).....                                                                                          | 105 |
| 5.3.10. Πειράματα μεταλλάξεων με τα βακτήρια <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Bacillus subtilis</i> .....                                            | 108 |
| 5.3.11. Δοκιμές toxkits.....                                                                                                                           | 109 |
| 5.4.Δοκιμασίες τοξικότητας σε μίγμα διάφορων υδρόβιων οργανισμών (multispecies toxicity tests).....                                                    | 113 |
| 5.4.1. Μέθοδος SAM (Standardized Aquatic Microcosm) τυποποιημένος υδρόβιος μικρόκοσμος.....                                                            | 115 |
| 5.4.2. Δοκιμασία τοξικότητας MFC(Mixed Flask Culture) μικτή καλλιέργεια σε φιάλη.....                                                                  | 118 |
| 5.4.3. Δοκιμασία τοξικότητας του μικρόκοσμου Fifra (food insecticide, fungicide & rodenticide act).....                                                | 120 |
| 5.5. Δοκιμασία οξείας τοξικότητας με υδρόβια μακροασπόνδυλα και σπονδυλωτά (acute toxicity tests with aquatic vertebrates and macroinvertebrates)..... | 121 |
| 5.6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 5 <sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ.....                                                                                                        | 126 |



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6<sup>ο</sup>: ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

|                                                                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 6.1.Εισαγωγή - θαλάσσια ρύπανση και τρόποι της εκτίμησης της.....                                                | 131 |
| 6.1.1.Αιτίες θαλάσσιας ρύπανσης.....                                                                             | 131 |
| 6.1.2.Θαλάσσιοι ρύποι.....                                                                                       | 131 |
| 6.1.3.Επιπτώσεις θαλάσσιας ρύπανσης.....                                                                         | 132 |
| 6.1.4.Εκτίμηση της θαλάσσιας ρύπανσης.....                                                                       | 133 |
| 6.2. Καταλληλότητα των μυδιών ως οργανισμών – βιοενδεικτών σε προγράμματα βιοπαρακολούθησης.....                 | 135 |
| 6.2.1.Τα πλεονεκτήματα των μυδιών.....                                                                           | 135 |
| 6.2.2.Επίδραση αβιοτικών και βιοτικών παραγόντων στους βιοδείκτες οξειδωτικού stress σε μύδια.....               | 137 |
| 6.3.Χαρακτηριστικά γενικής βιολογίας του είδους <i>Mytilus galloprovincialis</i> .....                           | 140 |
| 6.3.1.Εισαγωγή.....                                                                                              | 140 |
| 6.3.2.Κατανομή, Συστηματική Κατάταξη.....                                                                        | 141 |
| 6.3.3.Συσσώρευση βαρέων μετάλλων και οργανικών ρύπων σε ιστούς του μυδιού <i>Mytilus galloprovincialis</i> ..... | 143 |
| 6.3.4.Γενετική και μοριακή σκοπιά του stress.....                                                                | 148 |
| 6.4. Προγράμματα εκτίμησης θαλάσσιας ρύπανσης με μύδια στη Μεσόγειο.....                                         | 153 |
| 6.4.1.Προγράμματα στην Ελλάδα: Σαρωνικός, Θερμαϊκός και Στρυμονικός Κόλπος.....                                  | 153 |
| 6.6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 6 <sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ.....                                                                 | 159 |





## ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΟΙΚΟΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ

## 1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΟΙΚΟΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

Η Τοξικολογία (toxicology) και πιο συγκεκριμένα η ανθρώπινη Τοξικολογία ήταν γνωστή από αρχαιοτάτων χρόνων. Από την εποχή των Αιγυπτίων και πιθανόν και νωρίτερα ο άνθρωπος χρησιμοποιούσε δηλητηριώδεις ουσίες για να απαλλαγεί από εχθρούς και ανεπιθύμητα ζώα (π.χ. ποντίκια) ή ακόμα και για να αυτοκτονήσει.

Η Τοξικολογία είναι η επιστήμη που ασχολείται με τα δηλητήρια, τις τοξικές επιδράσεις των χημικών ουσιών στον ανθρώπινο οργανισμό και την ανίχνευσή τους. Λόγω του μεγάλου αριθμού των δηλητηριωδών ουσιών για τον άνθρωπο αλλά και τα άλλα σπονδυλωτά, η Τοξικολογία αποτελεί έναν ευρύ γνωστικό τομέα που χρησιμοποιεί μεθόδους από τη Βιοχημεία, τη Φαρμακολογία, την Παθολογία και άλλες επιστήμες ενώ συγχρόνως συμβάλλει στο αντικείμενό τους (διάγνωση, θεραπεία και πρόληψη).

Οι εφαρμογές των βασικών αρχών της Τοξικολογίας και των πειραματικών μεθόδων της με έμφαση την περιβαλλοντική ρύπανση δημιούργησαν τις επιστήμες της Περιβαλλοντικής Τοξικολογίας και της Οικοτοξικολογίας. (Εγκυκλοπαίδεια Πάπυρος Λάρους-1996) Όμως, η Οικοτοξικολογία σαν ανεξάρτητη επιστήμη αναπτύχθηκε κατά τις 3-4 τελευταίες δεκαετίες του 20<sup>ου</sup> αιώνα. Η Περιβαλλοντική Τοξικολογία ασχολείται με τα προβλήματα που προκύπτουν από την παρουσία τοξικών χημικών ουσιών στο περιβάλλον, ως αποτέλεσμα κυρίως της ανθρώπινης δραστηριότητας.

Ο όρος Οικοτοξικολογία αποδίδεται στον Truhaut (1977), όταν η έρευνα σχετικά με την επιβλαβή δράση ορισμένων χημικών ουσιών σε ένα μόνο οργανισμό (π.χ. στον άνθρωπο) επεκτάθηκε ώστε να περιλαμβάνει την επίδρασή τους σε διάφορους οργανισμούς και σε ολόκληρα οικοσυστήματα (Newman&Unger -2002 ).



Η Οικοτοξικολογία αναπτύχθηκε ιδιαίτερα όταν σε βιομηχανικές χώρες παρασκευάστηκαν πολλές νέες χημικές ουσίες, που δεν υπήρχαν αρχικά στη φύση. Μάλιστα πολλές από αυτές τις συνθετικές ουσίες είχαν αξιοσημείωτες επιπτώσεις στα οικοσυστήματα ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (Rombke&Moltmann -1996).

### 1.1.1. Η έννοια της τοξικότητας

Με τον όρο τοξικότητα εννοείται η ιδιότητα ή οι ιδιότητες μιας ουσίας (ή δείγματος) να προκαλεί αρνητική επίδραση σε ένα βιολογικό σύστημα. (Laudis&Yu -1999)

Ο Paracelsius (Παράκελσος 1493-1541), Ελβετός ιατρός, αλχημιστής και φιλόσοφος που είναι από τους πρώτους που έβαλε την Τοξικολογία σε επιστημονικές βάσεις, είχε δηλώσει (Timbrell-2000): *«Όλες οι ουσίες είναι δηλητήρια . Δεν υπάρχει καμία που να μην είναι δηλητήριο.» «Η σωστή δόση ξεχωρίζει το φάρμακο από το δηλητήριο»* (Κούγκολος-2007). Η δήλωση αυτή συνδέεται με την βασική θεώρηση ότι μια ουσία προκαλεί βλαβερές συνέπειες όταν η ποσότητα που εισχωρεί σε έναν οργανισμό είναι αρκετά υψηλή (Landis&Yu-1999). Για να εκδηλωθεί το τοξικολογικό αποτέλεσμα μιας ουσίας δεν αρκεί μόνο η παρουσία της στο περιβάλλον του οργανισμού αλλά θα πρέπει να εισέλθει στον οργανισμό από την κατάλληλη οδό, να φτάσει στο όργανο στόχο στην κατάλληλη ποσότητα και να δράσει την κατάλληλη στιγμή. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις δεν παρατηρούνται βλαβερές επιπτώσεις. Μάλιστα σε ορισμένες περιπτώσεις οργανισμοί που εκτίθενται σε χαμηλές δόσεις ρύπων, διεγείρονται και παρουσιάζουν αυξημένους ρυθμούς ανάπτυξης.

Η επιστήμη της Οικοτοξικολογίας λοιπόν, έχει ως αντικείμενο:

- την κατανόηση της κατανομής μιας χημικής ουσίας στη βιόσφαιρα και στους οργανισμούς μετά την έκλυσή της στο περιβάλλον,
- την αλληλεπίδραση της ουσίας με μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη ή ένα άλλο βιολογικό μόριο των οργανισμών,
- και την επίπτωσή της γενικότερα στη λειτουργία του οικοσυστήματος.



Στόχος της Οικοτοξικολογίας είναι η πρόβλεψη και ο περιορισμός των παραγόντων που προκαλούν βλαβερές συνέπειες στο περιβάλλον.

Σημαντικό τμήμα της Οικοτοξικολογίας που αναπτύχθηκε ταχύτατα από το 1970, αποτελεί η **Υδατική Τοξικολογία**. Η Υδατική Τοξικολογία (aquatic toxicology ) είναι το κομμάτι της Οικοτοξικολογίας που ασχολείται με την τοξικότητα ουσιών που βρίσκονται διαλυμένες ή αιωρούνται στα νερά. Οι οργανισμοί που χρησιμοποιούνται ως βιοενδείκτες στην Υδατική Τοξικολογία είναι υδρόβιοι οργανισμοί. (Κούγκολος -2007)

**Κριτήρια για την τοξικότητα** είναι η δόση ή η συγκέντρωση της τοξικής ουσίας. Η δόση της τοξικής ουσίας αναφέρεται στους χερσαίους οργανισμούς και μετριέται σε mg τοξικής ουσίας / Kg βάρους του οργανισμού. Η συγκέντρωση της τοξικής ουσίας στο νερό αναφέρεται στους υδρόβιους οργανισμούς όπως ψάρια, ζωοπλαγκτόν, φυτοπλαγκτόν και μετριέται σε mg τοξικής ουσίας / L διαλύματος ή μg τοξικής ουσίας / L διαλύματος.

Είναι συνηθισμένο η τοξικότητα να ορίζεται χρησιμοποιώντας ως κριτήριο το ποσοστό θνησιμότητας κάποιων οργανισμών. Για παράδειγμα όταν κάποια σημαντική ποσότητα από ένα βαρύ μέταλλο πέσει σε μια λίμνη και αυξήσει τη συγκέντρωση του μετάλλου στο νερό, τότε παρατηρείται θάνατος ψαριών και αυτό δίνει άμεση αίσθηση της τοξικότητας. Ένας οργανισμός όμως μπορεί να υποστεί βλάβες και σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις τοξικών ουσιών, βλάβες οι οποίες δε θα οδηγήσουν στο θάνατο. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η αναπαραγωγική λειτουργία. Σε συγκέντρωση χαμηλότερη από αυτήν που μπορεί να τον σκοτώσει, ο οργανισμός χάνει την ικανότητά του για αναπαραγωγή. Έτσι, ορίζεται ότι **ΤΟΞΙΚΗ** είναι μια δόση ή συγκέντρωση ουσίας που προκαλεί αναστολή σε κάποια φυσιολογική λειτουργία ενός οργανισμού (Κούγκολος -2007).



## 1.2. ΒΑΣΙΚΟΙ ΟΡΟΙ ΚΑΙ ΕΝΝΟΙΕΣ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

Βασικές έννοιες της Περιβαλλοντικής Τοξικολογίας αποτελούν οι θανατηφόροι (π.χ. LC50) και οι υποθανατηφόροι (sub-lethal) δείκτες τοξικότητας που αναφέρονται στη σχέση «δόσης – αποτελέσματος» των χημικών ουσιών στους βιολογικούς οργανισμούς, καθώς και η βιοδιαθεσιμότητα και η βιοσυσσώρευση.

### 1.2.1. Αρχή Δόσης – Απόκρισης

Η σχέση μεταξύ της δοσολογίας και της βιολογικής επίδρασης λέγεται σχέση δόσης – απόκρισης (Laudis και Yu -1999). Οι οργανισμοί εκτίθενται σε διάφορες δόσεις μιας ουσίας ή συγκεντρώσεις μιας ουσίας. Εκτίθενται και μετά προσδιορίζεται η επίδρασή τους. Στη συνέχεια, σχεδιάζεται η γραφική παράσταση της επίδρασης ως προς τη δόση ή ως προς τη συγκέντρωση, η οποία συχνά είναι σιγμοειδής και υπολογίζονται οι δύο χαρακτηριστικές παράμετροι :

1. Η συγκέντρωση ή η δόση που προκαλεί 50% μεταβολή της μετρούμενης παραμέτρου – επίδρασης ( ενδιάμεσο σημείο ).
2. Η κλίση της γραμμικής περιοχής της καμπύλης που περνά από το ενδιάμεσο αυτό σημείο. Το ενδιάμεσο σημείο αναφέρεται ως LC50 ,LD50, EC50 και IC50 :
  - **LC50** (Lethal Concentration-Θανατηφόρα συγκέντρωση): Η συγκέντρωση που προκαλεί θάνατο στο 50% των οργανισμών.
  - **LD50** (Lethal Dose - Θανατηφόρα δόση): Η δόση (ποσότητα της ουσίας που εισέρχεται στους οργανισμούς) που προκαλεί θάνατο στο 50% των οργανισμών.
  - **EC50** (Effective Concentration – Δραστική συγκέντρωση): Η συγκέντρωση που προκαλεί αρνητικές επιδράσεις (όχι θανάτωση) στο 50% των οργανισμών.



- **IC50:** (Inhibitory Concentration - Ανασταλτική συγκέντρωση): Η συγκέντρωση που προκαλεί αναστολή κατά 50% στη φυσιολογική απόκριση ενός οργανισμού. Συνήθως, ο όρος αυτός χρησιμοποιείται όταν μελετάται ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροφυκών και βακτηρίων.

Επιπλέον, η έκθεση ενός οργανισμού σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις ενός ρύπου αυξάνει την αντοχή και την ανεκτικότητα του σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις οπότε μπορεί να παρατηρηθεί μετατόπιση των χαρακτηριστικών δόσεων.

### 1.2.2. Επίπεδα τοξικής δράσης

Η επίδραση ουσιών σε βιολογικά και οικολογικά συστήματα μπορεί να συμβεί στα εξής επίπεδα (Laudis&Yu -1999) :

#### 1. Αλληλεπίδραση σε μοριακό επίπεδο

Η συνεισφορά των φυσικοχημικών ιδιοτήτων μιας ουσίας στην τοξικότητα που προκαλεί ορίζεται ως " ποσοτική σχέση δομής – δράσης" (Quantitative Structure – Activity Relationship, QSAR)

#### 2. Βιοδιαθεσιμότητα

Η βιοδιαθεσιμότητα των χημικών ρύπων είναι μια κρίσιμη παράμετρος η οποία καθορίζει την πρόσληψη των χημικών ρύπων και την τελική συγκέντρωσή τους στους υδρόβιους οργανισμούς.

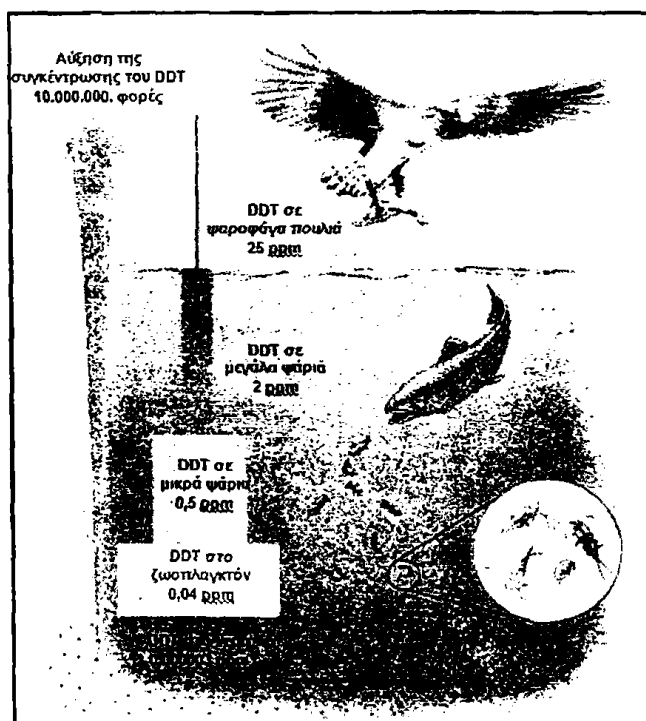
#### 3. Βιοσυσσώρευση (bioaccumulation) ή Βιολογική Μεγέθυνση (bioamplification), (Αλμπάνης Τριαντάφυλλος -2009)

Βιοσυσσώρευση είναι το φαινόμενο κατά το οποίο ορισμένοι χημικοί ρύποι έχουν την ιδιότητα να αθροίζονται – να συσσωρεύονται αυξητικά στους ιστούς των οργανισμών. Δηλαδή, να εμφανίζονται σε συνεχώς αυξανόμενες συγκεντρώσεις καθώς ανεβαίνουμε στην τροφική αλυσίδα των οργανισμών. Η βιοσυσσώρευση οφείλεται κυρίως στη μεγάλη



λιποφιλία – υδροφοβία αυτών των ουσιών. Συγκεκριμένα οι ουσίες που είναι διαλυτές στους οργανικούς διαλύτες (λιπόφιλες) και σχεδόν αδιάλυτες στο νερό (υδρόφοβες) εμφανίζουν τη μεγαλύτερη βιοσυσσώρευση. Αυτό συμβαίνει γιατί οι λιπόφιλες – υδρόφοβες ενώσεις παρουσιάζουν την τάση να διαχέονται στις κυτταρικές μεμβράνες και συνεπώς να επαναρροφώνται σε αντίθεση με τις υδρόφιλες που αποβάλλονται.

Οι ρυπαντές που έχουν τη μεγαλύτερη τάση για βιοσυσσώρευση είναι τα βαρέα μέταλλα, τα χλωριωμένα εντομοκτόνα( DDT, dieldrin, aldrin, lindane κ.α), οι πολυαρωματικοί υδρογονάνθρακες(PAHs) και τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs). Καθώς ανεβαίνουμε την τροφική αλυσίδα οι παραπάνω ρυπαντές δεν αποβάλλονται από τους οργανισμούς, λόγω έλλειψης κατάλληλων βιοχημικών μηχανισμών αλλά συσσωρεύονται στους ιστούς και το αποτέλεσμα είναι η αύξηση των συγκεντρώσεών τους. Στο σχήμα που ακολουθεί δίνεται μια παραστατική εικόνα για τη βιοσυσσώρευση του DDT σε ένα οικοσύστημα.



Σχήμα 1: DDT σε τροφική αλυσίδα

Πηγή: <http://kentsimmons.uwinnipeg.ca/16cm05/1116/54-25-DDTInFoodChain-L.jpg>

### **4. Βιομεταμόρφωση**

Η διαδικασία κατά την οποία οι οργανισμοί αντιστέκονται στις υδρόφοβες ενώσεις με ειδικούς μηχανισμούς οι οποίοι μετατρέπουν τις υδρόφοβες ουσίες σε υδρόφιλες.

### **5. Βιοαποικοδόμηση**

Η διεργασία κατά την οποία μια ουσία διασπάται από τον οργανισμό σε απλούστερες ενώσεις κυρίως σε  $\text{CO}_2$  και  $\text{H}_2\text{O}$ .

### **6. Επίδραση σε συγκεκριμένους υποδοχείς**

### **7. Βιοχημική και μοριακή επίδραση**

Περιλαμβάνεται ένα ευρύ φάσμα επιδράσεων που μπορεί να προκαλέσουν οι ουσίες, όπως αλλαγές στο DNA, καταστροφή του γενετικού υλικού.

### **8. Επίδραση στη φυσιολογία και συμπεριφορά**

Η φυσιολογία και η συμπεριφορά των οργανισμών αποτελούν σημαντικούς δείκτες στην εκτίμηση της κατάστασης της υγείας ενός πληθυσμού κατά την έκθεσή του σε κάποιο περιβάλλον. Ωστόσο, η προέκταση των αποτελεσμάτων από ένα συγκεκριμένο αριθμό οργανισμών σε επίπεδο πληθυσμού ίσως είναι μειονέκτημα. Σ' αυτό το επίπεδο γίνονται μελέτες για βλάβες, ικανότητα αναπαραγωγής, ανάπτυξη όγκων, νέκρωση ιστών και θνησιμότητα.

### **9. Παράμετροι πληθυσμών**

Χρησιμοποιούνται δείκτες όπως η έκταση, η πυκνότητα, η κατανομή του πληθυσμού και οι αλλαγές στα γενετικά χαρακτηριστικά.

### **10. Επίδραση σε κοινότητες οργανισμών**

Ένας από τους δείκτες που χρησιμοποιούνται είναι η αλλαγή της σύνθεσης των βιοκοινωνιών.

### **11. Επίδραση σε οικοσυστήματα**

Μεταβολές στη σύνθεση και μεταβολισμό των ειδών που συναντώνται σε ένα οικοσύστημα είναι καθοριστικές, π.χ. η αύξηση της θερμοκρασίας σε παγκόσμια κλίμακα επηρεάζει την κατανομή των ειδών και διαταράσσει με τον τρόπο αυτό τα οικοσυστήματα.



### 1.2.3. Παράγοντες που επηρεάζουν την τοξική δράση ουσιών

Ο βαθμός συσσώρευσης ενός ρύπου σε ένα οικοσύστημα είναι συνάρτηση πολλών παραγόντων όπως: η ποιότητα του ρύπου, οι ζωντανοί οργανισμοί που υπάρχουν σε αυτό, καθώς και οι περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες λαμβάνει χώρα η αλληλεπίδραση του ρύπου με τους οργανισμούς. Αναλυτικότερα οι παράγοντες που επηρεάζουν την τοξική δράση των ρύπων είναι (Laudis&Yu-1999) :

#### 1 Οι φυσικοχημικές ιδιότητες ρύπων

Η τοξικότητα ενός ρύπου εξαρτάται από τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά όπως: η φυσική του κατάσταση (αέρια, υγρή, στερεή), η διαλυτότητά του στο νερό ή σε οργανικούς διαλύτες, αν είναι οργανική ή ανόργανη ουσία, αν βρίσκεται σε μοριακή ή ιοντική μορφή, η συγκέντρωσή του στο περιβάλλον του οργανισμού και η ποσότητα που περνά στα κέντρα τοξικής δράσης. Η τελευταία είναι πολύ σημαντική και καθορίζει τη βιοδιαθεσιμότητα και την τοξικότητα του ρύπου.

#### 2 Ο χρόνος και ο τρόπος έκθεσης

Ο χρόνος έκθεσης είναι ιδιαίτερα σημαντικός παράγοντας και συνήθως η τοξική επίδραση είναι εντονότερη σε μεγαλύτερους χρόνους αλληλεπίδρασης ρύπου – οργανισμού. Επίσης, η συνεχής έκθεση ενός οργανισμού σε κάποιο ρύπο βλάπτει περισσότερο από την περιοδική έκθεση.

#### 3 Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες

Θερμοκρασία, Υγρασία και Ένταση φωτός.

#### 4 Η συνδυαστική δράση ρύπων

Όταν ένας οργανισμός εκτίθεται σε μίγμα ουσιών η τοξικότητα που προκαλείται είναι διαφορετική από την τοξικότητα που θα αναμενόταν αν ο οργανισμός είχε εκτεθεί σε καθεμία ουσία ξεχωριστά. Έτσι η συνδυαστική δράση μπορεί να είναι συνεργιστική, προσθετική ή ανταγωνιστική δηλαδή η





## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

προκύπτουσα τοξικότητα να είναι μεγαλύτερη, ίση ή μικρότερη από την αναμενόμενη.

Για τον υπολογισμό της αναμενόμενης τοξικότητας έχουν αναπτυχθεί διάφορα μοντέλα, τα οποία στηρίζονται κυρίως στον τρόπο δράσης των χημικών ουσιών του μίγματος. Π.χ. Ο υπολογισμός της τοξικότητας ενός δυαδικού μίγματος ουσιών που δρουν ανεξάρτητα

$$P(C1 + C2) = P(C1) + P(C2) - [P(C1) \cdot P(C2)] / 100$$

Όπου:

$P(C1 + C2)$ : η θεωρητικά αναμενόμενη τοξικότητα του μίγματος των δυο ουσιών.

$P(C1)$ : η επίδραση της μιας ουσίας αν δρούσε μόνη της και σε συγκέντρωση ίση με τη συγκέντρωση του μίγματος και

$P(C2)$ : είναι η επίδραση της δεύτερης ουσίας.

### 5 Οι βιολογικοί παράγοντες

Οι σημαντικότεροι βιολογικοί παράγοντες που επηρεάζουν την απόκριση ενός οργανισμού σε ένα ρύπο είναι: τα γενετικά χαρακτηριστικά του, το φύλο η ανάπτυξή του, η κατάσταση υγείας και η συμπεριφορά του σε καταστάσεις στρες.

### 6 Οι θρεπτικοί παράγοντες

Ο ρόλος της θρέψης στην απόκριση ενός οργανισμού σε κάποιο ρύπο μελετάται τα τελευταία χρόνια. Έχει αποδειχθεί ότι η πρόσληψη πρωτεϊνών αυξάνει την ανθεκτικότητα ενός οργανισμού σε ρύπους, αν και τα φαινόμενα που παρατηρούνται είναι ιδιαίτερα περίπλοκα. Τελευταία, αναπτύχθηκε ο κλάδος της Διατροφικής Τοξικολογίας (nutritional toxicology).

### 7 Η Βιοδιαθεσιμότητα οργανικών και ανόργανων ρύπων

Η βιοδιαθεσιμότητα των ρύπων αποτελεί σημαντικό παράγοντα της τοξικής δράσης τους στους οργανισμούς. Στην περίπτωση των υδάτινων συστημάτων, η Χημεία του  $H_2O$  καθορίζει τη μορφή των χημικών ουσιών που βρίσκονται σε αυτά και κατά συνέπεια τη βιοδιαθεσιμότητά τους.

Για παράδειγμα:



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

- Η τιμή του pH επηρεάζει τη μορφή της αμμωνίας που υπάρχει σε ένα υδατικό διάλυμα εξαιτίας της ισορροπίας :



Η ουδέτερη μορφή της αμμωνίας ( $\text{NH}_3$ ), διαπερνά ευκολότερα την κυτταρική μεμβράνη με αποτέλεσμα να είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμη. Άρα η επίδραση ενός υδατικού διαλύματος αμμωνίας σε έναν οργανισμό θα εξαρτάται και από τα χημικά χαρακτηριστικά του διαλύματος ( Landis&Yu -1999).

- Η τοξική δράση των μετάλλων επηρεάζεται και από τη χημική μορφή τους μέσα σε ένα διάλυμα. Τα κατιόντα των μετάλλων ανταγωνίζονται άλλα κατιόντα σε ενεργές θέσεις συμπλοκοποίησης που διαθέτουν ορισμένα μόρια. Π.χ. οι διαλυμένες οργανικές ενώσεις που συναντώνται σε επιφανειακά νερά ή απόβλητα, όπως τα χουμικά οξέα που σχηματίζουν σύμπλοκα με μέταλλα, με αποτέλεσμα να μεταβάλουν τη βιοδιαθεσιμότητά τους ( Landis&Yu -1999).
- Η κατανομή των μορφών ενός μετάλλου σε ένα διάλυμα εξαρτάται από: τη συγκέντρωση, το pH, τη θερμοκρασία, την ιοντική ισχύ και μπορεί να προβλεφθεί με τη χρήση κατάλληλων μοντέλων (Tipping -1999). Συνήθως θεωρείται ότι η μορφή του ελεύθερου κατιόντος είναι η πιο βιοδιαθέσιμη μορφή ενός μετάλλου. (Landis&Yu -1999)
- Οι οργανικές ενώσεις αλλά και ορισμένα ανόργανα ανιόντα όπως  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{OH}^-$ , σχηματίζουν επίσης σύμπλοκα. Επιπλέον τα μόρια του νερού σχηματίζουν σφαίρες ενυδάτωσης στην περιφέρεια.



### 1.3. ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ ΟΙΚΟΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

Όταν σε ένα εργαστήριο αναλύσεων φθάνουν δείγματα φυσικού νερού ή υγρών αποβλήτων με σκοπό να ελεγχθούν μπορούν να γίνουν σε αυτά τέσσερα είδη αναλύσεων (Κούγκολος -2007):

1. **Φυσικές αναλύσεις**, οι οποίες προσδιορίζουν τις φυσικές ιδιότητες του δείγματος όπως χρώμα, θολρότητα, ολικά στερεά, οσμή κ.λ.π.
2. **Χημικές αναλύσεις**, οι οποίες προσδιορίζουν ποιες χημικές ουσίες βρίσκονται στο δείγμα και σε ποιες συγκεντρώσεις. Με τις χημικές αναλύσεις προσδιορίζουμε μέταλλα όπως: μαγνήσιο, ασβέστιο, σίδηρο, κάδμιο κ.α., ιόντα όπως: νιτρικά, φωσφορικά κ.α., οργανικές ουσίες όπως: έλαια, φαινόλες, οργανοχλωριωμένες ενώσεις κ.λ.π.
3. **Μικροβιολογικές αναλύσεις**, οι οποίες προσδιορίζουν ποιοι μικροοργανισμοί και σε ποιες συγκεντρώσεις υπάρχουν στο δείγμα.
4. **Οικοτοξικολογικές αναλύσεις**, οι οποίες προσδιορίζουν κατά πόσο το συγκεκριμένο δείγμα είναι τοξικό σε κάποιους ευαίσθητους οργανισμούς που χρησιμοποιούνται ως βιοενδείκτες τοξικότητας.

Στα περισσότερα εργαστήρια της Ελλάδας, υπάρχουν βέβαια και οι εξαιρέσεις, γίνονται συνήθως μόνο τα τρία πρώτα είδη των αναλύσεων και σπανιότερα οι οικοτοξικολογικές αναλύσεις. Αυτό δημιουργεί ένα σημαντικό κίνδυνο να υπάρχουν σε κάποια νερά τοξικές ουσίες σε επικίνδυνες συγκεντρώσεις και να μην ανιχνευθούν. Κάποιοι πιστεύουν ότι οι τοξικές ουσίες ανακαλύπτονται από τις χημικές αναλύσεις. Αυτό όμως δεν είναι εύκολο για τους παρακάτω λόγους:

- Με τις χημικές αναλύσεις ανιχνεύει κανείς μόνο τις χημικές ουσίες που «ψάχνει».
- Κάθε χημική ανάλυση για κάθε μια ουσία είναι ξεχωριστή.
- Ο αριθμός των χημικών ουσιών που υπάρχουν είναι πολύ μεγάλος.

Ουσιαστικά, με τις χημικές αναλύσεις που πραγματοποιούνται στα φυσικά νερά και στα απόβλητα ανιχνεύονται μόνο 10 – 20 γνωστά και συνηθισμένα μέταλλα ή ιόντα.



Έστω, ότι στο νερό ενός πηγαδιού έχει πέσει κάποιο εντομοκτόνο, το οποίο βιοδιασπάται αργά. Αν γίνει μια χημική ανάλυση που δεν «ψάχνει» αυτό το συγκεκριμένο εντομοκτόνο, δεν πρόκειται να το βρει. Ενώ αν γίνει, οικοτοξικολογική ανάλυση επίσης δε θα «βρει» το συγκεκριμένο εντομοκτόνο, αλλά θα αποδείξει ότι το συγκεκριμένο νερό είναι τοξικό για τον άνθρωπο και έτσι θα ξέρουμε ότι δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί.

Άρα, οι οικοτοξικολογικές αναλύσεις είναι αναγκαίες και πρέπει να γίνονται συμπληρωματικά προς τις χημικές αναλύσεις για τους εξής λόγους:

1. Είναι τεχνικά και οικονομικά αδύνατον σε ένα δείγμα νερών ή αποβλήτων να γίνει μεγάλος αριθμός αναλύσεων. Οι οικοτοξικολογικές αναλύσεις μπορούν να δείξουν ποια δείγματα είναι τοξικά και στη συνέχεια να κάνουμε περισσότερες αναλύσεις μόνο στα τοξικά δείγματα για να ανακαλυφθεί η τοξική ουσία.
2. Οι χημικές αναλύσεις αποδεικνύουν ότι υπάρχουν συγκεκριμένες τοξικές ουσίες σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις, ενώ οι οικοτοξικολογικές αναλύσεις δίνουν το αποτέλεσμα που έχει η παρουσία των τοξικών ουσιών στους ζωντανούς οργανισμούς.
3. Όταν συνδυάζονται δύο τοξικές ουσίες, σε σχετικά μικρές συγκεντρώσεις είναι πιθανό η μία να επιτείνει το τοξικό αποτέλεσμα της άλλης και η συνολική επίδραση του δείγματος να είναι ιδιαίτερα τοξική (συνεργιστική δράση). Όταν συμβαίνει αυτό οι χημικές αναλύσεις είναι αδύνατο να το προβλέψουν ενώ οι οικοτοξικολογικές το βρίσκουν πάντα.
4. Διαφορετικοί οργανισμοί, όπως φύκη, ψάρια, μαλάκια, ζωοπλαγκτόν έχουν διαφορετική ευαισθησία. Χρειάζεται λοιπόν μια σειρά πειραμάτων με διαφορετικούς οργανισμούς, ώστε να διαπιστωθεί η τοξικότητα κάποιου δείγματος.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 1<sup>ου</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ:

### Ξένα Βιβλιογραφία:

Landis W.G., Yu M.H., 1999. Introduction to Environmental Toxicology impacts of chemicals upon ecological systems. 2<sup>nd</sup> Edition Lewis Publishers, Florida.

Newman M.C., Unger M.A., 2002. Fundamentals of Ecotoxicology 2<sup>nd</sup> Edition Lewis Publishers, Florida.

Rombke J., Moltmann J.F., 1996. Applied Toxicology. Lewis Publishers, Florida.

Walker CH., Hopkin SP., Sibly RM., Peakall DB., 1997. Principles of Ecotoxicology. Taylor and Francis, London.

### Ελληνική Βιβλιογραφία:

Αλμπάνης Τριαντάφυλλος, 2009. Ρύπανση και Τεχνολογίες Προστασίας Περιβάλλοντος. Εκδόσεις Τζιόλα.

Εγκυκλοπαίδεια PAPYROS LAROUS BRITTANICA , 1996.

Κούγκολος Γ. Αθανάσιος, 2007. Εισαγωγή στην Περιβαλλοντική Μηχανική. Εκδόσεις Τζιόλα.

### Ηλεκτρονικές Πηγές:

<http://kentsimmons.uwinnipeg.ca/16cm05/1116/54-25> DDTInFoodChain-L.jpg



## 2. ΟΙ ΒΑΣΙΚΕΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΡΥΠΩΝ ΣΤΟ ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ & ΟΙ ΤΟΞΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΥΔΡΟΒΙΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ

### 2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το νερό αποτελεί σημαντικό συστατικό για την ανάπτυξη και συντήρηση ενός οργανισμού και συμμετέχει σε αρκετές διεργασίες. Αποτελεί το μέσο διάχυσης και λαμβάνει μέρος σε όλες τις βιοχημικές αντιδράσεις. Είναι ο πολυτιμότερος φυσικός πόρος του πλανήτη και με την ηλιακή ακτινοβολία αποτελούν τους ακρογωνιαίους λίθους στους οποίους στηρίζεται η ύπαρξη της ζωής.

Το νερό υπάρχει σε αφθονία και καλύπτει το 70% της επιφάνειας της γης. Ωστόσο το μεγαλύτερο ποσοστό του νερού υπάρχει σε μορφές που δεν είναι άμεσα διαθέσιμες στον άνθρωπο και μάλιστα είναι άνισα κατανεμημένο. Το 97.13% του νερού της γης κατανέμεται στους ωκεανούς, στις πολικές περιοχές 2.24%, σε υπόγειους υδροφόρους ορίζοντες 0.61% και σε επιφανειακούς υδροφόρους ορίζοντες (λίμνες και ποτάμια) είναι το 0.02%. ([www.ypeka.gr](http://www.ypeka.gr))

Η ιστορία και η εξέλιξη του ανθρώπου πάντα συνδεόταν με τη διαχείριση του νερού. Είναι χαρακτηριστικό ότι οι πρώτοι πολιτισμοί αναπτύχθηκαν κοντά σε μεγάλα ποτάμια, όπως: ο Αιγυπτιακός στον Νείλο, ο Περσικός στη Μεσοποταμία (Τίγρης – Ευφράτης). Ενώ είναι ευρέως γνωστή η αξία του νερού και των υδάτινων οικοσυστημάτων (ωκεανοί, θάλασσες, λίμνες, λιμνοθάλασσες, ποτάμια, χείμαρροι, παράκτιες περιοχές, υγρότοποι, υπόγεια νερά) για τους οργανισμούς και τα οικοσυστήματα, ωστόσο η διαχείριση της ποσότητας και της ποιότητας του νερού από τον άνθρωπο δεν ήταν πάντα η καλύτερη δυνατή. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα η διαθεσιμότητα του καθαρού νερού να μειώνεται συνεχώς και πολλά είδη εξαφανίζονται λόγω της ρύπανσης των υδάτων. (Κούγκολος-2007)



### 2.1.1 Ρύπανση των υδάτων

**Ρύπανση υδάτων** ονομάζεται κάθε μεταβολή στις φυσικές, χημικές και βιολογικές παραμέτρους του νερού (θαλασσών, λιμνών κ.ά.), η οποία διαταράσσει τη λειτουργία των υδάτινων οικοσυστημάτων και προκαλεί δυσμενείς επιδράσεις στους βιολογικούς οργανισμούς.

**Η ρύπανση των υδάτων συνδέεται με:**

- την απελευθέρωση χημικών ουσιών στα υδάτινα συστήματα οι οποίες διαλύονται ή αιωρούνται στο νερό ή καθιζάνουν στο βυθό,
- την απελευθέρωση ενέργειας υπό μορφή ραδιενέργειας ή θερμότητας και
- την απελευθέρωση παθογόνων μικροοργανισμών στα νερά.

Σε φυσιολογικές συνθήκες οι χημικές ουσίες διαχέονται και έχουν μικρή ή καμία επίδραση στους οργανισμούς της υδάτινης μάζας, στην οποία απελευθερώνονται. Επίσης, τα οργανικά υλικά αποικοδομούνται από μικροοργανισμούς και μετατρέπονται σε άλλα χρήσιμα για την υδρόβια ζωή. Η ικανότητα αυτοκαθαρισμού του νερού στηρίζεται σε βιολογικές διαδικασίες και δεν είναι απεριόριστη. Αν η ικανότητα του νερού να διαλύει, να διαχέει, να αποικοδομεί ή να ανακυκλώνει ξεπεραστεί τότε όλες οι επιπρόσθετες ουσίες ή ποσότητες ενέργειας μετατρέπονται σε ρύπους. (Πάπυρος Larous Brittanica)

**Οι βασικότερες επιπτώσεις της ρύπανσης των υδάτων είναι :**

- η αισθητική υποβάθμιση του υδάτινου περιβάλλοντος
- οι δυσμενείς επιπτώσεις στην ποιότητα του ύδατος
- η καταστροφή του φυσικού περιβάλλοντος των υδρόβιων οργανισμών
- οι τοξικές επιδράσεις στην υγεία των υδρόβιων οργανισμών, οι οποίες μπορεί να είναι οξείες και υποξείες και κατ' επέκταση μέσω της τροφικής αλυσίδας στην υγεία των ανθρώπων.



## 2.1.2.Πηγές (αιτίες) ρύπανσης των υδάτων

Οι πηγές ρύπανσης διακρίνονται σε **σημειακές** και **μη σημειακές** πηγές.

**Σημειακή** θεωρείται μια μεμονωμένη πηγή ρύπανσης από την οποία διαχέονται ρύποι, για παράδειγμα σωλήνες, τάφροι, σκάφη, καμινάδες εργοστασίων.

Οι **μη σημειακές πηγές** ρύπανσης εντοπίζονται δύσκολα και κατά συνέπεια η ρύπανση που προκαλούν είναι πιο δύσκολο να αντιμετωπισθεί (δρόμοι, χώροι στάθμευσης αυτοκινήτων, γεωργικές περιοχές, μεταλλευτικές περιοχές).

Επίσης, οι πηγές ρύπανσης μπορούν να διακριθούν σε φυσικές και ανθρωπογενείς πηγές.

### 1.Φυσικές πηγές ρύπανσης

Η ρύπανση από τις φυσικές πηγές προκαλείται κυρίως από την **αποσάθρωση του εδάφους** μέσω της επαφής του με τη γήινη ατμόσφαιρα και τη **διάβρωση του εδάφους** (απομάκρυνση υλικού) από την κίνηση του ανέμου και του νερού ή από ζωντανούς οργανισμούς. Με τα νερά των βροχών παρασύρονται μεγάλες ποσότητες οργανικού και ανόργανου υλικού και διαβρώνονται τα εδάφη και οι όχθες των ποταμών δημιουργώντας συνθήκες που υποβαθμίζουν την υδρόβια ζωή. Με την κίνηση του υπόγειου νερού μεταφέρεται μια ποικιλία χημικών συστατικών από το επιφανειακό νερό και από τους γεωλογικούς σχηματισμούς, τα οποία καταλήγουν και επηρεάζουν το υδάτινο οικοσύστημα. Οι **πυρκαγιές των δασών** και οι **εκρήξεις ηφαιστείων** δημιουργούν κυρίως αιωρούμενα σωματίδια με τοξικούς ρύπους. Η **βιολογική αποσύνθεση των ζωντανών οργανισμών** μπορεί να απελευθερώσει αμμωνία και υδρόθειο. Οι φυσικές πηγές έχουν συνήθως μικρή επίδραση σε υδάτινα οικοσυστήματα, γιατί τα επίπεδα των ρυπαντών είναι συνήθως μικρά. Επίσης, όταν υπάρχουν σημαντικά επεισόδια φυσικής ρύπανσης είναι παροδικά. (Αντωνόπουλος 2001)





### 2.Ανθρωπογενείς πηγές ρύπανσης

Αυτές διακρίνονται σε γεωργικές, αστικές και βιομηχανικές.

**Γεωργικές πηγές:** Οι πηγές ρύπανσης της κατηγορίας αυτής περιλαμβάνουν κυρίως τα χημικά λιπάσματα (θρεπτικά συστατικά αζώτου και φωσφόρου), τα φυτοφάρμακα, πιθανά τοξικά παράγωγα των καλλιεργειών καθώς και τα απόβλητα των ζώων. Τα θρεπτικά συστατικά των χημικών λιπασμάτων και τα φυτοφάρμακα που εφαρμόζονται στο έδαφος καθώς και οι παθογόνοι μικροοργανισμοί και η οργανική ύλη, που συνδέεται με τα απόβλητα των ζώων από κτηνοτροφικές εγκαταστάσεις, παρασύρονται άμεσα από τα νερά των βροχοπτώσεων και των χιονοπτώσεων προς τους ποταμούς ή έμμεσα διαμέσου των στραγγιστικών δικτύων ή μέσω της ρύπανσης των υπόγειων υδάτων.

**Αστικές πηγές:** Οι πηγές αυτές περιλαμβάνουν κυρίως τα υγρά επεξεργασμένα ή ανεπεξεργαστα απόβλητα των αστικών περιοχών, που φτάνουν στα υδάτινα συστήματα είτε δια μέσου των υπονόμων είτε με την ελεύθερη επιφανειακή απορροή. Ακόμα και τα υγρά λύματα των εγκαταστάσεων επεξεργασίας αποβλήτων μπορεί να περιέχουν χημικά, θρεπτικά συστατικά και άλλους ρυπαντές. Η αυθαίρετη εναπόθεση σκουπιδιών μπορεί να οδηγήσει στην απορροή σημαντικών ρυπαντών σε ποταμούς. Η σύνθεση των αστικών λυμάτων εξαρτάται από πολλούς παράγοντες μεταξύ των οποίων είναι ο χωρισμός ή όχι του συστήματος των υπονόμων, η εισροή ή όχι βιομηχανικών λυμάτων, η γεωγραφική θέση του οικισμού, η οικονομία και ο τρόπος ζωής των κατοίκων και διάφοροι χρονικοί παράγοντες.



**Βιομηχανικές πηγές:** Οι πηγές αυτές περιλαμβάνουν κυρίως ανεπεξέργαστα απόβλητα που προέρχονται από τη βιομηχανική δραστηριότητα. Τέτοια λύματα μπορεί να προέρχονται από τις διαδικασίες παραγωγής προϊόντων (πλύσιμο προϊόντων, απομάκρυνση υποπροϊόντων και αποβλήτων), τις δραστηριότητες υγιεινής των εργαζομένων και καθαρισμού των χώρων (πλύσιμο και καθάρισμα των συσκευών και των χώρων της βιομηχανίας). Τα παραπάνω υγρά απόβλητα μπορεί να διαφέρουν σημαντικά τόσο μεταξύ όσο και εντός των βιομηχανικών δραστηριοτήτων. Η επίδρασή τους στα υδάτινα οικοσυστήματα μπορεί να είναι σημαντική όχι τόσο από τα συλλογικά τους χαρακτηριστικά, όπως τα αιωρούμενα στερεά, αλλά κυρίως από την περιεκτικότητά τους σε επιβλαβείς ανόργανες και οργανικές ουσίες.



## 2.2. ΕΙΔΗ ΡΥΠΑΝΤΩΝ ΣΤΟ ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Τα βασικότερα είδη των ρυπαντών που εισέρχονται στο υδάτινο περιβάλλον είναι οι χημικοί ρύποι ή ρυπογόνες ουσίες και οι βιολογικοί ρύποι ή ρυπογόνοι οργανισμοί.

### 2.2.1 Χημικοί ρύποι στο υδάτινο περιβάλλον

Στους χημικούς ρύπους ανήκουν :

#### 2.2.1.α Βαρέα Μέταλλα και μεταλλοειδή

Βαρέα μέταλλα χαρακτηρίζονται τα μέταλλα με ειδικό βάρος μεγαλύτερο του Fe. Ορισμένα βαρέα μέταλλα είναι απαραίτητα για τη ζωή αλλά σε πολύ μικρές ποσότητες όπως: χαλκός (Cu), μαγγάνιο (Mn), κοβάλτιο (Co) (ιχνοστοιχεία ή ολιγοστοιχεία). Έτσι η έλλειψή τους προκαλεί στους οργανισμούς διάφορες παθήσεις ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις γίνονται τοξικά και επιβλαβή. Μερικά βαρέα μέταλλα όχι μόνο δεν είναι απαραίτητα αλλά είναι τοξικά και επικίνδυνα για τους οργανισμούς σε οποιαδήποτε συγκέντρωση όπως ο μόλυβδος (Pb), το κάδμιο (Cd) και ο υδράργυρος (Hg).

Τοξικά είναι και ορισμένα μεταλλοειδή στοιχεία όπως αρσενικό-As, σελήνιο-Se, τελλούριο-Te και αντιμόνιο-Sb.

Τα τοξικά βαρέα μέταλλα και μεταλλοειδή θεωρούνται από τους πιο επικίνδυνους ρύπους, γιατί δεν αποικοδομούνται, όπως οι οργανικές ενώσεις. (Αλμπάνης Τριαντάφυλλος – 2009).



**Τα Βαρέα Μέταλλα στο υδάτινο περιβάλλον μπορούν να προέρχονται από: (Κουϊμτζής Θεμιστοκλής -1997)**

### Φυσικές πηγές μη σημειακές

Φυσικές διεργασίες όπως η αποσάθρωση και η διάβρωση των πετρωμάτων, η σήψη των φυτών, τα κατάλοιπα των ζώων, τα αερομεταφερόμενα μόρια της ηφαιστειακής δραστηριότητας, ο καπνός της δασικής πυρκαγιάς, τα εκκρίματα των φυτών κλπ απελευθερώνουν συχνά βαρέα μέταλλα στα υδάτινα οικοσυστήματα και στον αέρα. Λόγω των φυσικών πηγών τα φυσικά επιφανειακά νερά περιέχουν πάντοτε ίχνη μετάλλων.

### Ανθρωπογενείς πηγές μη σημειακές

Οι επιφανειακές απορροές από μεταλλεία και μεταλλευτικές δραστηριότητες έχουν συνήθως χαμηλό pH και περιέχουν υψηλά επίπεδα μετάλλων όπως ο σίδηρος, το μαγγάνιο, ο ψευδάργυρος, ο χαλκός, το νικέλιο και το κοβάλτιο. Η καύση των φυσικών καυσίμων ρυπαίνει την ατμόσφαιρα με σύμπλοκα μετάλλων που στη συνέχεια εναποτίθενται στην επιφάνεια του εδάφους. Οι απορροές με τα νερά των βροχών σε αστικές περιοχές περιέχουν συχνά μέταλλα από τους δρόμους και την ατμοσφαιρική σκόνη. Οι γεωργικές δραστηριότητες με τη χρήση λιπασμάτων (υψηλών συγκεντρώσεων σε μέταλλα), φυτοφαρμάκων, ξηρών ουσιών, συντηρητικών, μπορούν να οδηγήσουν σε αύξηση των συγκεντρώσεων σε υδάτινα οικοσυστήματα μέσω της απορροής.

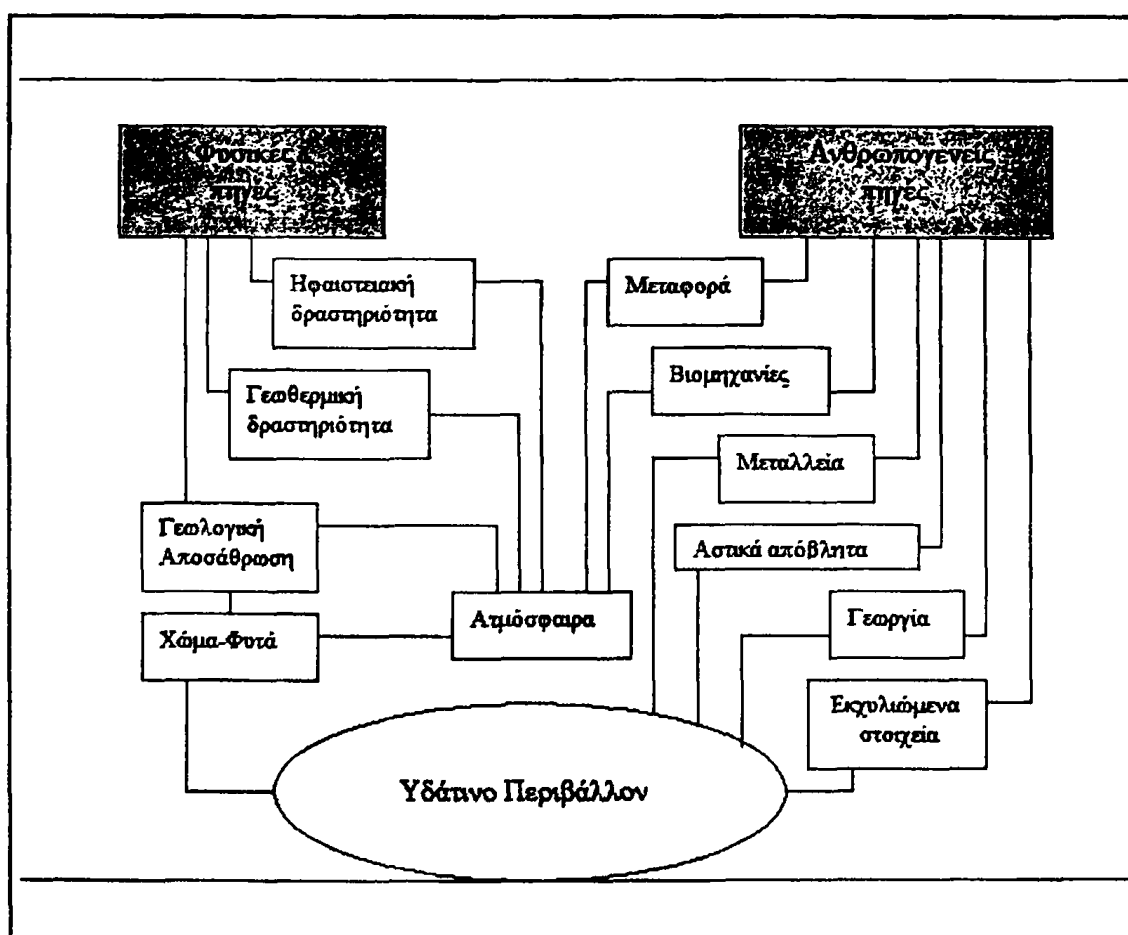
### Ανθρωπογενείς πηγές σημειακές

Στα απόβλητα των αποχετεύσεων περιέχονται μέταλλα από μεταβολικά απόβλητα, διαβρώσεις των υδροσωλήνων και καταναλωτικά προϊόντα. Βιομηχανικά απόβλητα και λάσπη αποβλήτων από πολλούς τομείς της βιομηχανικής δραστηριότητας που σχετίζονται με τη χρήση μετάλλων (μεταλλουργίας και κατασκευής μεταλλικών αντικειμένων, ηλεκτρονικών,



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

χρωμάτων και χρωστικών, υφασμάτων, χάρτου κλπ.) αυξάνουν το φορτίο των μετάλλων σε υδάτινα οικοσυστήματα. Αγροτικά απόβλητα όπως τα απορρίμματα χοίρων και πουλερικών, οι κοπριές και τα λύματα αλλά και η αποτέφρωση αστικών και μη αποβλήτων (διαρροές, ατμοσφαιρική καθίζηση, διάβρωση των αποβλήτων) οδηγούν στην ρύπανση των επιφανειακών υδάτων με βαρέα μέταλλα. Τα βαρέα μέταλλα στα επιφανειακά νερά μπορούν να βρεθούν είτε ως διαλυμένα ή ως δεσμευμένα σε μικροσωματίδια υδροξειδίων, οξειδίων κλπ.



Σχήμα 1 Πηγές των ιχνοστοιχείων στα υδάτινα οικοσυστήματα (J. Gaillardet, J. Viers and B. Dupre, Treatise on Geochemistry, Vol. 5, 225-272, 2003).

### 2.2.1.β Ανόργανες ενώσεις

Από τις ανόργανες ενώσεις ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αμμωνιακά, τα φωσφορικά και τα νιτρικά άλατα. Αυτά περιέχονται στα βασικά λιπάσματα, στα υγρά απόβλητα και σε πολλά απορρυπαντικά. Οπότε εισέρχονται στο υδάτινο περιβάλλον με την έκπλυση των αγρών και με τα αστικά και βιομηχανικά λύματα .

Τα παραπάνω άλατα χαρακτηρίζονται ως θρεπτικά γιατί τα χρησιμοποιούν στη φωτοσύνθεση οι αυτότροφοι οργανισμοί των υδάτινων οικοσυστημάτων (κυρίως τα άλγη, δηλαδή φυτοπλαγκτόν και φύκη). Όταν βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις δημιουργούν θρεπτική ρύπανση – ευτροφισμό.

#### Ευτροφισμός

Η παρουσία μεγάλων συγκεντρώσεων σε θρεπτικά άλατα στα φυσικά νερά και κυρίως στα αβαθή ανατρέπει τη φυσιολογική ροή της τροφικής αλυσίδας και οδηγεί σε ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των αλγών και ανώτερων υδρόβιων φυτικών οργανισμών. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται ευτροφισμός. Η παραγωγή του οξυγόνου χάρη στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης αυξάνεται στην αρχή του ευτροφισμού αλλά στη συνέχεια το οξυγόνο μειώνεται γιατί κατά τον θάνατο αυτών των οργανισμών τα βακτήρια που αποσυνθέτουν το φυτικό υλικό καταναλώνουν ένα μεγάλο μέρος του διαλυμένου οξυγόνου. Από ένα ορισμένο κατώφλι και μετά, το οξυγόνο αρχίζει να εκλείπει και τα οργανικά υλικά που προέρχονται από τα νεκρά φυτά δεν μπορούν να διασπαστούν και συγκεντρώνονται στο βυθό με μορφή ιλύος (λάσπης). Τότε συμβαίνουν αναερόβιες ζυμώσεις και παράγεται υδρόθειο το οποίο προσδίδει μια οσμή σήψης σε ορισμένα νερά. Στο στάδιο αυτό το οξυγόνο που είναι διαλυμένο στο νερό είναι ελάχιστο και δεν μπορεί να διατηρήσει φυσιολογικό αριθμό ψαριών. Παθαίνουν ασφυξία και πεθαίνουν ακόμη και ψάρια που απαιτούν λίγο οξυγόνο όπως οι κυπρίνοι (γριβάδια) και εξαφανίζονται. (Αλμπάνης Τριαντάφυλλος-2009)



Επίσης, λόγω του ευτροφισμού συχνά στην επιφάνεια των υδάτων πολλαπλασιάζονται ορισμένα είδη φυκών (νηματώδη φύκη) τα οποία παράγουν οξυγόνο, που δημιουργεί υπερκορεσμό σ' αυτό το επίπεδο, όμως εμποδίζουν την διείσδυση του φωτός και την απορρόφηση του οξυγόνου από τα βαθύτερα επίπεδα. Έτσι ο βυθός είναι στερημένος από οξυγόνο και η νεκρή οργανική ύλη παραμένει αδιάσπαστη. Μερικές φορές στην επιφάνεια πολλαπλασιάζονται κυανοφύκη που παράγουν τοξικές ουσίες οι οποίες βάφουν κόκκινα τα νερά και θανατώνουν μεγάλο μέρος της πανίδας.

Στην ουσία όλες οι λίμνες απειλούνται από τον ευτροφισμό και μερικές έχουν γίνει νεκρές ως προς τη ζωή των ψαριών π.χ. οι μεγάλες λίμνες της βορειοανατολικής Αμερικής. Στην Ελλάδα από ευτροφισμό κινδυνεύουν οι λίμνες Ιωαννίνων, Καστοριάς, Κορώνειας και Πρεσπών. Όμως η κατάσταση μπορεί να αντιστραφεί. (Πάπυρος Larous Britannica)

Στο 29<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών που διεξήχθη στην Καβάλα το Μάη του 2007, ο Κατσιάπης και οι συνεργάτες του, αναφέρθηκαν στην Επίδραση Διαταραχών στο Φυτοπλαγκτόν της Λίμνης Καστοριάς.

Η σύνθεση και η διαδοχή του φυτοπλαγκτού σε μια λίμνη επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από την επίδραση φυσικών ή ανθρωπογενών διαταραχών. Στην εύτροφη Λίμνη Καστοριάς, η οποία από παλιά χαρακτηρίζεται από επικράτηση κυανοβακτηρίων καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, διερευνήθηκαν οι μεταβολές στη σύνθεση και τη διαδοχή των ειδών του φυτοπλαγκτού κατά τη διάρκεια της θερινής περιόδου του έτους 2005. Η ποικιλότητα ειδών φυτοπλαγκτού ήταν υψηλή και οι διακυμάνσεις της συνολικής βιομάζας έντονες, ενώ για πρώτη φορά στη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας παρατηρήθηκαν να επικρατούν και άλλες ομάδες του φυτοπλαγκτού πλην των κυανοβακτηρίων, όπως τα χλωροφύκη και τα διάτομα. Η υψηλή συχνότητα βροχοπτώσεων και η ελεγχόμενη απομάκρυνση νερού από τη λίμνη με τη μορφή διαταραχής, φαίνεται ότι οδήγησαν σε καθυστερημένη εμφάνιση και επικράτηση των κυανοβακτηρίων. Επίσης, είδη όπως τα *Limnothrix redekei* και *Cylindrospermopsis raciborskii* τα οποία ήταν κυρίαρχα στο φυτοπλαγκτόν της λίμνης κατά τη διάρκεια της θερινής περιόδου τα προηγούμενα έτη, δεν



παρατηρήθηκαν. Ωστόσο το κυρίαρχο από τα κυανοβακτήρια είδος *Microcystis aeruginosa* εξακολουθεί να σχηματίζει άνθιση νερού στη λίμνη. Η απομάκρυνση νερού από τη λίμνη με τη μορφή διαταραχής σε περιόδους κρίσιμες για την αύξηση του φυτοπλαγκτού, φαίνεται να αποτελεί καλό διαχειριστικό εργαλείο στα πλαίσια αποκατάστασης της λίμνης. Παρόλα αυτά, η βελτίωση στην οικολογική κατάσταση της λίμνης τη συγκεκριμένη περίοδο μπορεί να είναι προσωρινή και περιορισμένη λόγω της αύξησης ανθεκτικών στην έκπλυση κυανοβακτηρίων, όπως το κυανοβακτήριο *Microcystis aeruginosa*.

**Δηλαδή οι λίμνες μπορούν να αναζωογονηθούν σε μικρή κλίμακα εάν παρθούν άμεσα μερικά μέτρα αντιμετώπισης όπως:**

1. Τεχνητή οξυγόνωση νερού.
2. Απομάκρυνση των αλγών ώστε να αποικοδομηθούν έξω από τη λίμνη και να μη καταναλώσουν το πολύτιμο οξυγόνο της .
3. Περιορισμός ή αντικατάσταση των φωσφορικών ενώσεων στα απορρυπαντικά. Τα φωσφορικά υπάρχουν στα περισσότερα απορρυπαντικά και παίζουν τον ρόλο του αποσκληρυντικού. Υπάρχουν απορρυπαντικά που χρησιμοποιούν αποσκληρυντικά χωρίς φώσφορο. Οι καταναλωτές πολλών χωρών έχουν ανεπτυγμένη οικολογική συνείδηση και αγοράζουν απορρυπαντικά χωρίς φωσφόρο. Στην Ελλάδα δυστυχώς η ενημέρωση και η ευαισθησία είναι ελλιπής. Τα σαπούνια για παράδειγμα «Αρκάδι» δεν περιέχουν φώσφορο. (Κούγκολος Αθ.-2007)
4. Χρήση λιπασμάτων με μέτρο, για να περιοριστούν τα θρεπτικά άλατα. Τις περισσότερες φορές οι αγρότες οδηγούνται σε κατάχρηση λιπασμάτων, θεωρώντας έτσι ότι θα αυξηθεί η γεωργική παραγωγή. Από την άλλη, η καλλιέργεια με βιολογικές μεθόδους, με χρήση κοπριάς και χωρίς λιπάσματα και φυτοφάρμακα μπορεί να αυξήσει την τιμή των γεωργικών προϊόντων.





## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

5. Απομάκρυνση της ιλύος από το βυθό.
6. Καθαρισμός όλων των λυμάτων που δέχονται οι λίμνες.
7. Δημιουργία καναλιών γύρω από τις ευτροφικές λίμνες
8. Προσθήκη ειδικών φυτοφάγων ψαριών στη λίμνη για να μειωθεί η βιομάζα της. Η μέθοδος αυτή εφαρμόστηκε στη λίμνη των Ιωαννίνων με ικανοποιητικά αποτελέσματα. Όμως υπήρξαν και παρενέργειες, διαταράχτηκε η ισορροπία των υδρόβιων οργανισμών και επικράτησαν τα εισαγόμενα ψάρια. (Κούγκολος Αθ.-2007)
9. Προσθήκη καθαρού νερού (φτωχού σε θρεπτικά συστατικά) στη λίμνη. Στη λίμνη Κορώνεια μελετάται η μεταφορά νερού από τον Αξιό ή τον Στρυμόνα ποταμό. Όμως η μέθοδος αυτή έχει τεράστιο κόστος και μπορεί να διαταράξει την οικολογική ισορροπία στο δέλτα του ποταμού απ' όπου θα μεταφερθεί το νερό. (Κούγκολος Αθ.-2007)
10. Περιορισμός των αποβλήτων που δέχονται οι λίμνες.  
Για παράδειγμα, η λίμνη των Ιωαννίνων αποκαταστάθηκε μερικώς αφαιρώντας μια πηγή ρύπανσης (υπόνομοι). (Αλμπάνης Τρ.-2009)



### 2.2.1.γ Αιωρούμενα στερεά

Στα φυσικά νερά (λίμνες, ποτάμια, θάλασσες) καταλήγουν μεγάλες ποσότητες αιωρούμενων στερεών που προέρχονται κυρίως από την αποσάθρωση του εδάφους και των πετρωμάτων και σε μικρότερο βαθμό από τα βιομηχανικά και αστικά λύματα .

Τα αιωρούμενα στερεά έχουν πολύ μικρή διάμετρο 0,1 – 10μm και προσδιορίζονται μετά από διήθηση σε ειδικούς ηθμούς που έχουν την ικανότητα της κατακράτησης.

Τα κυριότερα προβλήματα που δημιουργούν τα αιωρούμενα στερεά στα φυσικά νερά είναι : (Αλμπάνης Τριαντάφυλλος -2009)

- Μειώνουν τη διαπερατότητα του φωτός με αποτέλεσμα την μείωση της φωτοσύνθεσης.
- Μεταφέρουν διάφορες τοξικές ουσίες τις οποίες έχουν προσροφήσει.
- Βλάπτουν τους υδρόβιους οργανισμούς.

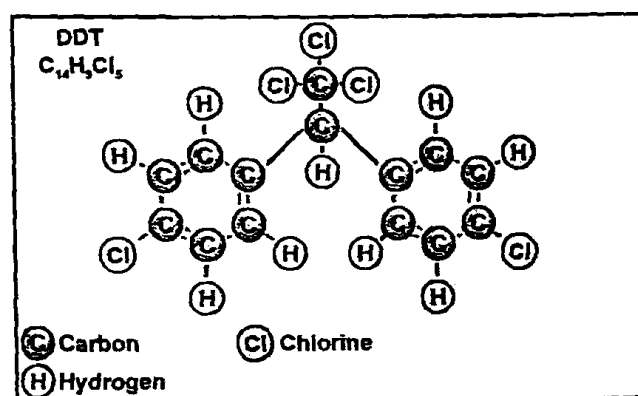
### 2.2.1.δ Συνθετικές Οργανικές Ενώσεις

Με την ανάπτυξη της Οργανικής Χημείας, ιδίως μετά το Β' Παγκόσμιο πόλεμο, έχουν παρασκευαστεί πολλές οργανικές ενώσεις, οι οποίες έχουν σημαντικές εφαρμογές στην καθημερινή ζωή. Πολλές όμως δεν είναι βιοαποικοδομήσιμες και άρχισαν να συσσωρεύονται στη φύση με άγνωστες για το μέλλον συνέπειες, αλλά και με έντονα συμπτώματα χημικής ρύπανσης του περιβάλλοντος π.χ DDT.

Πολλά είδη οργανικών ενώσεων ρυπαίνουν το υδάτινο περιβάλλον με δυσμενείς επιδράσεις. (Γ. Σ. Βασιλικιώτης, 1981)

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν :

- πολυχλωριωμένα διφαινύλια (polychlorinated biphenyls, PCB's),
- πολυχλωριωμένα διβενζοφουράνια (PCDFs)
- πολυχλωριωμένες φαινόλες



- διοξίνες (dioxins),
- φυτοφάρμακα (Alachlor, Atrazine),
- παρασιτοκτόνα (DDT, Aldrin, Dieldrin, Heptachlor, κλπ) και
- πετρελαιοειδή τα οποία είναι μίγμα υδρογονανθράκων άκυκλων, κυκλικών και πολυκυκλικών (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs).

### 2.2.1.ε Απόβλητα οργανικά υλικά που καταναλώνουν οξυγόνο για την αποικοδόμησή τους

Η συγκέντρωση του οξυγόνου που είναι διαλυμένο στα φυσικά νερά παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις. Ωστόσο η κύρια αιτία μείωσης του οξυγόνου είναι η ρύπανση των νερών με μεγάλες ποσότητες βιοαποικοδομήσιμης οργανικής ύλης, δηλαδή απόβλητα που απαιτούν οξυγόνο για να οξειδωθούν βιοχημικά και να αποικοδομηθούν από τους μικροοργανισμούς. Μια υδάτινη μάζα χαρακτηρίζεται ως ρυπανθείσα εάν η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου (Dissolved Oxygen, DO) έχει μειωθεί κάτω του ορίου για τη διατήρηση της κανονικής βιοκοινωνίας σε αυτήν τη μάζα. (Γ. Σ. Βασιλικιώτης 1981)

Τα οικιακά λύματα, τα βιομηχανικά απόβλητα (κυρίως από τις βιομηχανίες τροφίμων και χάρτου και τις μονάδες επεξεργασίας ζωοκομικών προϊόντων, σφαγεία, βυρσοδεψεία) και οι γεωργικές απορροές (εκπλύματα ζωικής και φυτικής ύλης, υπολείμματα καλλιεργειών) αποτελούν κύριες πηγές της βιοαποικοδομήσιμης οργανικής ύλης.

Κατά την αποικοδόμηση των οργανικών ενώσεων καταναλώνεται το διαλυμένο οξυγόνο και έτσι μειώνεται η συγκέντρωσή του στο νερό. Όταν οι συγκεντρώσεις των οργανικών ενώσεων είναι μεγάλες καταναλώνονται μεγάλες ποσότητες DO και αρχίζουν αναερόβιες συνθήκες. Τότε οι αναερόβιοι μικροοργανισμοί πραγματοποιούν αναερόβια αποικοδόμηση. Ενώ με την αερόβια αποικοδόμηση προκύπτουν αβλαβή προϊόντα ( $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{NO}_3^{-1}$ ,  $\text{NO}_2^{-1}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_3^{-2}$ ) με την αναερόβια σχηματίζονται δύσσομα και τοξικά προϊόντα ( $\text{S} \rightarrow \text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{N} \rightarrow \text{NH}_3$ ,  $\text{P} \rightarrow \text{PH}_3$  και  $\text{C} \rightarrow \text{CH}_4$ ).



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Αν οι αναερόβιες συνθήκες επικρατήσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα, οδηγούμαστε σε σταδιακό θάνατο της υδροχαρούς ζωής από ασφυξία.

### Παράμετροι για την εκτίμηση της οργανικής ρύπανσης

Οι παράμετροι που χρησιμοποιούνται για να εκτιμηθεί η οργανική ρύπανση των νερών είναι:

#### Διαλυμένο οξυγόνο - DO (Dissolved Oxygen)

Το DO είναι μια παράμετρος που εκφράζει την ποιότητα και καθαρότητα των επιφανειακών νερών . Εκφράζεται σε mg διαλυμένου οξυγόνου / L νερού . Όταν οι τιμές του DO είναι μεγάλες συμπεραίνουμε ότι τα οργανικά απόβλητα που περιέχουν τα νερά είναι περιορισμένα ή μηδενικά και τότε οι υδρόβιοι οργανισμοί εμφανίζουν μεγαλύτερη δραστηριότητα και αντοχή και γίνονται πιο ανθεκτικοί σε τοξικές ουσίες.

Ενώ όταν οι τιμές του DO είναι μικρές σημαίνει ότι τα νερά περιέχουν μεγάλες ποσότητες βιοαποικοδομήσιμης ύλης και τότε η δραστηριότητα των υδρόβιων οργανισμών μειώνεται και γίνονται πιο ευαίσθητοι σε τοξικές ουσίες. ( Αλμπάνης Τρ.-2009 )

#### Βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο - BOD (Biological Oxygen Demand)

BOD: είναι το οξυγόνο που απαιτείται για τη Βιοαποικοδόμηση των οργανικών ενώσεων που περιέχονται στα λύματα από αερόβιους μικροοργανισμούς.

Σαν μέτρο χρησιμοποιείται το BOD<sub>5</sub> δηλαδή το βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο των πέντε πρώτων ημερών σε 20 °C. Το BOD<sub>5</sub> ουσιαστικά αντιπροσωπεύει τα 2 / 3 περίπου ( το 68% ) του συνολικού BOD.

Βιοχημικά οξειδώνονται τρεις βασικές κατηγορίες οργανικών ενώσεων:

Υδατάνθρακες

Αζωτούχες ενώσεις

Λίπη και Λάδια.



### Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο - COD ( Chemical Oxygen Demand )

COD: είναι το οξυγόνο που απαιτείται για τη χημική οξείδωση των οργανικών ενώσεων που περιέχονται στο νερό. Ο υπολογισμός του COD είναι απαραίτητος όταν το νερό περιέχει οργανικές ενώσεις οι οποίες δεν βιοδιασπώνται ή είναι τοξικές για τους αερόβιους μικροοργανισμούς.

### Ολικός οργανικός άνθρακας –TOC ( Total Organic Carbon )

TOC: είναι το σύνολο των οργανικών ενώσεων που περιέχονται στα νερά. Εκφράζεται σε mg / L νερού .

#### **2.2.1.στ Ραδιενεργές Ουσίες**

Τα ραδιενεργά υλικά βρίσκονται στο υπέδαφος με μορφή χημικών στοιχείων ή σχηματίζονται με φυσικούς μηχανισμούς ή παρασκευάζονται από τον άνθρωπο.

Τα ραδιενεργά υλικά εισέρχονται στο υδάτινο περιβάλλον από φυσικές και ανθρωπογενείς πηγές. (Γ. Σ. Βασιλικιώτης –1981):

#### Οι φυσικές πηγές που εισάγουν ραδιενέργεια στα νερά είναι:

- Η αποσάθρωση των πετρωμάτων τα οποία περιέχουν ραδιοϊσότοπα του ουρανίου U και του θορίου Th.
- Η κοσμική ακτινοβολία που παράγει ραδιοϊσότοπα όπως το τρίτιο ( $^3\text{H}$ ), το βηρύλλιο 7 ( $^7\text{Be}$ ) και ο άνθρακας 14 ( $^{14}\text{C}$ ).

#### Οι ανθρωπογενείς πηγές είναι:

- η εξόρυξη και ο εμπλουτισμός των ορυκτών του ουρανίου
- η χρήση των ραδιενεργών υλικών για την παραγωγή πυρηνικών όπλων και κυρίως οι δοκιμές των πυρηνικών όπλων
- οι πυρηνικοί σταθμοί παραγωγής ενέργειας



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Αυτοί δημιουργούν τα πιο σοβαρά προβλήματα της ραδιενεργούς ρύπανσης με διάφορα ατυχήματα – διαρροές (Τσερνομπίλ 1986, Ιαπωνία 2012) και με τα απόβλητα που δημιουργούν οι ιατρικές εφαρμογές.

**Η ραδιενέργεια των υδάτινων οικοσυστημάτων απειλεί τον άνθρωπο με τρεις τρόπους:**

- με την κατανάλωση νερού από πηγές επίγειες ή υπόγειες
- με την κατανάλωση ψαριών και
- με την κατανάλωση τροφίμων, τα οποία μολύνθηκαν από το νερό που χρησιμοποιήθηκε για άρδευση και από τα ιζήματα ή τα υδρόβια φυτά που χρησιμοποιήθηκαν ως λιπάσματα.

**Οι δυσμενείς επιδράσεις της ραδιενέργειας είναι πολύ σοβαρές.**

Η βλάβη από μια ακτινοβολία μπορεί να γίνει με δύο τρόπους (Αλμπάνης Τριαντάφυλλος -2009):

α) Σωματική βλάβη η οποία αφορά τα άτομα που προσβάλλονται.

Η σωματική βλάβη εμφανίζεται ύστερα από μερικούς μήνες ή χρόνια και τα χαρακτηριστικά συμπτώματα είναι διάφορα καψίματα, βλάβες στην όραση, στειρότητα, ενώ τα όργανα μεγάλης ευαισθησίας στη ραδιενέργεια είναι τα μάτια, ο μυελός των οστών, τα όργανα αναπαραγωγής, η σπλήνα, το γαστρεντερικό σύστημα.

β) Γενετική βλάβη τα αποτελέσματα της οποίας εμφανίζονται στις επόμενες γενεές.

Γι' αυτό είναι απαραίτητη η ουσιαστική παρακολούθηση της ραδιενεργούς περιβαλλοντικής ρύπανσης.

**Η μεταφορά της ραδιενέργειας στα υδάτινα οικοσυστήματα**

Μπορούμε να διακρίνουμε τη μεταφορά της ραδιενέργειας για τις εξής ξεχωριστές κατηγορίες οικοσυστημάτων ([www.ecodonet.gr](http://www.ecodonet.gr)) :

Λίμνες: Στις λίμνες τα ραδιοϊσότοπα βρίσκονται διαλυμένα στο νερό και στα ιζήματα. Τα περισσότερα ισότοπα υπάρχουν και στο νερό και στα ιζήματα και



η αναλογία της κατανομής ενός συγκεκριμένου ραδιοϊσοτόπου εκφράζεται με τη βοήθεια του **συντελεστή κατανομής  $K_d$** . Οι λίμνες δέχονται νερό από ποταμούς, πηγές και βροχή και χάνουν νερό από υπερχειλίση και εξάτμιση. Ο μέσος χρόνος παραμονής του νερού σε μια λίμνη εξαρτάται από το ισοζύγιο του νερού που εισέρχεται και εξέρχεται από τη λίμνη. Ο μέσος χρόνος παραμονής ενός ραδιοϊσοτόπου στο νερό εξαρτάται από τον συντελεστή  $K_d$  του ραδιοϊσοτόπου και από τον χρόνο ημιζωής του ραδιοϊσοτόπου. Οι φυσικοχημικές παράμετροι που χαρακτηρίζουν το νερό της λίμνης, όπως το pH, οι συγκεντρώσεις των αλάτων και της οργανικής ύλης, επηρεάζουν το συντελεστή  $K_d$  και την πρόσληψη των ραδιενεργών από τους ζωντανούς οργανισμούς. Βρέθηκε ότι στα ψάρια των λιμνών, που είναι φτωχές σε θρεπτικά υλικά, υπάρχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις ραδιενέργειας από ότι στα ψάρια λιμνών που είναι πλούσιες σε θρεπτικά υλικά.

Ποταμοί: Στους ποταμούς ο μέσος χρόνος παραμονής των ραδιοϊσοτόπων στο νερό είναι συνήθως μικρότερος από ότι στις λίμνες λόγω της μεταφοράς μεγάλων ποσοτήτων νερού. Έτσι στους ποταμούς παρατηρούνται μικρότερες συγκεντρώσεις ραδιοϊσοτόπων από ότι στις λίμνες. Οι ποσότητες νερού που μεταφέρουν οι ποταμοί μεταβάλλονται σημαντικά στη διάρκεια του έτους. Όταν τα χιόνια λειώνουν την άνοιξη, ο ποταμός ενδέχεται να καλύψει μεγαλύτερη επιφάνεια. Οι εκτάσεις που είναι κατά μήκος της όχθης των ποταμών μπορούν να κατακρατήσουν ισότοπα που περιέχονται στο νερό, τα οποία απελευθερώνονται τα επόμενα χρόνια. Επίσης, τα ιζήματα των ποταμών μεταφέρονται σε νέες τοποθεσίες, όταν οι ποταμοί πλημμυρίζουν, και στο τέλος καταλήγουν στη θάλασσα. Αξίζει να σημειωθεί ότι στις εκβολές των ποταμών επειδή αυξάνεται η συγκέντρωση του αλατιού αποδεσμεύονται τα ισότοπα από τα ιζήματα.



Θαλασσινό Νερό: Τα θαλασσινά νερά έχουν περίπου την ίδια σύσταση σε αντίθεση με τα οικοσυστήματα του γλυκού νερού στα οποία παρατηρούνται μεγάλες μεταβολές στη σύσταση. Οι μεγαλύτερες ποσότητες νερού βρίσκονται στα βάθη των ωκεανών. Τα ψάρια, που είναι βασικά τρόφιμα, αλιεύονται κοντά στις ακτές, σε μέσο βάθος 50 μέτρων. Στα παράκτια νερά (επειδή συμπεριφέρονται ως κλειστά οικοσυστήματα) ο χρόνος παραμονής των ισοτόπων είναι σχετικά μεγάλος. Όμως, στα παράκτια νερά που είναι κοντά σε ωκεανούς, ο χρόνος παραμονής είναι μικρότερος.

Υπόγεια Ύδατα: Γενικά τα υπόγεια ύδατα προστατεύονται από τα ραδιοϊσότοπα της ατμόσφαιρας, γιατί διάφορες φυσικοχημικές διαδικασίες (όπως η απορρόφηση, η χημική καθίζηση και η ανταλλαγή ιόντων) καθυστερούν ή εμποδίζουν την μεταφορά κάποιων ραδιοϊσοτόπων, όπως το στρόντιο 90 ( $^{90}\text{Sr}$ ), το καίσιο 137 ( $^{137}\text{Cs}$ ) και το πλουτώνιο (Pu). Μερικά όμως ισότοπα όπως το τρίτιο ( $^3\text{H}$ ), το τεχνητό 99 ( $^{99}\text{Tc}$ ) και το ιώδιο 129 ( $^{129}\text{I}$ ) δεν δεσμεύονται στο έδαφος και φτάνουν στα υπόγεια νερά. Ιδιαίτερα το τρίτιο, με τη μορφή  $\text{HTO}$  (μόριο νερού, στο οποίο το ένα από τα άτομα υδρογόνου είναι άτομο τριτίου), μεταφέρεται εύκολα στα υπόγεια νερά.





## 2.2.2. Βιολογικοί ρύποι ή ρυπογόνοι οργανισμοί των υδάτων

Εκτός από τις χημικές ουσίες ρύπανση υδάτων μπορούν να προκαλέσουν και οι παθογόνοι μικροοργανισμοί (βιολογικοί ρύποι). Βιολογική ή μικροβιακή ρύπανση υδάτων ονομάζεται η ρύπανση που προκαλεί η είσοδος παθογόνων μικροοργανισμών στα υδάτινα οικοσυστήματα.

### Παθογόνοι μικροοργανισμοί

Ονομάζονται όσοι μικροοργανισμοί είναι ικανοί να μεταφέρουν ασθένειες, να μολύνουν. Πολλά είδη παθογόνων μικροοργανισμών είναι ικανά να επιβιώσουν στο νερό και να διατηρήσουν τις μολυσματικές ιδιότητές τους για μεγάλες χρονικές περιόδους. Τέτοιοι οργανισμοί μπορεί να είναι:

- **Ιοί:** Οι μικρότερες γνωστές βιολογικές δομές, έχουν ασυνήθιστη οργάνωση. Δρουν αποκλειστικά ως παράσιτα, δηλαδή δεν εκδηλώνουν αυτόνομα τις λειτουργίες ζωής (μεταβολισμό, αναπαραγωγή κ.α.), αλλά μόνο όταν παρασιτούν μέσα στα κύτταρα άλλου οργανισμού. Για το λόγο αυτό ορισμένοι επιστήμονες δεν τους θεωρούν οργανισμούς. Η λοιμώδης ηπατίτιδα μεταδίδεται από ιούς που βρίσκονται μέσα στο νερό.
- **Βακτήρια:** Είναι προκαρυωτικοί μονοκύτταροι οργανισμοί. Υπάρχουν χρήσιμα, αβλαβή και παθογόνα βακτήρια για τον άνθρωπο. Με παθογόνα βακτήρια μέσα στο νερό μεταδίδονται πολλές ασθένειες όπως η χολέρα, ο τυφοειδής πυρετός (από βακτήρια *Salmonella spp*) και μια μορφή δυσεντερίας από βακτήρια σιγκέλες (ασθένειες με μεγάλη συχνότητα σε φτωχές χώρες).
- **Πρωτόζωα:** Είναι ευκαρυωτικοί μονοκύτταροι οργανισμοί. Συνήθως δρουν παρασιτικά και μπορούν να είναι παθογόνα ή όχι. Με παθογόνο πρωτόζωο μέσα στο νερό μεταδίδεται μια μορφή δυσεντερίας (από το πρωτόζωο αμοιβάδα).
- **Μύκητες:** Είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί μονοκύτταροι ή πολυκύτταροι. Βέβαια, όλοι οι μύκητες δεν είναι μικροοργανισμοί.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Το νερό είναι ένας δυναμικός μεταφορέας των παθογόνων μικροοργανισμών και είναι πολύ επικίνδυνο για τη δημόσια υγεία όταν έχει μολυνθεί. Έχουν παρατηρηθεί αρκετές περιπτώσεις ρύπανσης υδάτων και έγιναν μελέτες για τις δυσμενείς επιπτώσεις τους. Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί στο υδάτινο περιβάλλον κυρίως προέρχονται από τα αστικά λύματα, (κυρίως από τα περιττώματα ασθενών ή φορέων ασθενειών), τα οποία δύνανται να περιέχουν ιούς, βακτήρια, πρωτόζωα ή μύκητες. Μέσω του νερού περνούν στον άνθρωπο και του προκαλούν ασθένειες όπως χολέρα, δυσεντερία, τυφοειδή πυρετό, ηπατίτιδα. Οι πιο χαρακτηριστικοί μικροοργανισμοί που ρυπαίνουν το νερό είναι τα κολοβακτήρια *Escherichia coli* και *Enterobacter aerogenes*, τα οποία βρίσκονται στο έντερο του ανθρώπου και των θερμόαιμων ζώων και δεν είναι πάντα παθογόνα για τον άνθρωπο. Ζουν συμβιωτικά και βοηθούν στην καλή λειτουργία του εντέρου. Οι κυριότεροι παθογόνοι μικροοργανισμοί που περιέχονται στα αστικά λύματα και περνούν στα υδάτινα οικοσυστήματα είναι οι μικροοργανισμοί : *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Streptococcus spp*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, ο μύκητας *Candida* και ιοί όπως της ηπατίτιδας, της πολιομυελίτιδας και της γρίπης. (Γ.Σ. Βασιλικιώτης 1981)



### 2.2.3.Θερμική ρύπανση υδάτων

Η θερμική ρύπανση των υδάτων προκαλείται από την εκροή θερμού νερού, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την ψύξη σε θερμοηλεκτρικούς ή πυρηνικούς σταθμούς.

#### Προβλήματα που προκαλεί η θερμική ρύπανση των υδάτων

Η αύξηση της θερμοκρασίας των φυσικών νερών προκαλεί τα παρακάτω προβλήματα (Αλμπάνης Τριαντάφυλλος 2009):

- Μπορεί να ευνοήσει μια ποικιλία υδρόβιων οργανισμών στα νερά που αλλιώς θα ήταν για αυτούς πολύ κρύα. Άλλοτε όμως, με την αύξηση της θερμοκρασίας, το νερό γίνεται λιγότερο κατάλληλο για οργανισμούς που έχουν οικονομική σημασία και μπορεί να εξαφανισθούν.
- Μειώνεται η διαλυτότητα του οξυγόνου στο νερό και για αυτό λιγοστεύει και η συγκέντρωση του οξυγόνου στο νερό.
- Αυξάνονται οι ανάγκες των ψαριών σε διαλυμένο οξυγόνο επειδή μεταβάλλεται ο μεταβολικός τους ρυθμός.
- Αυξάνεται ο ρυθμός ανάπτυξης των βακτηρίων τα οποία καταναλώνουν ακόμα μεγαλύτερες ποσότητες οξυγόνου.
- Μειώνεται η αντοχή των υδρόβιων οργανισμών στις τοξικές ουσίες και ασθένειες.
- Αυξάνεται η ταχύτητα των χημικών αντιδράσεων.

## 2.3. ΥΔΡΟΒΙΟΙ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

Οι υδρόβιοι οργανισμοί αποτελούν ακρογωνιαίο παράγοντα της βιοποικιλότητας του πλανήτη μας.

### 2.3.1. Κατηγορίες υδρόβιων οργανισμών

α) Με κριτήριο τη διαβίωσή τους σε διαφορετικές συνθήκες αλατότητας οι υδρόβιοι οργανισμοί διακρίνονται σε οργανισμούς των αλμυρών νερών (θάλασσα), οργανισμούς των υφάλμυρων νερών και οργανισμούς των γλυκών νερών (λίμνες, ποτάμια).

β) Με κριτήριο την κατανομή τους στο υδάτινο περιβάλλον και με τον τρόπο ζωής τους οι υδρόβιοι οργανισμοί διαχωρίζονται σε (Σακελλαριάδου 2007):

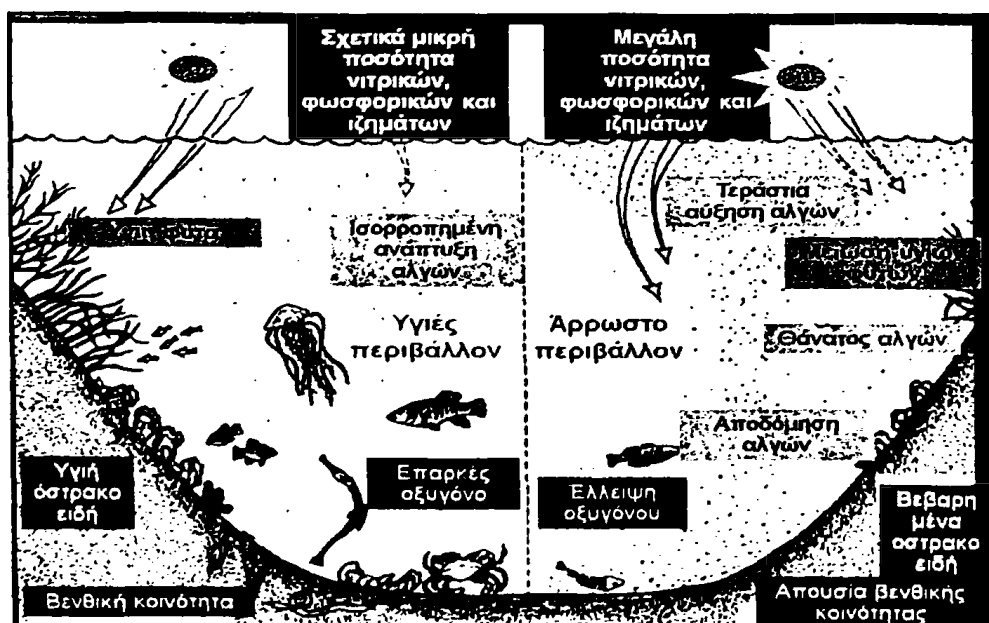
- βένθος (υδρόβιοι οργανισμοί που διαβιούν πάνω ή μέσα στον πυθμένα των υδάτινων εκτάσεων ή εξαρτώνται άμεσα από αυτόν) .
- πλαγκτόν (μικροσκοπικοί υδρόβιοι οργανισμοί που αιωρούνται στο νερό, δηλ. η κινητικότητά τους είναι μικρότερη από την κινητικότητα του νερού και χωρίζονται στο φυτοπλαγκτόν και ζωοπλαγκτόν),
- νηκτόν (υδρόβιοι οργανισμοί που κινούνται με ιδιαίτερες ικανότητες κολύμβησης εντός των υδάτινων εκτάσεων) και
- νευστόν (υδρόβιοι οργανισμοί που διαβιούν στην επιφανειακή στοιβάδα των υδάτων)



### 2.3.1.1.Οι βενθικοί οργανισμοί.

Από όλους τους θαλάσσιους οργανισμούς οι βενθικοί οργανισμοί είναι αυτοί που υφίστανται πιο έντονα τις επιδράσεις της ρύπανσης του υδάτινου περιβάλλοντος γι' αυτό είναι αναγκαία η μελέτη και η παρακολούθησή τους. Μάλιστα από τους βενθικούς οργανισμούς σε πολύ μεγάλο βαθμό μελετήθηκαν τα δίθυρα μαλάκια, αφενός γιατί είναι διθηματοφάγοι οργανισμοί και έρχονται σε επαφή με μεγάλες ποσότητες χημικών ρύπων και αφετέρου γιατί δύνανται να αναπτύσσονται σε περιοχές με υψηλά επίπεδα ρύπανσης.

Τα βενθικά συστήματα απαντώνται σε όλες τις θάλασσες και έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, τόσο από οικολογική όσο και από οικονομική άποψη. Ιδιαίτερα τα βενθικά οικοσυστήματα που γειτνιάζουν με την παράκτια ζώνη επειδή δέχονται άμεσα την επίδραση ποικίλων ανθρωπογενών δραστηριοτήτων, πολύ συχνά βρίσκονται σε συνθήκες μόνιμης ή πρόσκαιρης περιβαλλοντικής υποβάθμισης ή περιβαλλοντικού stress, γεγονός που έχει αρνητική αντανάκλαση και στους υπόλοιπους πληθυσμούς των θαλάσσιων οικοσυστημάτων.



Εικόνα 1: Καλή και κακή ποιότητα ζωής σε ένα υδάτινο οικοσύστημα (πρόγραμμα ανοιχτών περιβαλλοντικών τάξεων «Καλλιστών»)

### Κατηγορίες βενθικών οργανισμών

Οι βενθικοί οργανισμοί ταξινομούνται:

**A. Με βάση το κριτήριο της κύριας Ταξινομικής ομάδας δηλ. με το Βασίλειο στο οποίο ανήκουν, διακρίνονται σε (Σακελλαριάδου 2007):**

- **Φυτοβέθνος:** το οποίο περιλαμβάνει (α) Υποβασίλειο Θαλλόφυτα: χλωροφύκη, φαιοφύκη, ερυθροφύκη, βενθικά μακροφύκη, και (β) το Υποβασίλειο Αγγειόσπερμα: θαλάσσια φανερόγαμα ή γρασίδια, βενθικά μακρόφυτα.
- **Ζωοβέθνος:** το οποίο περιλαμβάνει ζωικούς οργανισμούς, που ανήκουν στη συντριπτική τους πλειοψηφία (>95%) στα ασπόνδυλα (σπόγγοι, κνιδόζωα, πλατυέλμινθες, νεμερτίνοι, νηματώδεις, πολύχαιτοι, σκληροκοιδή, εχινώδη, πωγωνοφόρα, βρυόζωα, φορωνοειδή, μαλάκια, καρκινοειδή, εχινόδερμα, εντερόπνευστα, ασκίδια, κεφαλοχορδωτά) και λίγα σπονδυλωτά (δηλ. ορισμένα είδη ψαριών, παραβενθικά ψάρια).

**B. Με βάση το κριτήριο του μεγέθους τους, κυρίως για τους ζωοβενθικούς οργανισμούς, διαχωρίζονται σε:**

- μικροβέθνος που περιλαμβάνει βακτήρια και πρωτόζωα.
- μειοβέθνος που περιλαμβάνει νηματώδεις, κωπήποδα, ορισμένα είδη μαλακίων, πολυχαίτων και καρκινοειδών.
- μακροβέθνος που περιλαμβάνει τα περισσότερα είδη ασπόνδυλων και
- μεγαβέθνος που περιλαμβάνει μεγαλόσωμα είδη ασπόνδυλων και παραβενθικά ψάρια.

**Γ. Τέλος με βάση το κριτήριο της τροφής τους διαχωρίζονται σε :**

- αιωρηματοφάγους (suspension feeders),
- ιζηματοφάγους (deposit feeders),
- φυτοφάγους (grazers),
- σαρκοφάγους (carnivorous) και
- σαπρονεκροφάγους (scavengers).



## 2.4. ΟΔΟΙ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΡΥΠΩΝ ΣΤΟΥΣ ΥΔΡΟΒΙΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥΣ ΣΤΑ ΥΔΑΤΙΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Οι υδρόβιοι οργανισμοί προσλαμβάνουν τους χημικούς ρύπους είτε με την τροφή μέσω του πεπτικού συστήματος είτε από το νερό μέσω των βραγχίων τους. Οι χημικοί ρύποι όταν εισέρχονται στους υδρόβιους οργανισμούς μπορεί να απεκκριθούν ή να βιοσυσσωρευθούν ή να μεταβολισθούν από αυτούς.

Οι χημικοί ρύποι και οι μεταβολίτες τους στα υδάτινα συστήματα απαντώνται σε διάφορες μορφές και η δράση τους εξαρτάται από: τη χημική τους δομή, τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, τους αβιοτικούς και βιοτικούς παράγοντες.

Οι κυριότεροι αβιοτικοί παράγοντες είναι οι φυσικοχημικές ιδιότητες του ύδατος όπως το pH, η θερμοκρασία, η αλατότητα, οι βαθμοί σκληρότητας, το διαλυμένο οξυγόνο, η παρουσία άλλων ουσιών (συνεργική ή ανταγωνιστική δράση), η ακτινοβολία και άλλοι.

Οι κυριότεροι βιοτικοί παράγοντες συνίστανται σε χαρακτηριστικά των οργανισμών, όπως είναι το είδος, ο κύκλος ζωής τους, η ηλικία, το φύλο, η φυσική και η μεταβολική τους κατάσταση (εποχικές αλλαγές), η γενική φυσιολογική συμπεριφορά των οργανισμών και η κατάσταση του ανοσολογικού συστήματος του οργανισμού (προϋπάρχουσα κατάσταση stress).



## 2.5. ΤΟΞΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΡΥΠΩΝ ΣΤΟΥΣ ΥΔΡΟΒΙΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ.

Καθώς αυξάνουν οι συγκεντρώσεις των χημικών ρύπων, στις οποίες εκτίθενται οι υδρόβιοι οργανισμοί, προκαλούνται δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία τους που ποικίλλουν μεταξύ σοβαρών βιοχημικών αλλοιώσεων και θνησιμότητας. Μάλιστα οι επιδράσεις των χημικών ρύπων στους υδρόβιους οργανισμούς εκδηλώνονται αλυσιδωτά. Δηλαδή, προκαλούνται αρχικά βιοχημικές αλλοιώσεις, οι οποίες οδηγούν σε φυσιολογικές αλλοιώσεις και τελικά αλλάζει η δυναμική των πληθυσμών των διαφόρων ειδών.

Οι υδρόβιοι οργανισμοί έχουν αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς για να αντιμετωπίζουν τις επιδράσεις των χημικών ουσιών όπως είναι :

**η απέκκριση, η απομόνωση των ουσιών από το κύτταρο** (φλεγμονές, κοκκία, λυσοσώματα) και **η εξουδετέρωση της οξειδωτικής ανισορροπίας** με αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, καταλάση, υπεροξειδική δισμουτάση, κ.λ.π. Όταν δεν επαρκούν οι μηχανισμοί αυτοί τότε οι οργανισμοί υφίστανται δυσμενείς επιδράσεις.

Αρχικά οι χημικοί ρύποι προκαλούν αρνητικές επιδράσεις σε χαμηλότερα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης. Εμφανίζονται δηλ. βλάβες σε μοριακό επίπεδο σε κάποια βασικά βιομόρια όπως λιπίδια, πρωτεΐνες, DNA, ένζυμα και σε κάποια μέρη του κυττάρου όπως λιπιδική μεμβράνη. Στη συνέχεια αν δεν αντιμετωπιστούν οι αρνητικές επιπτώσεις στα χαμηλότερα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης παρατηρούνται βλάβες σε ανώτερα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης, δηλ. στους ιστούς, στα όργανα, στα οργανικά συστήματα και στους οργανισμούς. Το άμεσο αποτέλεσμα είναι να διαταραχθούν ζωτικές λειτουργίες όπως ο μεταβολισμός, η ανάπτυξη, η αναπνοή, η καρδιακή λειτουργία, η νευρική λειτουργία, η ανοσοποιητική λειτουργία, η αναπαραγωγή. Ο τελικός αποδέκτης των επιδράσεων αυτών είναι το υδάτινο οικοσύστημα.





Η βιοδιαθεσιμότητα των χημικών ρύπων είναι μια κρίσιμη παράμετρος η οποία καθορίζει την πρόσληψη των χημικών ρύπων και την τελική συγκέντρωσή τους στους υδρόβιους οργανισμούς. Άρα κατ' επέκταση καθορίζει τις τοξικές επιδράσεις τόσο σε χαμηλότερο επίπεδο βιολογικής οργάνωσης (μοριακό επίπεδο) όσο και σε ανώτερο επίπεδο βιολογικής οργάνωσης των υδρόβιων οργανισμών αλλά και στο υδάτινο οικοσύστημα.

Οι επιπτώσεις – μεταβολές που παρατηρούνται στις κυτταρικές ή βιοχημικές διεργασίες, στις δομές και στις λειτουργίες των οργανισμών καθώς και οι μεταβολές στη δυναμική των πληθυσμών και η λειτουργία του υδάτινου οικοσυστήματος, δύνανται να εκτιμηθούν με τη χρήση κάποιου μεγέθους μετρήσιμου – δείκτη που καλείται **Βιοδείκτης (biomarker)**.

Ακολουθεί πίνακας με τα διάφορα είδη ρυπαντών, τις πηγές τους και τα αποτελέσματά τους στην υδρόσφαιρα.



| ΡΥΠΑΝΤΗΣ                                                                                                                                 | ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ                                                                                     | ΠΗΓΗ                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Βιοοξειδούμενα οργανικά<br>σαν BOD                                                                                                       | Αποοξυγόνωση, θάνατος<br>ψαριών                                                                | Πηγές Υδατανθράκων:<br>Ζαχαρουργεία, ζυθοποιεία,<br>ποτοποιεία, γαλακ/νίες,<br>χαρτο/νίες           |
| Δηλητήρια ηλεκτρολυτικές:<br>As, CN, Cr, Cd, Cu, F, Hg,<br>Pd, Zn.                                                                       | Δηλητηριασμός ψαριών<br>και ζώων, συσσώρευση<br>στον οργανισμό ψαριών<br>και ζώων.             | Μεταλλουργικές μονάδες,<br>βιομηχανίες Al και<br>φωσφωρικών<br>βυρσοδεψεία, μονάδες Cl <sub>2</sub> |
| Οξέα και Αλκάλια                                                                                                                         | Αλλάζουν το pH                                                                                 | Απόνερα και ορυχεία<br>άνθρακα, υφαντουργεία,<br>βαφεία, χημικές<br>βιομηχανίες,<br>χαλυβουργεία.   |
| Οξειδωτικά: Cl <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ,<br>φαινόλη, φορμαλίνη                                                      | Εκλεκτικός θάνατος<br>μικροοργανισμών,<br>δυσάρεστη γεύση, οσμή.                               | Χαρτοβιομηχανίες,<br>εκρηκτικά, συνθετικά,<br>αντιβιοτικά, κώκ, γκάζι,<br>χρωματοβιομηχανίες.       |
| Ιόντα: Fe <sup>+2</sup> , Ca <sup>+2</sup> , Mg <sup>+2</sup> ,<br>Mn <sup>+2</sup> , Cl <sup>-1</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> . | Σκληρότητα του νερού                                                                           | Τσιμεντοβιομηχανίες,<br>κεραμικά, άντληση<br>πτερελαίου                                             |
| Οξειδωτικά και Αναγωγικά:<br>S, SO <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> <sup>-1</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-1</sup>        | Μείωση O <sub>2</sub> διαλυμένου<br>στο νερό, ευτροφισμός,<br>εκλεκτική ανάπτυξη<br>μικροβίων. | Γκάζι, κώκ, λιπάσματα,<br>εκρηκτικά, χρώματα,<br>συνθετικά, νήματα,<br>χαρτοβιομηχανίες.            |
| Παθογόνοι οργανισμοί                                                                                                                     | Μόλυνση στον άνθρωπο<br>και στα ζώα, ασθένειες<br>φυτών.                                       | Βιομηχανίες επεξεργασίας<br>μαλλιού, σφαγεία.                                                       |
| Άφροι, λίπη, λάδια                                                                                                                       | Επιπλέοντα υλικά - ορατά<br>και κακόοσμα                                                       | Απορρυπαντικά,<br>βυρσοδεψεία, βιομηχανίες<br>κρέατος, ζαχαρουργεία,<br>διυλιστήρια                 |
| Φυτοφάρμακα, PCBs,<br>PAHs, οργανικοί διαλύτες                                                                                           | Εκλεκτικός θάνατος<br>μικροοργανισμών,<br>βιοσυσσώρευση,<br>καρκινογένεση, τοξικότητα.         | Γεωργικά λύματα,<br>βιομηχανίες φαρμάκων,<br>χημικές βιομηχανίες                                    |



**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 2<sup>ου</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ:**

**Ελληνική Βιβλιογραφία:**

Αλμπάνης Τριαντάφυλλος , Ρύπανση και Τεχνολογίες Προστασίας Περιβάλλοντος, Εκδόσεις Τζιόλα , 2009

Αντωνόπουλος Β., Ποιότητα και Ρύπανση Υπόγειων Νερών , Εκδότης ΖΗΤΗ ΠΕΛΑΓΙΑ ΚΑΙ ΣΙΑ ΟΕ, 2001

Γ.Σ. Βασιλικιώτη, Χημεία Περιβάλλοντος, Θεσσαλονίκη 1981

Εγκυκλοπαίδεια PAPHOS LAROUS BRITANNICA , 1996.

Κατσιάπη Μ., Βαρδάκα Ε., Κορμάς Κ. και Μουστάκα-Γούνη Μ. Επίδραση Διαταραχών Στο Φυτοπλαγκτόν της Λίμνης Καστοριάς. Πρακτικά 29<sup>ου</sup> Συνεδρίου Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών, Καβάλα 17-19 Μαΐου 2007.

Κούγκολος Αθανάσιος, Εισαγωγή στην Περιβαλλοντική Μηχανική, Εκδόσεις Τζιόλα, 2007

Κουϊμτζής Θεμιστοκλής, Χημεία Περιβάλλοντος , Εκδόσεις ΖΗΤΗ ΠΕΛΑΓΙΑ ΚΑΙ ΣΙΑ ΟΕ, 1997

Σακελλαριάδου Φανή, Ωκεανογραφία, Εκδόσεις Σταμούλη 2007

**Ξένη Βιβλιογραφία:**

J.Gaillardet, J.Viers and B.Durpe, Treatise on Geochemistry, Vol5,225-272, 2003



### Ηλεκτρονικές Πηγές:

1. [www.e-yliko.gr/htmls/perivallon/kallisto.aspx](http://www.e-yliko.gr/htmls/perivallon/kallisto.aspx): Πρόγραμμα Ανοιχτών Περιβαλλοντικών Τάξεων «Καλλιστών».
2. [www.who.int/en](http://www.who.int/en): Our Planet, Our Health. Report of the WHO commission on health and environment. World Health Organization, 1992
3. [www.ecodonet.gr](http://www.ecodonet.gr)
4. [www.ypeka.gr](http://www.ypeka.gr)



## ΕΡΕΥΝΑ ΤΩΝ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΤΟΞΙΚΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΩΝ ΡΥΠΩΝ ΣΤΟ ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

### 3. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μεγαλύτερη πρόκληση της Περιβαλλοντικής Τοξικολογίας είναι η συσχέτιση της παρουσίας μιας χημικής ουσίας στο περιβάλλον με κάποια αξιόπιστη εκτίμηση κινδύνου για κάποιους βιολογικούς οργανισμούς. Η έκθεση των βιολογικών οργανισμών σε κάποιο ρυπογόνο παράγοντα δύναται να οδηγήσει σε δυσμενείς επιδράσεις για την υγεία τους, οι οποίες αρχικά συμβαίνουν σε χαμηλότερα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης όπως βλάβες βιομορίων και κάποιων συστατικών του κυττάρου και στη συνέχεια αυτές οι επιδράσεις δύνανται να επεκταθούν σε ανώτερα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης (δηλ. βλάβες στο κύτταρο, σε ιστό, σε όργανο, σε οργανικό σύστημα, σε όλο τον οργανισμό). (Dickerson RL et.al. 1994)

#### 3.1. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΑΠΟ ΚΑΠΟΙΟ ΡΥΠΟ

Στο παρελθόν για να εκτιμήσουν τον περιβαλλοντικό κίνδυνο από κάποιο ρύπο προσδιόριζαν τη συγκέντρωση του ρυπογόνου παράγοντα σε δείγματα κάποιου περιβαλλοντικού μέσου (νερό, αέρας, έδαφος) και μελετούσαν τις τοξικές επιδράσεις του παράγοντα αυτού σε κάποιο είδος που βρίσκεται σε επαφή με το μέσο αυτό. Αυτή η μεθοδολογία οδηγεί στη συλλογή χρήσιμων δεδομένων, αλλά έχει αρκετούς περιορισμούς. Συγκεκριμένα ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης μιας χημικής ουσίας σε κάποιο περιβαλλοντικό μέσο δεν είναι απλή διαδικασία, γιατί πολλές φορές χρειάζεται εκτενής καθαρισμός του δείγματος και οδηγούμαστε σε υψηλό κόστος ανάλυσης. Επίσης η μέθοδος αυτή δεν μπορεί να προσδιορίσει την ύπαρξη των χημικών ουσιών που βρίσκονται σε κάποιο περιβαλλοντικό μέσο, στους οργανισμούς ή τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Η βιοδιαθεσιμότητα εξαρτάται κυρίως από τρεις παράγοντες: το είδος της χημικής ουσίας, το είδος του οργανισμού και το περιβαλλοντικό μέσο. (Bainy ACD, Marques MRF 2003)



### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Μια άλλη μέθοδος είναι ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της χημικής ουσίας σε κάποιο ιστό του βιολογικού οργανισμού, αλλά και αυτή η προσέγγιση συχνά παρουσιάζει πολλές δυσκολίες στις αναλύσεις, οδηγεί σε υψηλό κόστος ανάλυσης και επιπλέον δεν παρέχει πληροφορίες για τις τοξικές επιδράσεις της χημικής ουσίας στον οργανισμό.

Η μέθοδος που χρησιμοποιεί βιοδείκτες ξεπερνά πολλές από τις παραπάνω δυσκολίες γιατί μετρά απευθείας τις τοξικές επιδράσεις σε κάποιο οργανισμό.



### 3.2. BIOMARTYRES Ή ΔΕΙΚΤΕΣ STRESS

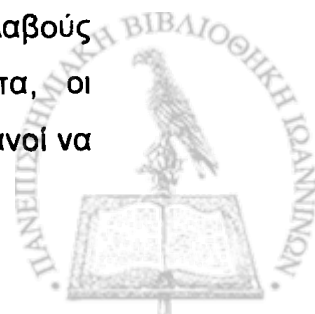
Τα τελευταία χρόνια ιδιαίτερη σημασία έχει δοθεί στις βιολογικές παραμέτρους που χαρακτηρίζονται ως δείκτες στρες ή βιομάρτυρες για τη βιοπαρακολούθηση της θαλάσσιας ρύπανσης (Bayne 1989, Gray 1992). Ως **βιομάρτυρας** ή **δείκτης stress** χαρακτηρίζεται κάθε μεταβολή που μπορεί να παρατηρηθεί ή και να μετρηθεί σε βιοχημικό και κυτταρικό επίπεδο, καθώς και μεταβολές σε επίπεδο φυσιολογίας και συμπεριφοράς του οργανισμού, οι οποίες αποκαλύπτουν την έκθεση του οργανισμού στο παρόν ή στο παρελθόν σε τουλάχιστο μία χημική ουσία με χαρακτηριστικά ρύπου (Adams 1990, Roy & Hanninen 1993, Bresler et al. 1999).

**Βιοδείκτες** χαρακτηρίζονται οι βιολογικές αποκρίσεις σε ανώτερα επίπεδα οργάνωσης: πληθυσμού, βιοκοινότητας και οικοσυστήματος. (Δημητριάδης κ.ά. 2006)

**Βιοενδείκτες (sentinel species ή bioindicators)** χαρακτηρίζονται οι ζωντανοί οργανισμοί στους οποίους εφαρμόζονται οι βιομάρτυρες ρύπανσης.

Κάθε βιομάρτυρας πρέπει να συγκεντρώνει ορισμένα χαρακτηριστικά όπως η επαναληψιμότητα, η ευαισθησία, η εξειδίκευση, ο σύντομος χρόνος απόκρισης, η αναστρεψιμότητα, το μεγάλο εύρος ρύπων στα οποία εφαρμόζεται, η ευκολία εφαρμογής και το χαμηλό κόστος του σε σύγκριση με την αποτελεσματικότητά του (Gosling 1994). Οι μοριακοί και κυτταρικοί βιομάρτυρες αποτελούν εργαλεία έγκαιρης προειδοποίησης (early warning tools) για τις μακροπρόθεσμες επιπτώσεις της ρύπανσης στο επίπεδο του οργανισμού, του πληθυσμού ή της βιοκοινότητας, εξαιτίας της πολύ γρήγορης επίδρασης των τοξικών ουσιών στο μοριακό και κυτταρικό επίπεδο (McCarthy & Shugart 1990, Huggert et al. 1992).

Οι βιομάρτυρες που χρησιμοποιούνται στη βιοπαρακολούθηση της θαλάσσιας ρύπανσης διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες: σε **βιομάρτυρες έκθεσης** και **βιομάρτυρες τοξικής επίπτωσης**. Οι **βιομάρτυρες έκθεσης** φανερώνουν την απόκριση ενός οργανισμού σε χημικές ενώσεις, χωρίς να προσδιορίζουν το μέγεθος του επιβλαβούς αποτελέσματος που προκαλεί η έκθεση στους ρύπους. Αντίθετα, οι **βιομάρτυρες τοξικής επίπτωσης** παρέχουν πληροφορίες και είναι ικανοί να



εκτιμήσουν την έκταση του επιβλαβούς αποτελέσματος της ρύπανσης στους οργανισμούς (Δημητριάδης κ.ά. 2006).

**Η εξειδίκευση των βιομαρτύρων** εμφανίζει μεγάλο εύρος και κυμαίνεται από εξαιρετικά υψηλή έως χαμηλή. Οι **βιομάρτυρες με υψηλή εξειδίκευση** περιλαμβάνουν αποκρίσεις που προκαλούνται από συγκεκριμένους ρύπους ή ομάδες ρύπων. Αντίθετα, οι **μη ειδικοί βιομάρτυρες** περιλαμβάνουν αποκρίσεις που μπορούν να προκληθούν από μεγάλη ποικιλία ρύπων.

Ωστόσο, για μια περισσότερο αποτελεσματική εκτίμηση των επιπτώσεων των διαφόρων ρύπων στους οργανισμούς και τη διαμόρφωση μιας σαφέστερης εικόνας της κατάστασης του περιβάλλοντος από άποψη ρύπανσης, είναι απαραίτητη η συνεξέταση βιομαρτύρων με υψηλή ειδίκευση και μη ειδικών βιομαρτύρων, λαμβάνοντας υπόψη τα χαρακτηριστικά της φυσιολογίας του εκάστοτε οργανισμού και του οικοσυστήματός του.





### 3.3. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ

Η διαδικασία ερμηνείας των αποτελεσμάτων μέτρησης βιοδεικτών και οι εκτιμήσεις για άλλα είδη οργανισμών απαιτούν ιδιαίτερη προσοχή. Γιατί μια χημική ουσία η οποία δρα σε διαφορετικούς βιολογικούς οργανισμούς οδηγεί στην παραγωγή διαφορετικών πρωτεϊνών ή το ίδιο ένζυμο να έχει διαφορετική εξειδίκευση όσον αφορά το υπόστρωμα. Έτσι για να αξιοποιήσουμε τις μετρήσεις των βιοδεικτών είναι απαραίτητο να γνωρίζουμε άριστα τη συγκριτική βιοχημεία και τη συγκριτική φυσιολογία των οργανισμών. Χρειάζεται να κατανοήσουμε πλήρως τους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην απόκρισή τους και να γνωρίζουμε ότι οι μηχανισμοί αυτοί επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες. Παράγοντες που επηρεάζουν τους μηχανισμούς αυτούς, είναι η κατάσταση της υγείας, το φύλο, η ηλικία, η διατροφή, ο μεταβολισμός, η αποδημητική συμπεριφορά, ο αναπαραγωγικός κύκλος των οργανισμών που χρησιμοποιούνται ως βιολογικοί δείκτες ρύπανσης, καθώς και άλλοι παράγοντες όπως οι εποχές, η θερμοκρασία και η ανομοιογένεια της περιβαλλοντικής ρύπανσης. (Handy RD et.al.2003)

Η αξία των βιοδεικτών έγκειται στην ικανότητά τους να ενσωματώνουν πολλαπλές εκθέσεις σε ποικιλία χημικών ρύπων σε μια περιοχή, συνθήκες που αντιπροσωπεύουν την κατάσταση που υπάρχει σε περιοχές διάθεσης αποβλήτων.

Για παράδειγμα, οι αποκρίσεις της CYP1A1 στα ιζήματα που έχουν ρυπανθεί με διοξίνες, πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs) ή πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAHs) μπορούν να δώσουν μια εικόνα για την κατάσταση των ρύπων στην περιοχή, την βιοδιαθεσιμότητά τους και τον κίνδυνο που εγκυμονούν.

Παρόμοια, οι αλλαγές στην κατανομή της πορφυρίνης, η συγκέντρωση των μεταλλοθειονινών, μπορούν να δώσουν μια εικόνα για τις συνεργικές επιδράσεις μετάλλων. Είναι σημαντικό κατά τη χρήση των βιοδεικτών να κατανοεί κανείς πλήρως τις δυνατότητες αλλά και τους περιορισμούς των τεχνικών και να είναι πολύ προσεκτικός όταν πραγματοποιεί εκτιμήσεις μεταξύ ειδών.



### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Την τελευταία δεκαετία παρατηρείται η τάση για την ανάπτυξη μοριακών βιοδεικτών και κυρίως μη-θανατηφόρων βιοδεικτών. Παράλληλα, επισημαίνεται από ορισμένους ερευνητές ότι είναι αναγκαία η ανάπτυξη πιστοποιημένων βιοδεικτών με μεγαλύτερη ευαισθησία, ώστε να μπορούν να βοηθήσουν στην εκτίμηση των επιπέδων ρύπανσης του περιβάλλοντος.



### 3.4. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ

Ένα μετρήσιμο μέγεθος για να χαρακτηριστεί βιοδείκτης πρέπει να συγκεντρώνει τις παρακάτω προϋποθέσεις (Sanchez W.et.al.2009):

- Η μέθοδος που χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό του βιοδείκτη πρέπει να είναι αξιόπιστη, να έχει χαμηλό κόστος, να χαρακτηρίζεται από επαναληψιμότητα και να είναι σχετικά εύκολη και απλή.
- Ο βιοδείκτης πρέπει να είναι ευαίσθητος στην έκθεση ή στις επιδράσεις των τοξικών παραγόντων στον οργανισμό, ώστε να χρησιμοποιείται ως έγκαιρη προειδοποίηση.
- Τα επίπεδα αναφοράς του βιοδείκτη πρέπει να είναι σαφώς προσδιορισμένα, ώστε να μπορεί να γίνει διάκριση μεταξύ της φυσικής διακύμανσης (θόρυβος) και της έντασης /stress που προκαλείται από την έκθεση του οργανισμού σε ξеноβιοτικούς παράγοντες (ένδειξη).(Valavanidis A.et.al 2006)
- Θα πρέπει να είναι ξεκάθαρες οι επιπτώσεις/επιδράσεις άλλων παραγόντων στην απόκριση του βιοδείκτη.
- Θα πρέπει να είναι ξεκάθαροι οι μηχανισμοί που συνδέουν την απόκριση του βιοδείκτη με την έκθεση σε κάποιο ρυπογόνο/τοξικό παράγοντα (δόση, χρόνος).
- Θα πρέπει να είναι εδραιωμένη η τοξικολογική σημασία του βιοδείκτη, όπως η σχέση της απόκρισης του βιοδείκτη και των (μακροπρόθεσμων) επιπτώσεών του στον οργανισμό.
- Οι βιοδείκτες θα πρέπει να επιτρέπουν τη χρήση τους για την παρακολούθηση των επιδράσεων της ρύπανσης σε προστατευόμενα ή απειλούμενα είδη.



**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 3<sup>ου</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ:**

Adams S.M., 1990. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. American Fisheries Society Symposium, 8, 1-8.

Bainy ACD, Marques MRF. Global analysis of biomarker responses in aquatic organisms exposed to contaminants. Comments on Toxicology, 2003, 9: 271-278.

Bayne B.L., 1989. Measuring the biological effects of pollutants: the mussel watch approach. Water Science and Technology, 21, 1089-1100.

Bresler V., Bissinger V., Abelson A., Dizer H., Sturm A., Kratke R., Fishelson L., Hansen P.D., 1999. Marine molluscs and fish as biomarkers of pollution stress in littoral regions of the Red Sea, Mediterranean Sea and North Sea. Helgoland Marine Research, 53, 219-243.

Cochrane B.J., Irby R.B., Snell T.W. Effects of copper and tributyltin on stress protein abundance in the rotifer *Brachionus plicatilis*. United States, 1991.

Committee on Biological Markers of the National Research Council. Biological markers in environmental health research. Environ Health Perspect, 1987, 74: 3-9.

Dickerson RL, Hooper MJ, Gard NW, et al. Toxicological foundations of ecological risk assessment: Biomarker development and interpretation based on laboratory and wildlife species. Environ Health Perspect, 1994, 102(12):65-69.



### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Δημητριάδης Β.Κ., Καλογιάννη Μ., Λαζαρίδου Μ., 2006. Οικοτοξικολογία. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Εκδόσεων. Θεσσαλονίκη.

Gray J.S., 1992. Eutrophication in the sea. In: Marine Eutrophication and population dynamics. Proc. 25th European Mar. Biol Symp G Columbo (Ed). Olsen & Olsen, Denmark pp 3-15.

Huggert R.J., Kimerle R.A., Mehrle P.M. and Bergman H.L. (Eds) 1992. Biomarkers; Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, p. 347.

Handy RD, Galloway TS, Depledge MH. A proposal for the use of biomarkers for the assessment of chronic pollution and in regulatory toxicology. *Ecotoxicol*, 2003, 12: 331-343.

McCarthy J.F. & Shugart L.R. , 1990. Biomarkers of environmental contamination. Lewis Pdl, Florida USA.

McCarty LS, Power M, Munkittrick KR, Bioindicators versus biomarkers in ecological risk assessment, *Human and Ecological Risk Assessment*, 2002, 8:159-164.

Parvez S, Raisuddin S. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). *Environ Toxicol Pharmacol*, 2005, 20:112-117.

Roy S., Hanninen O., 1993. Biochemical monitoring of the aquatic environment: possibilities and limitations. In: Richardson M. (ed) *Ecotoxicology monitoring*, pp. (119-135), VCH-Verlag. *Human and Ecological Risk Assessment*, 9, 741-760.



Sanchez W, Porcher JM. Fish biomarkers for environmental monitoring within the Water Framework Directive of the European Union, Trends in Analytical Chemistry, 2009, 28(2): 150-15.

Valavanidis A, Vlahogianni Th, Dasenakis M, Scoullos M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicol Environmental Saf, 2006, 64: 178-189.



## 4. Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΑ ΝΕΡΑ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

## 4.1 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ

Η εκτίμηση της ποιότητας των επιφανειακών υδάτων μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του '80 γινόταν μόνο με χημικές μεθόδους. Σύμφωνα με αυτές, λαμβάνονταν δείγματα νερού από διάφορες θέσεις και ακολουθούσε η ανάλυσή τους προκειμένου να διερευνηθεί η χημική τους σύσταση, όπως η περιεκτικότητα σε οξυγόνο, η συγκέντρωση νιτρικών, φωσφορικών και αμμωνιακών ιόντων και άλλων ουσιών που θα μπορούσαν να υπάρχουν στο δείγμα. Στη συνέχεια, εφόσον εντοπιζόνταν επιβλαβείς ουσίες σε αυξημένες συγκεντρώσεις, λαμβάνονταν συγκεκριμένα μέτρα αντιμετώπισης του προβλήματος.

Όμως από το 1983 κι έπειτα πολλοί ερευνητές άρχισαν να αντιλαμβάνονται ότι μόνο με τη χρήση χημικών μεθόδων δεν είναι δυνατό να υπάρξει μία ολοκληρωμένη εκτίμηση της ποιότητας των υδάτων σε βάθος χρόνου, δεδομένου ότι η εφαρμοζόμενη μέθοδος πληροφορούσε για την κατάσταση των νερών κατά τη στιγμή της δειγματοληψίας. Έτσι άρχισαν να εισάγονται στο συγκεκριμένο ερευνητικό πεδίο και οι βιολογικές μέθοδοι, οι οποίες παρουσιάζουν σημαντικά πλεονεκτήματα. Οι βιολογικές μέθοδοι υπερτερούν ως προς την εκτίμηση τοξικότητας, γιατί δεν απαιτούν συχνές δειγματοληψίες και δίνουν πληροφορίες μακροχρόνιες για το επίπεδο ρύπανσης αφού οι οργανισμοί διαβιούν και υφίστανται τις περιβαλλοντικές πιέσεις για μεγάλα χρονικά διαστήματα και ανιχνεύουν ποιοτικές αλλαγές, οι οποίες δύσκολα θα ανιχνεύονταν από τις χημικές μετρήσεις. Αντίθετα οι χημικές μέθοδοι δίνουν στιγμιαίες πληροφορίες και απαιτούν επαναλαμβανόμενες μετρήσεις.

Συγκεκριμένα, τα βασικά πλεονεκτήματα της παρακολούθησης των υδάτων με βιολογικές μεθόδους είναι τα ακόλουθα:

1. Οι βιοκοινότητες αντανakλούν την ολική οικολογική κατάσταση του οικοσυστήματος.
2. Οι βιοκοινότητες αντανakλούν τις πιέσεις καθ' όλη τη διάρκεια του



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

έτους και παρέχουν ικανή- οικολογική εκτίμηση των μεταβαλλόμενων περιβαλλοντικών συνθηκών.

3. Η περιοδική καταγραφή των βιοκοινοτήτων είναι σχετικά μη δαπανηρή, ειδικά όταν συγκρίνεται με το κόστος της εκτίμησης των τοξικών ρυπαντών με χημικές αναλύσεις ή με τεστ τοξικότητας και

4. Οι βιολογικές μέθοδοι είναι ιδανικές όταν δεν έχουν προσδιοριστεί τα αίτια της ρύπανσης όπως για παράδειγμα μη σημειακές πηγές ρύπανσης.

Σήμερα έχει γίνει πλέον αντιληπτό ότι προκειμένου να επιτευχθεί μία ολοκληρωμένη εκτίμηση της ποιότητας των επιφανειακών υδάτων είναι απαραίτητες και οι χημικές και οι βιολογικές μέθοδοι, καθώς και μετρήσεις της μορφολογικής αλλοίωσης του περιβάλλοντα χώρου κάθε υδάτινου συστήματος. Επιπλέον, ο εντοπισμός των αιτιών της ρύπανσης είναι το πρώτο βήμα με στόχο τη βέλτιστη διαχείριση των φυσικών πόρων και την ορθολογική εκμετάλλευσή τους.





### 4.2 Η ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΩΝ

Η αρχή της χρήσης των **βιολογικών δεικτών ή βιοδεικτών**, για την εκτίμηση της ποιότητας των επιφανειακών υδάτων μπορεί να θεωρηθεί ότι έγινε από τους Kolenati (1848) και Cohn (1853), γιατί οι ερευνητές αυτοί διαπίστωσαν την παρουσία **διαφορετικών βιοκοινοτήτων σε καθαρά και μη καθαρά ύδατα**, όπως αναφέρει ο Liebmann (1962).

Από τότε έχει αναπτυχθεί ένας μεγάλος αριθμός βιολογικών μεθόδων για την εκτίμηση της ποιότητας των υδάτων, οι οποίες συνοψίζονται σε δύο κατηγορίες:

A) Στο σύστημα, που αναπτύχθηκε στην Ευρώπη ( τροποποιήθηκε αργότερα από άλλους ερευνητές , Liebmann 1962 , Sladecsek 1973, κ.ά.) και βασίζεται κυρίως στην παρουσία μικροσκοπικών ειδών, τα οποία ανήκουν στις πλαγκτονικές και περιφυτικές κοινότητες και λειτουργούν ως βιοδείκτες.

B) Στο σύστημα που αναπτύχθηκε στις ΗΠΑ και βασίζεται στην παρουσία των μακροασπονδύλων τα οποία λειτουργούν ως βιοδείκτες.

Τελικά, στη 10ετία του 1960 υπήρχαν τόσοι δείκτες και βιολογικές μέθοδοι, όσοι και οι επιστήμονες που εργάζονταν σε αυτόν τον τομέα (Bartch & Ingram, 1966). Έτσι άρχισαν να γίνονται προσπάθειες εναρμόνισης και βαθμονόμησης όλων των μεθόδων προκειμένου τα αποτελέσματά τους να είναι συγκρίσιμα. Η προσπάθεια ξεκίνησε από την Ευρωπαϊκή Ένωση με τη διοργάνωση τριών μελετών εναρμόνισης και βαθμονόμησης στην Γερμανία (Tittitzer, 1976), στη Μεγάλη Βρετανία (Woodiwiss, 1978) και στην Ιταλία (Ghetti & Bonazzi, 1980). Σκοπός των τριών μελετών ήταν να γίνει σύγκριση των διαφορετικών μεθόδων βιολογικής δειγματοληψίας, σύγκριση των μεθόδων βιολογικής εκτίμησης και να αναπτυχθούν αρμονικές σχέσεις μεταξύ των μεθόδων.



Από τις παραπάνω μελέτες έγινε φανερό ότι:

1. Οι βιολογικές μέθοδοι θα πρέπει να αποτελούν αναπόσπαστο μέρος των διαδικασιών εκτίμησης της ποιότητας των υδάτων και να συνδυαστούν με τις χημικές μεθόδους για να επιτευχθεί μια πλήρης εκτίμηση της ποιότητας των υδάτων
2. Τα βενθικά μακροασπόνδυλα παρουσιάζουν πολλά πλεονεκτήματα στη χρήση τους ως βιοδείκτες.
3. Θα πρέπει να γίνει τυποποίηση όλων των βιολογικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται στην Ευρώπη ώστε να δίνουν συγκρίσιμα αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, θα πρέπει:
  - να καθοριστούν και να καταγραφούν οι περιβαλλοντικές πληροφορίες, που θα αποτελούν τη βάση για την ερμηνεία των βιολογικών πληροφοριών,
  - να δημιουργηθεί ένα κατάλληλο πρωτόκολλο που θα καθορίζει τις τεχνικές και τις μεθόδους δειγματοληψίας,
  - να καθοριστεί ένα συγκεκριμένο επίπεδο ταξινόμησης για την αναγνώριση των οργανισμών και
  - να καθοριστούν και να διευκρινισθούν πλήρως οι μέθοδοι για τον υπολογισμό των βιολογικών δεικτών και των ορίων εφαρμογής τους.



### 4.3 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ ΔΕΙΚΤΩΝ

Στη συνέχεια παρουσιάζονται ορισμένοι διαδεδομένοι βιοτικοί δείκτες που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της οικολογικής κατάστασης των ποταμών στην Ευρώπη.

#### 4.3.1 Βιοτικός Δείκτης *Indice Biotico Esteso* (IBE)

Ο σκοπός του δείκτη IBE είναι η εκτίμηση της περιβαλλοντικής ποιότητας των ρεόντων υδάτων με βάση τις αλλαγές στη σύνθεση της κοινότητας των μακροασπονδύλων, οι οποίες προκαλούνται από τη ρύπανση και από σημαντικές αλλαγές στο φυσικό περιβάλλον των ποταμών. Προτιμήθηκαν τα μακροασπόνδυλα έναντι άλλων συστημικών ομάδων διότι:

- α) περιλαμβάνουν πολλά είδη με διαφορετικές ανοχές στη ρύπανση,
- β) συλλέγονται και ταξινομούνται εύκολα,
- γ) είναι σταθερά και αντιπροσωπευτικά του τύπου από τον οποίο συλλέγονται.

Η μέθοδος προκύπτει από τον Trent Biotic Index (TBI, Woodiwiss, 1964), ο οποίος εξελίχθηκε περαιτέρω ως Extended Biotic Index (EBI, Woodiwiss, 1978) και προσαρμόστηκε για τους υδατικούς πόρους της Ιταλίας.

#### Χαρακτηριστικά του δείκτη

Ο δείκτης είναι σχεδιασμένος για την εκτίμηση των επιπτώσεων που προκαλούν οι στρεσογόνοι παράγοντες του περιβάλλοντος σε σχετικά μεγάλη χρονική περίοδο. Αυτό οφείλεται στο ότι τα μακροασπόνδυλα στα ρέοντα ύδατα αποτελούνται από πολυάριθμους πληθυσμούς, οι οποίοι έχουν σχετικά μεγάλους κύκλους ζωής, διαφορετική ευαισθησία στις περιβαλλοντικές αλλαγές, διαφορετικούς οικολογικούς ρόλους.

Ο δείκτης IBE δείχνει την ποιότητα σε μια περιοχή ρεόντος ύδατος στην οποία συνυπάρχουν ποικίλοι παράγοντες διαταραχής (φυσικοί, χημικοί, βιολογικοί) με αποτέλεσμα αυτός ο δείκτης να έχει καλή ικανότητα σύνθεσης ("synthesis" capacity). Όμως έχει μικρή αναλυτική ικανότητα ("analytical" capacity), γιατί δεν μπορεί να αναγνωρίσει την αιτία ή τις αιτίες που προκαλούν το αποτέλεσμα.



Ο δείκτης φανερώνει την οικολογική ποιότητα της κοίτης του ποταμού και μόνο έμμεσα τη φυσική και χημική ποιότητα της κοίτης και του υποστρώματος. Θα πρέπει να χρησιμοποιείται ως συμπληρωματικός των φυσικοχημικών μεθόδων παρακολούθησης ειδικά όταν καθορίζεται η ποιότητα των υδάτων που προορίζονται για αστική, γεωργική, βιομηχανική ή ψυχαγωγική χρήση.

Από την άλλη ο βιοτικός δείκτης παίζει σπουδαίο ρόλο για τον καθορισμό της ποιότητας των υδάτων προκειμένου να προστατευθούν οι υδρόβιοι οργανισμοί (Ghetti, 1997).

Εξαιτίας των χαρακτηριστικών του, ο δείκτης αυτός είναι πολύ χρήσιμος για την πρωταρχική διάγνωση σε ολόκληρα υδρογραφικά δίκτυα, για την επακόλουθη παρακολούθησή τους, για την εκτίμηση των επιδράσεων των σημειακών και διάχυτων πηγών ρύπανσης, για την εκτίμηση των φυσικών αλλαγών στις κοίτες των ποταμών, για τη διαχείριση της αλιείας κ.α.

### Περιβάλλοντα όπου μπορεί να εφαρμοσθεί ο δείκτης

Ο δείκτης μπορεί να εφαρμοσθεί σε όλα τα ενδiaiτήματα ρεόντων εσωτερικών υδάτων που είναι σταθερά αποικισμένα και έχουν ως αναμενόμενη τιμή του δείκτη τουλάχιστον 10 (Ghetti, 1997). Είναι δυνατό σε κάποια ενδiaiτήματα η φυσική τιμή να είναι μικρότερη του 10: π.χ. σε τμήματα που βρίσκονται κοντά σε ολιγοτροφικές πηγές, σε ύδατα που προέρχονται από λιώσιμο των πάγων, σε εκβολές με εύρος αλατότητας, σε ρέοντα ύδατα παρατεταμένης διάρκειας, σε τμήματα μετά από σφοδρές ξηρασίες ή πλημμύρες που δεν είναι πλήρως αποικισμένα.



### 4.3.2 Βιοτικός Δείκτης Belgian Biotic Index (BBI)

Το 1978 το Υπουργείο της Δημόσιας Υγείας του Βελγίου άρχισε να χρηματοδοτεί ένα εκτεταμένο πρόγραμμα για την έρευνα της ποιότητας όλων των υδάτινων οικοσυστημάτων με βιολογικές μεθόδους. Για το σκοπό αυτό δημιουργήθηκαν ομάδες ειδικών σε διάφορα μέρη της χώρας, τις οποίες συντόνιζε το Εθνικό Ινστιτούτο Υγιεινής και Επιδημιολογίας στις Βρυξέλλες. Αποφασίσθηκε να εφαρμοσθεί μία κοινή μέθοδος εκτίμησης, η οποία θα ήταν πρακτική, γρήγορη και εφαρμόσιμη σε όλα τα ρέοντα ύδατα. (De Pauw & Vanhooren, 1983). Το αποτέλεσμα ήταν η δημιουργία του Βελγικού Βιοτικού Δείκτη (Belgian Biotic Index, BBI).

Η μέθοδος βασίζεται στην ποιοτική δειγματοληψία των μακροασπονδύλων. Για κάθε τόπο δειγματοληψίας συμπληρώνεται ένα πρωτόκολλο πεδίου προκειμένου να διευκολύνεται η ερμηνεία των βιολογικών δεδομένων. Θα πρέπει να συγκρίνονται μόνο εκτάσεις ποταμών με παρόμοια γεωμορφολογικά χαρακτηριστικά. Το φύλλο εργασίας του πρωτοκόλλου που συμπληρώνεται στο πεδίο βοηθά στην έρευνα και στη σύντομη περιγραφή τέτοιων χαρακτηριστικών του τόπου δειγματοληψίας, όπως η φύση του πυθμένα του ποταμού, το βάθος, το πλάτος, η ταχύτητα ροής, η βλάστηση κ.α..

Για να είναι συγκρίσιμα τα αποτελέσματα, η δειγματοληψία θα πρέπει να καλύπτει περιορισμένη έκταση και να πραγματοποιείται σε περιορισμένο χρονικό διάστημα (3-5 λεπτά ανάλογα με το μήκος των ποταμών).

#### Ερμηνεία του Δείκτη BBI

Οι τιμές του βιοτικού δείκτη κυμαίνονται από 0 έως 10. Γενικά, η υψηλότερη τιμή του δείκτη (10) σημαίνει απουσία ρύπανσης. Όσο μικραίνει η τιμή του δείκτη τόσο χειρότερη είναι η ποιότητα του νερού.

1. Η μείωση του δείκτη από το 10 στο 7 σημαίνει πως στο υδατικό σώμα υπάρχει ένα συγκεκριμένο ποσό ρύπανσης, η οποία είναι σε χαμηλά επίπεδα. (De Pauw & Vanhooren, 1983).
2. Εάν ο δείκτης ισούται με 5 ή λιγότερο ( $BBI \leq 5$ ) σημαίνει πως το νερό έχει υψηλή ρύπανση και η κατάσταση είναι κρίσιμη.



3. Όταν ο δείκτης ισούται με το μηδέν σημαίνει, απόλυτη απουσία βιοτικών δεικτών και αντιστοιχεί με το μαύρο χρώμα του νερού.

### 4.3.3 Βιοτικός Δείκτης Biological Monitoring Working Party (BMWP)

Ο δείκτης BMWP (Biological Monitoring Working Party) δημιουργήθηκε το 1981 από το Βρετανικό Εθνικό Συμβούλιο των Υδάτων (National Water Council).

Είναι ένα σύστημα βιοτικού δείκτη που προσπάθησε να εντάξει και στοιχεία ποσοτικής ανάλυσης των ειδών, τα οποία όμως στη συνέχεια εγκαταλείφθηκαν.

Στο δείκτη BMWP η ταξινόμηση των ατόμων γίνεται στο επίπεδο της οικογένειας των μακροασπονδύλων, με αποτέλεσμα να μειώνεται ο χρόνος επεξεργασίας των δειγμάτων. Με αυτόν τον τρόπο τα δείγματα παρουσιάζουν μεγαλύτερη ομοιογένεια, αποφεύγονται οι διακυμάνσεις που οφείλονται σε εσφαλμένη αναγνώριση των ειδών και επιτυγχάνεται μεγαλύτερο εύρος εφαρμογής του δείκτη. Ο δείκτης BMWP αρχικά διαχώρισε τη συλλογή βενθικών οργανισμών σε άτομα που συλλέγονται από περιοχές όπου επικρατεί η διαδικασία της διάβρωσης και σε άτομα που συλλέγονται από περιοχές όπου επικρατεί η διαδικασία ιζηματοποίησης. Ο διαχωρισμός αυτός αργότερα εγκαταλείφθηκε.

Η βαθμολογία της κάθε οικογένειας κυμαίνεται από 1 έως 10 ανάλογα με την ανθεκτικότητά της στη ρύπανση (συνήθως οργανική). Συγκεκριμένα, οι υψηλές τιμές αντιστοιχούν στις ομάδες που είναι ευαίσθητες στη ρύπανση ενώ οι χαμηλότερες τιμές αντιστοιχούν στις ομάδες που είναι ανθεκτικότερες στη ρύπανση.

Ο δείκτης BMWP αν και δεν έχει ανώτατο όριο τιμών, ωστόσο τιμές πάνω από 200 είναι σπάνιες. Οι χαμηλές τιμές του δείκτη σημαίνουν χαμηλή ποιότητα των υδάτων, ενώ οι υψηλότερες σημαίνουν υψηλότερη ποιότητα υδάτων.

Ένα από τα προβλήματα εφαρμογής του δείκτη BMWP ήταν η εξάρτησή του από το μέγεθος του δείγματος, γιατί όσο μεγαλύτερη είναι η χρονική διάρκεια της δειγματοληψίας, τόσο περισσότερες οικογένειες προστίθενται στο



υπολογισμό του δείκτη, με αποτέλεσμα την αύξηση της βαθμολογίας για τον τόπο της δειγματοληψίας. (Γιαννάκου 2000) Σύμφωνα με το σύστημα BMWP, συστήνεται η σύγκριση των τιμών μεταξύ διαφορετικών τόπων να γίνεται σε χρονική βάση και να μην πραγματοποιούνται χωρικές συγκρίσεις (Logan, 2001). Επίσης, συστήνεται η χρήση του δείκτη ASPT (Average Score Per Taxon), για να μειωθούν τα σφάλματα δειγματοληψίας.

Ένα ακόμη πρόβλημα του δείκτη είναι το γεγονός ότι σε διαφορετικά ποτάμια μη ρυπασμένα προέκυψαν διαφορετικά αποτελέσματα του BMWP εξαιτίας της ύπαρξης φυσικής ποικιλότητας στις βιοκοινωνίες. Για το λόγο αυτό δεν είναι πρακτική η σύγκριση της κατάστασης διαφορετικών ποταμών. Προκειμένου να παρακαμφθεί αυτό το μειονέκτημα άρχισε ένα ερευνητικό πρόγραμμα το οποίο κατέληξε στην ανάπτυξη του Συστήματος RIVPACS (River Invertebrate Prediction and Classification System) (Logan, 2001).

Το σύστημα RIVPACS είχε δύο στόχους. Πρώτον, να αναπτυχθεί η βιολογική ταξινόμηση μη ρυπασμένων ποταμών και τόπων στην Αγγλία με βάση την πανίδα των μακροασπονδύλων. Η ταξινόμηση έχει πρακτική εφαρμογή στη διατήρηση της φύσης και επίσης είναι απαραίτητη για την επίτευξη του δεύτερου στόχου. Ο δεύτερος στόχος είναι να διαπιστωθεί κατά πόσο θα μπορούσε να προβλεφθεί, με τη χρήση φυσικών και χημικών χαρακτηριστικών, ο τύπος της κοινωνίας των μακροασπονδύλων που αναμένεται σε ένα μη μολυσμένο τόπο (Wright et al, 1993).

#### 4.3.4 Βιοτικός Δείκτης Average Score Per Taxon (ASPT)

Ο δείκτης ASPT προκύπτει αν διαιρεθεί η τελική βαθμολογία του δείκτη BMWP με τον αριθμό των ταξινομικών μονάδων, οι οποίες παίζουν ρόλο για τον υπολογισμό του BMWP. Έτσι, περιορίζονται όλες οι τιμές στο διάστημα από 1 έως 10 και ο δείκτης είναι ανεξάρτητος των ταξινομικών μονάδων. Επίσης, με αυτόν τον τρόπο ο BMWP δεν επηρεάζεται από τις εποχιακές διακυμάνσεις, την τεχνική της δειγματοληψίας και επομένως έχει τα επιθυμητά χαρακτηριστικά ενός δείκτη για την εκτίμηση της ποιότητας των υδάτων



### 4.3.5 Βιοτικός Δείκτης Iberian Biological Monitoring Working Party (IBMWP ή BMWP)

Στην Ισπανία χρησιμοποιείται ο βιοτικός δείκτης IBMWP (Iberian Biological Monitoring Working Party) ως εθνική μέθοδος για την ταξινόμηση των ποταμών και είναι μία προσαρμογή του βρετανικού δείκτη BMWP. Δηλαδή ο δείκτης IBMWP υπολογίζεται όπως ο βρετανικός BMWP, αλλά αναφέρεται στην πανίδα της ιβηρικής χερσονήσου.

### 4.3.6. Βιοτικός Δείκτης Hellenic Evaluation Score (HES)

Ο δείκτης HES (Hellenic Evaluation Score, Artemiadou & Lazaridou, 2004) και ο δείκτης μετάφρασής του (Interpretation Index) αναπτύχθηκε βασισμένος στην εύκολη συλλογή των δειγμάτων: α) από όλες τις εποχές, β) από διαφορετικούς τύπους υποστρωμάτων και γ) με διαφορετικά χαρακτηριστικά των ενδιαιτημάτων. Όλα τα παραπάνω αντιπροσωπεύουν ορισμένες παραμέτρους από την τυπολογία των ποταμών της Οδηγίας – Πλαίσιο.

Για τη δημιουργία του δείκτη HES τροποποιήθηκε ο ισπανικός δείκτης IBMWP (Iberian Biological Monitoring Working Party), ο οποίος βασίζεται στην αναγνώριση των βενθικών μακροασπονδύλων στο επίπεδο της οικογένειας. Επιλέχθηκε, ο δείκτης IBMWP, ο οποίος σχεδιάστηκε για τα ισπανικά ποτάμια, γιατί περιλαμβάνει περισσότερες οικογένειες που είναι παρούσες και στα ελληνικά ποτάμια σε σχέση με το βρετανικό δείκτη BMWP (Biological Monitoring Working Party). Ωστόσο έχει αποδειχθεί ότι τα ελληνικά ποτάμια περιλαμβάνουν περισσότερες ταξινομικές ομάδες απ' ότι ο δείκτης IBMWP.

Η κυριότερη διαφορά του δείκτη HES από τον Βρετανικό (BMWP) και τον Ισπανικό (IBMWP) δείκτη είναι το γεγονός ότι περιλαμβάνει τρεις κατηγορίες σχετικής αφθονίας, οι οποίες βοήθησαν για μία πιο ακριβή ταξινόμηση των τόπων σύμφωνα με την ποιότητα των υδάτων τους και ειδικά για τους τόπους μέτριας οικολογικής ποιότητας.





#### 4.4. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΟΤΑΜΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΒΙΟΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Με τη χρήση των βιοτικών δεικτών στην εκτίμηση της ποιότητας των ποταμών προσδιορίζονται οι επιδράσεις όλων των αιτιών ρύπανσης στα οικοσυστήματα των ποταμών, αντιθέτως με τις χημικές αναλύσεις εντοπίζονται οι ακριβείς αιτίες που προκαλούν το φαινόμενο ρύπανσης. (Γιαννάκου, 2000).

Ένα από τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα της βιολογικής παρακολούθησης των ποταμών είναι ότι δίνει πληροφορίες για τη συνολική κατάσταση του ενδιαιτήματος σε βάθος χρόνου σε αντίθεση με τη χημική παρακολούθηση που δείχνει την ποιότητα του δείγματος τη στιγμή της δειγματοληψίας. (Αναγνωστοπούλου, 1992).

##### Η συμβολή της βιοκοινότητας στην εκτίμηση της ποιότητας του νερού.

Η συμβολή της βιοκοινότητας είναι πολύ σημαντική στην εκτίμηση της συνολικής ποιότητας του νερού.

Η παρουσία ή απουσία μιας βιοκοινότητας σε ένα οικοσύστημα εξαρτάται από τις παραμέτρους του περιβάλλοντος. Κάθε είδος για τη διαβίωσή του έχει συγκεκριμένες φυσικές, χημικές και θρεπτικές απαιτήσεις. Η παρουσία μιας βιοκοινότητας σε αφθονία υποδηλώνει ότι το ενδιαίτημα καλύπτει τις φυσικές, χημικές και θρεπτικές της ανάγκες.

Όταν παρατηρούνται αλλαγές στη συμπεριφορά ή στον αριθμό (απουσία ή παρουσία) ενός είδους ή περισσότερων ειδών σημαίνει ότι κάποιες παράμετροι του περιβάλλοντος αλλάζουν και είναι εκτός των ορίων της ανοχής τους.

Όταν η ποιότητα του ενδιαιτήματος χειροτερεύει εξαφανίζονται πρώτα τα πιο ευαίσθητα είδη και σταδιακά τα λιγότερο ευαίσθητα. Κατορθώνουν να επιβιώσουν μόνο τα είδη που είναι πιο ανθεκτικά στη ρύπανση, τα οποία μάλιστα μετά από ένα χρονικό διάστημα παρουσιάζουν μεγάλη αύξηση του πληθυσμού, γιατί υπάρχει άφθονη τροφή και μικρότερος ανταγωνισμός. Το αποτέλεσμα είναι η μείωση της βιοποικιλότητας στο συγκεκριμένο περιβάλλον.

Ευαίσθητος περιβαλλοντικός δείκτης είναι αυτός ο οποίος έχει περιβαλλοντικές ανοχές μικρού εύρους (Ghetti & Ravera, 1993). Η παρουσία ενός είδους, του οποίου η κατανομή και η αφθονία δεν επηρεάζονται από



σημαντικές μεταβολές στις φυσικοχημικές παραμέτρους ποιότητας των νερών, δεν μπορεί να αποτελεί έναν ευαίσθητο δείκτη ποιότητας του περιβάλλοντος στο οποίο ζει (Johnson R.K. et al., 1993).

**Ένας οργανισμός που λειτουργεί ως τμήμα του βιοτικού δείκτη θα πρέπει να έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά (Hellawell J.M., 1986 , Γιαννάκου, 2000):**

1. Διεθνώς αναγνωρισμένη ταξινόμηση
2. Μεγάλο μέγεθος σώματος για εύκολη ταξινόμηση
3. Μεγάλη γεωγραφική κατανομή προκειμένου η σύγκριση των αποτελεσμάτων να μπορεί να πραγματοποιηθεί σε τοπική και διεθνή κλίμακα.
4. Αφθονία για να είναι εύκολη η δειγματοληψία και η ποσοτική ανάλυση.
5. Παρόμοια μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά καθώς και παρόμοια συμπεριφορά στα διάφορα μήκη και πλάτη της γης.
6. Περιορισμένη κινητικότητα, για να είναι αντιπροσωπευτικός δείκτης του περιβάλλοντος στο οποίο βρέθηκε.
7. Μεγάλο κύκλο ζωής προκειμένου η δειγματοληψία να μπορεί να πραγματοποιείται όλο το χρόνο.
8. Ευαισθησία δηλ. να έχει περιβαλλοντικές ανοχές μικρού εύρους ώστε να αποτελεί ευαίσθητο δείκτη ποιότητας.
9. Η οικολογία του να έχει μελετηθεί σε ικανοποιητικό βαθμό, για να είναι γνωστές οι περιβαλλοντικές ανοχές.
10. Να έχει δυνατότητα πειραματικών εφαρμογών σε εργαστηριακή κλίμακα.



Στο 29<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών που διεξήχθη στην Καβάλα το Μάη του 2007, ο Καρμέζης Μ. και οι συνεργάτες του, παρουσίασαν την Εκτίμηση της Οικολογικής Ποιότητας του Νερού στην Περιοχή Ν. Φιλαδέλφειας (Γαλλικός Ποταμός) κατά τα έτη 2004-2006.

Σκοπός της παρούσας εργασίας, ήταν η εκτίμηση σύμφωνα με την οδηγία 2000/60/ΕΚ, της ποιότητας του νερού στην περιοχή του Γαλλικού Ποταμού κοντά στο χωριό Ν. Φιλαδέλφεια.

Η έρευνα έγινε στο πλαίσιο του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος Βιολογίας του Α.Π.Θ. Δειγματοληψίες νερού και βιολογικού υλικού πραγματοποιήθηκαν τον Οκτώβριο του 2004 και 2005 και το Μάρτιο και Οκτώβριο του 2006. Τα βενθικά μακροασπόνδυλα συλλέχθηκαν με την ημι-ποσοτική μέθοδο 3+1 λεπτού κλώσημα-σάρωση (kick-sweep). Οι δειγματοληψίες ψαριών έγιναν με ηλεκτραλιεία. Οι μετρήσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού έγιναν *in situ* και στο εργαστήριο. Η εκτίμηση της φυσικής κατάστασης του ποταμού στη συγκεκριμένη θέση πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο River Habitat Survey (RHS). Η σύνθεση της βιοκοινωνίας των βενθικών μακροασπονδύλων αναλύθηκε με τις πολυπαραγοντικές τεχνικές: ανάλυση κανονικών αντιστοιχιών (CCA) και ανάλυση ποσοστών ομοιότητας (Simpser).

Η οικολογική κατάσταση της θέσης δειγματοληψίας προσδιορίστηκε με τη χρήση του Ελληνικού Συστήματος Αξιολόγησης (ΕΣΑ), ενώ χρησιμοποιήθηκε και ο Ιβηρικός Δείκτης Συνεχούς Παρακολούθησης (ΙΒΔΣΠ). Σύμφωνα με τη μέθοδο RHS η περιοχή δειγματοληψίας χαρακτηρίστηκε ως «σημαντικά τροποποιημένη». Η σύνθεση και η αφθονία των οικογενειών των βενθικών μακροασπονδύλων εμφάνισαν διαφορές κατά τη διάρκεια της έρευνας. Αύξηση της αφθονίας και του αριθμού των ταξινομικών ομάδων παρατηρήθηκε από το 2004 έως το 2006. Σύμφωνα με το ΕΣΑ η ποιότητα του ποταμού τον Οκτώβριο του 2004 χαρακτηρίστηκε ως «κακή», τον Οκτώβριο του 2005 ως «μέτρια», το Μάρτιο του 2006 ως «καλή» και τον Οκτώβριο του 2006 ως «μέτρια». Ο δείκτης ΙΒΔΣΠ χαρακτήρισε τα νερά του ποταμού τον Οκτώβριο του 2004 ως «ρυπασμένα», τον Οκτώβριο του 2005 ως «διαταραγμένα», το Μάρτιο του 2006 ως «πολύ καθαρά» και τον Οκτώβριο του 2006 ως «καθαρά». Τον Οκτώβριο του 2006 αναγνωρίστηκαν τέσσερα



είδη ψαριών τα *Gobio gobio*, *Barbus peloponnesius*, *Gambusia affinis* και *Leuciscus cephalus*, με το τελευταίο να εμφανίζει την υψηλότερη σχετική αφθονία σε αριθμό και κατά βάρος συμμετοχή. Συμπερασματικά, η οικολογική ποιότητα στην εξεταζόμενη θέση (περιοχή Ν. Φιλαδέλφειας, Γαλλικός ποταμός) βρέθηκε «κακή» ως «μέτρια» εκτός από τον Μάρτιο του 2006 («καλή») που ήταν η μοναδική δειγματοληψία σε περίοδο υψηλής ροής. (Καρμέζης Μ. et.al.2007)

### 4.5. ΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΥΔΡΟΒΙΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΩΣ ΒΙΟΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΕ ΡΕΟΝΤΑ ΥΔΑΤΑ.

Για την εκτίμηση της ποιότητας των ρεόντων υδάτων με χρήση των βιοτικών δεικτών οι επιστήμονες χρησιμοποιούν διάφορες ομάδες υδρόβιων οργανισμών όπως το πλαγκτόν, το φυτοβένθος (κυρίως τα διάτομα), τα μακροασπόνδυλα, τα μακρόφυτα, την ιχθυοπανίδα κ.α.. Από αυτές τις ομάδες οργανισμών τα βενθικά μακροασπόνδυλα χρησιμοποιούνται ευρέως και σε παγκόσμια κλίμακα ως βιοτικοί δείκτες. Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά, τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα ορισμένων από τις παραπάνω ομάδες.

#### 4.5.1.Μακροασπόνδυλα

Ο όρος «μακροασπόνδυλα» δεν αναφέρεται σε μία ταξινομική ομάδα αλλά σε ένα τμήμα των ασπόνδυλων ζώων (Alba Tercedor, 2006). Γενικά, στα ρέοντα ύδατα μακροασπόνδυλοι θεωρούνται οι οργανισμοί που έχουν μέγεθος αρκετά μεγάλο ώστε να πιαστούν σε δίχτυ ή σε απόχη με μέγεθος διχτύου από 250  $\mu\text{m}$  έως 1000  $\mu\text{m}$ , και επομένως διακρίνονται με γυμνό μάτι. Πρακτικά οι περισσότεροι μακροασπόνδυλοι οργανισμοί είναι μεγαλύτεροι από 1 mm. Τα περισσότερα μακροασπόνδυλα είναι βενθικοί οργανισμοί, διαβιούν στο υπόστρωμα (ίζημα, φερτές ύλες, κορμοί, μακρόφυτα, νηματοειδή άλγη κ.α.) και εξαιτίας αυτού στη βιβλιογραφία αναφέρονται ως βενθικά μακροασπόνδυλα ή μακροζωοβένθος.



Όμως ορισμένα μακροασπόνδυλα που χρησιμοποιούνται επίσης ως βιοτικοί δείκτες είναι πελαγικοί οργανισμοί δηλαδή ελεύθεροι κολυμβητές στη στήλη νερού ή πλευστονικοί (pleustonic) δηλαδή συσχετίζονται με την επιφάνεια του νερού. (Tachet et.al.2002, DePauw et.al.2006)

**Τα πλεονεκτήματα της χρήσης των βενθικών μακροασπονδύλων για την εκτίμηση της κατάστασης ενός υδάτινου οικοσυστήματος συνοψίζονται παρακάτω (Γιαννάκου, 2000):**

1. Ζουν ακίνητα ή με περιορισμένη κινητικότητα στο υπόστρωμα. Επομένως είναι αντιπροσωπευτικοί δείκτες του περιβάλλοντος από το οποίο συλλέχθηκαν γιατί όταν συμβαίνουν αλλαγές σε αυτό ή προσαρμόζονται ή εξαφανίζονται (δεν μπορούν να μετοικήσουν). (ΕΛΚΕΘΕ, 2003).
2. Τα μακροασπόνδυλα εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία ειδών όπως νύμφες, προνύμφες εντόμων, ολιγόχαιτοι, μαλάκια, καρκινοειδή κ.α.. Επομένως, είναι πολύ πιθανό κάποιες από αυτές τις ομάδες να αντιδράσουν σε μία περιβαλλοντική αλλαγή.
3. Είναι ευαίσθητα στη ρύπανση (η ευαισθησία τους αυτή διαφοροποιείται από είδος σε είδος, από οικογένεια σε οικογένεια κ.ο.κ.).
4. Έχουν σχετικά μεγάλο μέγεθος και επομένως εύκολη συλλογή και ταξινόμηση πιο εύκολη από το πλαγκτόν.
5. Είναι άφθονα οπότε είναι εύκολη η δειγματοληψία και η ποσοτική ανάλυση (οι επιπτώσεις στη χλωρίδα και την πανίδα είναι ελάχιστες) .



6. Αντανακλούν τις βραχυπρόθεσμες περιβαλλοντικές αλλαγές. Τα περισσότερα έχουν διάρκεια ζωής ένα ή δύο έτη. Στα ευαίσθητα στάδια της ζωής τους αντιδρούν αμέσως στους στρεσογόνους παράγοντες, όμως η απόκριση ολόκληρης της κοινωνίας θα γίνει με πιο αργό ρυθμό (Barbour et al., 1999).

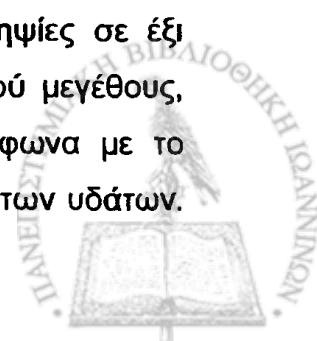
### **Μερικά μειονεκτήματα της χρήσης των βενθικών μακροασπονδύλων είναι:**

1. Τα βενθικά μακροασπόνδυλα είναι ακατάλληλα για την ανίχνευση παθογόνων ρύπων (ΕΛΚΕΘΕ, 2003).
2. Η δειγματοληψία απαιτεί μεγάλο αριθμό δειγμάτων και συνεπώς μεγάλο κόστος.
3. Τα εποχιακά φαινόμενα δυσκολεύουν την εκτίμηση.

Στο 29<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών που διεξήχθη στην Καβάλα το Μάιο του 2007, ο Κουβαρντάς Θ. και οι συνεργάτες του, παρουσίασαν τη μελέτη τους βασισμένη στην Εφαρμογή και Σύγκριση Διαφόρων Βενθικών Βιοτικών Δεικτών σε Ποταμούς Ελληνικών Νησιών.

Οι βενθικοί βιοτικοί δείκτες αποτελούν τις βασικές παραμέτρους προσδιορισμού της οικολογικής ποιότητας των ποταμών. Βασίζονται σε είδη της βενθικής πανίδας, στις ιδιότητές τους (ευαισθησία στη ρύπανση, κύκλοι ζωής, κ.α.) καθώς και στα οικολογικά χαρακτηριστικά τους. Οι βιοτικοί δείκτες χρησιμοποιούνται και εφαρμόζονται στην Ελλάδα τα τελευταία 20 χρόνια.

Στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος STAR ([www.eu-star.at](http://www.eu-star.at), "Standardisation of river classifications: Framework method for calibrating different biological survey results against ecological quality classifications to be developed for the Water Framework Directive", EVK1-2001-00034), πραγματοποιήθηκαν κατά την καλοκαιρινή περίοδο δειγματοληψίες σε έξι νησιά του Αιγαίου και στην Κρήτη σε λεκάνες απορροής μικρού μεγέθους, πυριτικού και ασβεστολιθικού υποστρώματος αντίστοιχα, σύμφωνα με το σύστημα Α της Ευρωπαϊκής Οδηγίας 2000/60 για την ποιότητα των υδάτων.



Σε κάθε σταθμό εφαρμόσθηκε η μεθοδολογία AQEM ([www.aqem.de](http://www.aqem.de)), που έχει πολυενδιαιτημικό χαρακτήρα (multihabitat approach).

Συγκεκριμένα, συλλέχθηκαν δείγματα από τους ποταμούς Γαδουρά στη Ρόδο, Εγγαρές στη Νάξο, Τσίγκο και Αμπελικό στη Λέσβο, Μανωλάτες στη Σάμο, Γριά Βάθρα στη Σαμοθράκη και Άπτερα στην Κρήτη.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η μεγαλύτερη αφθονία ειδών παρατηρήθηκε στο σταθμό Άπτερα ενώ η μικρότερη στο σταθμό Γριά Βάθρα. Ο μεγαλύτερος αριθμός ειδών εμφανίστηκε στο Γαδουρά, ενώ ο μικρότερος στις Μανωλάτες. Αναφορικά με τους σαπροβιοτικούς δείκτες, αυτοί δεν υπολογίστηκαν γενικώς λόγω της καθαρότητας των υδάτων και επομένως της απουσίας των μικροοργανισμών που τους καθορίζουν. Από αυτούς μόνο ο "Zelinka & Marvan" και ο "Dutch Saprobic Index" εμφάνισαν στα Άπτερα κάποιες πολύ χαμηλές τιμές. Ο δείκτης "DSFI" (Danish Stream Fauna Index) δεν υπολογίστηκε σε τρεις σταθμούς (Γαδουράς, Εγγαρές, Γριά Βάθρα) λόγω της απουσίας δεδομένων κατάλληλων για τον υπολογισμό του, ενώ για τον ίδιο λόγο δεν υπολογίστηκε ο "German Fauna Index" στην πλειοψηφία των σταθμών.

Από τους δείκτες ποικιλότητας (Diversity Indices) εφαρμόσθηκαν οι "Simpson", "Shannon-Wiener", καθώς και ο "Margalef". Τέλος, αποτελέσματα έδωσαν και οι δείκτες "BMWP (Biological Monitoring Working Party)", "ASTP (Average Score per Taxon)", "BMWP(Spanish Version)", "BBI (Belgium Biotic Index)", "IBE (Indice Biotico Estesso)" και "IBE Aqem" που είναι πιο τροποποιημένη έκδοση του "IBE" που αναπτύχθηκε στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος AQEM.

Ο αντιπροσωπευτικότερος δείκτης σε σχέση με τη φυσικοχημική κατάσταση των νερών είναι "BMWP (Spanish Version)". Σύμφωνα με αυτόν, η ποιότητα των σταθμών χαρακτηρίζεται από καλή έως άριστη. Οι δείκτες "IBE", "IBE Aqem", "ASPT" και "Evenness" παρουσιάζουν ομοιομορφία αλλά υποβαθμίζουν την ποιότητα των σταθμών. (Κουβαρντάς Θ. et al. 2007)



#### 4.5.2. Διάτομα

Τα βενθικά διάτομα είναι μονοκύτταρα φύκη που ζουν προσκολλημένα σε διάφορα υποστρώματα (φυτοβένθος). Είναι οι βασικοί πρωτογενείς παραγωγοί σε πολλά υδάτινα οικοσυστήματα.

Τα διάτομα από πολύ νωρίς χρησιμοποιήθηκαν ευρέως στη βιολογική παρακολούθηση των υδάτων.

**Τα πλεονεκτήματα της χρήσης των διατόμων ως βιοτικούς δείκτες είναι τα ακόλουθα (ΕΛΚΕΘΕ, 2003):**

1. Ζουν σε όλα τα ποτάμια συστήματα και εμφανίζονται σε όλο το μήκος του ποταμού.
2. Επειδή είναι οι βασικοί πρωτογενείς παραγωγοί μια μεταβολή στην παραγωγικότητα των διατόμων μπορεί να επηρεάσει τα υψηλότερα τροφικά επίπεδα.
3. Είναι δείκτες για βραχυπρόθεσμες επιδράσεις, γιατί λόγω του μικρού κύκλου ζωής αντιδρούν γρηγορότερα από τα μακροασπόνδυλα στις περιβαλλοντικές μεταβολές.
4. Είναι ευαίσθητα σε βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες αλλαγές.
5. Είναι άφθονα οπότε διευκολύνεται η συλλογή και η ποσοτική ανάλυση.
6. Έχουν πυριτικό κέλυφος που δεν καταστρέφεται κατά τη μεταφορά από το υπόστρωμα και μάλιστα στο κέλυφος διατηρούνται λεπτομέρειες που βοηθούν στην αναγνώριση.
7. Η ταξινόμησή τους και η οικολογία τους έχουν μελετηθεί ευρέως.

**Μερικά μειονεκτήματα της χρήσης των διατόμων:**

Λόγω του μικρού μεγέθους

1. απαιτείται παρατήρηση στο μικροσκόπιο σε υψηλές μεγεθύνσεις και
2. η ταξινόμηση απαιτεί εξειδίκευση.





### 4.5.3 Περίφυτο – Άλγη

Με τον όρο περίφυτο εννοούνται κυρίως τα άλγη (δηλ. φυτοπλαγκτόν και φύκη). Είναι πρωτογενείς παραγωγοί. Τα άλγη αν και είναι χρήσιμα για τη βιολογική παρακολούθηση δεν χρησιμοποιούνται ευρέως για αυτό τον σκοπό.

**Τα πλεονεκτήματα της χρήσης του περίφυτου είναι τα παρακάτω (Barbour et al., 1999):**

1. Είναι καλοί δείκτες για βραχυπρόθεσμες επιδράσεις γιατί λόγω του μικρού κύκλου ζωής αντιδρούν γρήγορα σε περιβαλλοντικές αλλαγές.
2. Επειδή είναι πρωτογενείς παραγωγοί (επηρεάζονται άμεσα από φυσικούς και χημικούς παράγοντες), μια μεταβολή στην παραγωγικότητά τους μπορεί να επηρεάσει τα υψηλότερα τροφικά επίπεδα.
3. Η δειγματοληψία τους είναι εύκολη, με σχετικά χαμηλό κόστος, απαιτεί λιγότερο εργαστηριακό προσωπικό και επιφέρει ελάχιστες επιπτώσεις στην χλωρίδα και πανίδα της περιοχής απ' όπου συλλέγεται το δείγμα.
4. Είναι ευαίσθητα σε ορισμένους ρύπους, οι οποίοι μπορεί να μην επηρεάζουν άλλους οργανισμούς ή να τους επηρεάζουν μόνο σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις.

### 4.5.4 Υδρόβια Φυτά – Μακρόφυτα

Υδρόβια φυτά χαρακτηρίζει ο Haslam (1978), με την ευρεία έννοια του όρου, όλα τα φυτά που ζουν και αναπτύσσονται μέσα ή κοντά στο νερό. Τα υδρόβια φυτά κατατάσσονται ως προς τη μορφή τους και την ανάπτυξή τους κατά το Hutchinson (1975) στις παρακάτω ομάδες:

1. Τα φυτά που πλέουν ελεύθερα (Πλευστόφυτα) με ρίζες ελεύθερες ή χωρίς ρίζες :

- α. Αυτά που πλέουν στην επιφάνεια
- β. Αυτά που είναι βυθισμένα

2. Τα φυτά που είναι ριζωμένα στη γη (Ριζόφυτα):

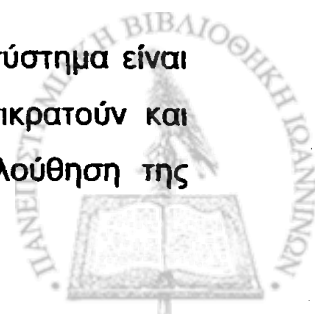
- α. Όταν ένα τμήμα του βλαστού τους αναδύεται πάνω από την επιφάνεια του νερού (Υπερυδατικά)
- β. Όταν ένα τμήμα του βλαστού τους επιπλέει στο νερό (Εφυδατικά)
- γ. Όταν ο βλαστός είναι τελείως βυθισμένος στο νερό και μόνο τα άνθη τους είναι εκτός νερού (Υφυδατικά)

Τα παραπάνω όρια δεν είναι αυστηρά. Πολλά υδρόβια φυτά είναι δυνατό να δημιουργήσουν και χερσόβιες μορφές. Επίσης και στις υποδιαιρέσεις του Hutchinson συμβαίνει να υπάρχουν παρεκκλίσεις, όπως το ελόβιο φυτό *Myosotis* που ενώ συνήθως συναντάται σαν υπερυδατικό συναντάται σπάνια και σαν υφυδατικό.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη ζωνώδη ανάπτυξη της υδρόβιας μακροφυτικής βλάστησης είναι το βάθος του νερού, η διαπερατότητα του φωτός και η δράση των κυμάτων. Κατά τη μελέτη των υδρόβιων φυτών πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψη ότι τα υδάτινα οικοσυστήματα υφίστανται συνεχείς μεταβολές λόγω των ανθρωπίνων δραστηριοτήτων που έχουν σαν κύρια αποτελέσματα τον ευτροφισμό και τη ρύπανση.

Τα υδρόβια μακρόφυτα αποτελούν χαρακτηριστικούς δείκτες της ποιότητας των υδάτων, διότι (ΕΛΚΕΘΕ, 2003):

- 1. Η βλάστηση που αναπτύσσεται σε ένα υδάτινο οικοσύστημα είναι ενδεικτική για τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν και διαφοροποιείται ανάλογα με αυτές. Άρα η παρακολούθηση της



εξέλιξης των φυτοκοινωνιών για ένα εύλογο χρονικό διάστημα, είναι ενδεικτική για τις ανθρωπογενείς επεμβάσεις στο περιβάλλον.

2. Ο ευτροφισμός και η ρύπανση επηρεάζουν καθοριστικά τη σύνθεση των κοινωνιών των μακροφύτων. Πολλές κοινωνίες που περιγράφηκαν παλαιότερα, σήμερα δεν υπάρχουν όπως και πολλά υδρόβια μακρόφυτα έχουν εξαφανιστεί από ένα βιότοπο εξ αιτίας της επικράτησης σε αυτόν του πλαγκτού.

### **Η σημασία των υδρόβιων μακροφύτων στα Υδάτινα Οικοσυστήματα**

Τα υδρόβια μακρόφυτα συχνά χρησιμοποιούνται για τη βελτίωση του περιβάλλοντος γιατί αφενός έχουν την ιδιότητα να συλλέγουν από το περιβάλλον βαρέα μέταλλα, τα οποία σε μεγάλες ποσότητες είναι ιδιαίτερα τοξικά και αφ' ετέρου σταθεροποιούν το ίζημα του πυθμένα και προστατεύουν τις όχθες από τη διάβρωση. Τα υδρόβια μακρόφυτα αποτελούν τροφή για διάφορα ζώα. Επίσης, τα υλικά της αποσύνθεσης των νεκρών μακροφύτων παίζουν σημαντικό ρόλο στην τροφική αλυσίδα. Ο τρόπος με τον οποίο αναπτύσσεται η υδρόβια μακροφυτική βλάστηση συμβάλλει στη μεταβολή του περιβάλλοντος.



### 4.5.5 Ψάρια

Τα ψάρια χρησιμοποιούνται διεθνώς για εκτιμήσεις ποιότητας ποταμών και λιμνών σε αρκετά προγράμματα μακροχρόνιας παρακολούθησης ή σαν αποκλειστικός τρόπος ή σαν μέρος της διαδικασίας εκτίμησης.

Τα πλεονεκτήματα της χρήσης των ψαριών ως βιοδείκτες είναι τα εξής (Barbour et al., 1999, ΕΛΚΕΘΕ, 2003):

1. Τα ψάρια ανήκουν σε διάφορα τροφικά επίπεδα. Συνεπώς όταν οι συνθήκες επιτρέπουν τη διαβίωσή τους τότε και άλλες ομάδες από χαμηλότερα τροφικά επίπεδα μπορούν να επιβιώσουν. Επομένως η δομή της κοινωνίας των ψαριών αντανακλά συνολικά την υγεία του οικοσυστήματος.
2. Τα ψάρια είναι καλοί δείκτες για τις μακροπρόθεσμες επιπτώσεις (για μερικά έτη) λόγω της μεγάλης διάρκειας ζωής.
3. Λόγω της μεγάλης κινητικότητας είναι καλοί δείκτες για ενδαιτήματα μεγάλου εύρους.
4. Οι περιβαλλοντικές τους απαιτήσεις είναι γνωστές σε ικανοποιητικό βαθμό, διότι τα ψάρια μελετήθηκαν καλύτερα σε σχέση με άλλους οργανισμούς από πλευράς συστηματικής, βιολογίας, οικολογίας και φυσικής ιστορίας.
5. Εξάγονται συμπεράσματα με μια μόνο σειρά δειγματοληψιών κάθε 1 – 3 χρόνια. (ενώ άλλες μέθοδοι απαιτούν δειγματοληψίες σε εποχιακή ή σε μηνιαία βάση).
6. Εύκολη συλλογή και εύκολη ταξινόμηση. Επιπλέον, τα περισσότερα είδη μπορούν να ταξινομηθούν στο πεδίο μελέτης και στη συνέχεια να απελευθερωθούν ξανά στο ενδιαίτημα χωρίς επιπτώσεις.



7. Τα ψάρια επειδή έχουν οικονομική και αισθητική αξία, το κοινό εμφανίζει μια ευαισθησία και αποδέχεται τα προγράμματα παρακολούθησης, διατήρησης και αποκατάστασης των υδάτινων συστημάτων.
8. Απαιτούνται λιγότερες εργαστηριακές αναλύσεις. Συνήθως, όλα τα δεδομένα καταγράφονται στο πεδίο και δεν απαιτούνται αναλύσεις στο εργαστήριο. Βέβαια αυτό συμβαίνει όταν η βιολογία των ψαριών που εξετάζονται είναι γνωστή, διαφορετικά είναι αναγκαίες οι εργαστηριακές αναλύσεις.
9. Η ιχθυολογική παρακολούθηση είναι αποτελεσματική όπου υπάρχουν ανθρώπινες επεμβάσεις στα χαρακτηριστικά της ροής και της στάθμης των ποταμών και των λιμνών. Τέτοιες επεμβάσεις είναι οι ευθυγραμμίσεις, οι εκβαθύνσεις στην κοίτη και στα πρηνή των ποταμών, καθώς και οι αποξηράνσεις(της πλημμυρικής ζώνης ποταμών και των παρόχθιων περιοχών λιμνών). Ειδικότερα στην Ελλάδα, υπάρχουν τέτοιες επεμβάσεις και αποτελούν αιτίες υποβάθμισης των υδάτινων οικοσυστημάτων.
10. Τα ψάρια χρησιμοποιούνται διεθνώς για την παρακολούθηση της οξύτητας του νερού, γιατί πολλά ψάρια είναι εξαιρετικά ευαίσθητα στη μεταβολή της οξύτητας.



Τα μειονεκτήματα της χρήσης των ψαριών ως βιοδείκτες είναι τα παρακάτω:

1. Η ιχθυολογική παρακολούθηση δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ρέματα με προσωρινή ροή, γιατί συνήθως στερούνται ιχθυοπανίδας. Μερικά παραδείγματα ποταμών με προσωρινή ροή, τα οποία ενώ έχουν άριστες συνθήκες (τόσο πρόσφατα όσο και στο παρελθόν) δεν εμφανίζουν ιχθυοπανίδα είναι: στην Πελοπόννησο το ανώτερο μέρος του ποταμού Τσουράκι, στη Σαμοθράκη ο Τσιβδόγιαννης και στην Άνδρο ο Ασπροπόταμος.
2. Δυσκολίες υπάρχουν όταν από ορισμένους τόπους συλλέγεται ιχθυοπανίδα που αποτελείται μόνο από έναν υβριδικό πληθυσμό. Το φαινόμενο αυτό πιθανόν να οφείλεται στην παρουσία ιχθυοτροφικών μονάδων κοντά στους τόπους δειγματοληψίας. Επίσης, δυσκολία υπάρχει όταν η ιχθυοπανίδα αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από ένα ενδημικό είδος, όπως για παράδειγμα το είδος *Ladigesocypris ghgiii* που βρίσκεται μόνο σε ορισμένα ποτάμια της Ρόδου (Γκρίτζαλης, 2006).
3. Οι εργασίες στο πεδίο μελέτης είναι χρονοβόρες και απαιτούν σημαντική προσπάθεια ιδίως όταν πραγματοποιείται η πρώτη δειγματοληψία σε έναν επιλεγμένο σταθμό και καταγράφονται τα «μόνιμα» χαρακτηριστικά της θέσης.

Στην Ελλάδα, δεν έχει ακόμα διερευνηθεί η εφαρμοστικότητα των ιχθυολογικών μεθόδων στις περιπτώσεις υποβάθμισης εξ αιτίας της ρύπανσης (ΕΛΚΕΘΕ, 2003). Αν και έχουν παρατηρηθεί πολλά περιστατικά μαζικής θνησιμότητας ποτάμιων και λιμναίων ψαριών που έχουν αποδοθεί σε ρύπανση, οι σημερινές γνώσεις σχετικά με τις επιδράσεις των διαφόρων μορφών ρύπανσης στις ιχθυολογικές παραμέτρους δεν επιτρέπουν την δημιουργία αξιόπιστων ιχθυοδεικτών γι' αυτό το είδος επιβάρυνσης. (ΕΛΚΕΘΕ, 2003).



**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 4<sup>ου</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ:**

**ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:**

Alba-Tercedor J., 2006. ' ' Aquatic Macroinvertebrates ' ' , Biological Monitoring of Rivers: Application & Perspectives, Edited by G. Ziglio, M. Siligardi & G. Flaim, John Wiley & Sons Ltd.

Armitage P. D., Moss D, Wright J. F., Furse M. T., 1983. ' ' The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running – water sites". Water. Res., 17, pp. 333 – 347

Artemiadou V. & Lazaridou M., 2004. "Evaluation Score and Interpretation Index for the ecological quality of running waters in Central and Northern Hellas". Environmental Monitoring and Assessment, 110, pp 1 – 40. DOI: 10.1007/s/10661- 005-6289-7.

Barbour, M.T., Gerritsen J., Snyder B.D., Stribling J.B., 1999. ' ' Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish", Second Edition. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, D.C

Batch, A.F. & Ingram, W.M., 1966. Biological analysis of water pollution in North America. Verhandlungen Internationale Vereinigung for Theoretische und Angewadte limnologie, 16, 786-800.



De Pauw N. & Vanhooren G., 1983. "Method for biological quality assessment of watercourses in Belgium". *Hydrobiologia*, 100, 1, pp 153 – 168

DePauw N., Wim G. & Goethals L. M. P., 2006, "River Monitoring and Assessment Methods Based on Macroinvertebrates", *Biological Monitoring of Rivers: Application & Perspectives*, Edited by G. Ziglio, M. Siligardi & G. Flaim, John Wiley & Sons, Ltd.

Ghetti P. F., 1997. "Manuale di applicazione: Indice Biotico Esteso (I.B.E.), Provincia autonoma di Trento. APPA, Trento 1997

Ghetti, F. P. & Ravera, O., 1993. "A european perspective on biological monitoring". *Biological Monitoring of Aquatic Systems*. S. Loeb & A. Spacie. Lewis Publishers, Boca Raton.

Haslam S. M., 1978. "River Plants: The Macrophytic Vegetation of Watercourses". Cambridge University Press.

Hellawell, J.M., 1986. "Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management". Elsevier Applied Science Publishers, London.

Hutchinson, G.E. 1975. "A treatise of limnology: Volume III". *Limnological Botany*. J. Wiley and Sons, New York, NY.





Johnson, R. K., T. Wiederholm & D. M. Rosenberg, 1993. "Freshwater biomonitoring using individual organisms, populations and species assemblages of benthic macroinvertebrates". Rosenberg, D. M. & V. H. Resh, Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates. Chapman and Hall, New York:, pp 40–158.

Logan P., 2001. "Ecological Quality assessment of rivers and integrated catchment management in England and Wales''. Scientific and legal aspects of biological monitoring in freshwater. J. Limnol., 60 (Suppl.1), pp 25 – 32

Tachet H., Richoux P., Bournaud M., Usseglio – Polatera P., 2002. 'Invertebres d 'Eau Douce. Systematique, Biologie, Ecologie. CNRS Editions: Paris, France

Woodiwiss, F. S., 1964. "The biological system of stream classification used by the Trent River Board". Chemistry & Industry, pp 443 – 447

Wright J. F., Fuse M. T., Armitage P. D., 1993. "RIVPACS – a technique for evaluating the biological quality of rivers in U.K.". Eur. Water Quality Control, 3, pp 15 – 25

#### ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

Αναγνωστοπούλου Μ., 1992. ''The relationship between the macroinvertebrate community and water quality, and the applicability of



biotic indices in the River Almoecos system (Greece)". A thesis submitted to the University of Manchester for the degree of M. Sc. in "Pollution & Environment Control", in the Faculty of Sciences, School of Biological Sciences.

Γιαννάκου Ουρ., (2000): "Εκτίμηση της επίδρασης της οργανικής ρύπανσης στην ποιότητα των ρεόντων υδάτων με τη χρήση βενθικών μακροασπονδύλων οργανισμών", Διδακτορική Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Κτηνιατρικής, Εργαστήριο Οικολογίας και Προστασίας Περιβάλλοντος. Θεσσαλονίκη 2000.

Gritzalis K. (2006), "Biological Monitoring of Mediterranean Rivers with special reference to Greece", Biological Monitoring of Rivers: Application & Perspectives, Edited by G. Ziglio, M. Siligardi & G. Flaim, John Wiley & Sons, Ltd.

ΕΛΚΕΘΕ, 2003. "Συλλογή και Αξιολόγηση Οικολογικών Δεδομένων Ποταμών και Λιμνών για την εφαρμογή της Οδηγίας 2000/60. Τελική Έκθεση". Επιμέλεια: Διαπούλης Α., Εθνικό Κέντρο Θαλάσσιων Ερευνών. Ινστιτούτο Εσωτερικών Υδάτων.

ΕΛΚΕΘΕ, 2006. "Εφαρμογή στην Ελλάδα της Οδηγίας Πλαίσιο για τα ύδατα 2000/60/ΕΕ. Άσκηση Διαβαθμονόμησης Οικολογικών Κριτηρίων». Τεχνική Έκθεση. Επιστ. Υπεύθυνος Α. Διαπούλης, Επιμέλεια Π. Παναγιωτίδης,



Ν. Σύμπουρα, Κ. Γκρίτζαλης, Β. Τσιαούση. Εθνικό Κέντρο Θαλάσσιων Ερευνών. Αθήνα

Καρμέζη Μ., Πετρίδου Μ., Κουσέρας Θ., Γούσια Ε., Κατσικάτσου Μ., Πετρίκη Ο., Πώρρα Μ., Μπόμπορη Δ., Λαζαρίδου Μ. Εκτίμηση της Οικολογικής Ποιότητας του Νερού στην Περιοχή Ν. Φιλαδέλφειας (Γαλλικός Ποταμός) κατά τα έτη 2004-2006.

Κουβαρντά Θ., Κ.Χ. Γκρίτζαλης και Ν.Θ. Σκουλικίδης. Εφαρμογή και Σύγκριση Διαφόρων Βενθικών Βιοτικών Δεικτών Σε Ποταμούς Ελληνικών Νησιών. Πρακτικά 29<sup>ου</sup> Συνεδρίου Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών, Καβάλα 17-19 Μαΐου 2007

Λαζαρίδου Μ., 2008. "Οι υδάτινοι πόροι της χώρας μας", ΚΥΡΙΑΚΑΤΙΚΗ Ελευθεροτυπία (20/04/2008).



## 5. ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

### 5.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΤΙΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΟΙΚΟΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

Υπάρχουν πολλές δοκιμασίες τοξικολογίας που αναπτύχθηκαν με σκοπό τη μελέτη περιβαλλοντικών προβλημάτων, ιδιαίτερα για χημικές ουσίες, οι οποίες είναι τοξικοί ρύποι σε διάφορους οργανισμούς και οικοσυστήματα. Η ταξινόμηση των μεθόδων αυτών γίνεται ανάλογα με το χρόνο διάρκειας της πειραματικής παρακολούθησης, σε σχέση με το χρόνο ζωής και την πολυπλοκότητα του οργανισμού, τη βιοκοινότητα όπου ζει και εξελίσσεται και το οικοσύστημα μέσα στο οποίο αλληλεπιδρά με άλλα είδη και με το αβιοτικό περιβάλλον (έδαφος, υδάτινα συστήματα, κλίμα, ατμόσφαιρα).

Από πρακτικής πλευράς υπάρχουν αρκετά προβλήματα που πρέπει να ληφθούν υπόψη από τον ερευνητή, τόσο για τη μεθοδολογία, όσο και για την τήρηση ορισμένων κανόνων συμβατότητας με άλλες μελέτες και πρακτικές της Περιβαλλοντικής Τοξικολογίας και Οικοτοξικολογίας. Οι βασικές παράμετροι που πρέπει να ληφθούν υπόψη στις δοκιμασίες Περιβαλλοντικής Τοξικολογίας και Οικοτοξικολογίας είναι οι εξής: (Βαλαβανίδης Αθ., Βλαχογιαννη Θωμαις, 2008):

#### 1. Ο σχεδιασμός της μεθοδολογίας και των μετρήσεων .

Οι μέθοδοι πρέπει να είναι απλές. Τα πρότυπα διαλύματα, ο καθαρισμός των συσκευών, η ρύθμιση οργάνων, τα φίλτρα και οι αντλίες πρέπει να είναι αποδεκτά και από άλλους ερευνητές.

#### 2. Ο σχεδιασμός των σεναρίων έκθεσης οργανισμών σε τοξικές ουσίες.

Στους υδρόβιους οργανισμούς πρέπει να εκτίθεται ολόκληρο το σώμα σε τοξικές ουσίες.



Στους χερσαίους οργανισμούς οι τοξικές ουσίες εισάγονται με εισπνοή, με εναίσιμο διάλυμα ή με την τροφή ή διαδερμικά.

Στα φυτά οι χημικές ουσίες εισάγονται από τον αέρα, το έδαφος και το νερό.

### **3. Η τυποποίηση των οργανισμών που θα χρησιμοποιηθούν στα πειράματα.**

Οι οργανισμοί που θα χρησιμοποιηθούν στα πειράματα πρέπει:

- 1). να είναι εύκολο να συγκεντρωθούν και να αναπτυχθούν σε εργαστηριακές συνθήκες,
- 2). να είναι γνωστή η γενετική τους σύνθεση,
- 3). να είναι ευαίσθητοι στους διάφορους ρύπους. Μάλιστα η ευαισθησία τους να είναι αντιπροσωπευτική για τα άλλα είδη που ζουν στο βιότοπο ή το οικοσύστημα που εξετάζεται, ιδιαίτερα για πειράματα με πολλούς οργανισμούς όταν είναι γνωστές οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ειδών.

### **4. Η σύγκριση των μεθόδων σε διάφορα είδη οργανισμών.**

Λόγω της εξέλιξης των οργανισμών υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην ευαισθησία ορισμένων ειδών σε κάποιες χημικές ουσίες – ρύπους.

### **5. Ο σχεδιασμός για την επεξεργασία των δεδομένων και την παρουσίαση των αποτελεσμάτων.**

Είναι μεγάλη η ποικιλία για την επεξεργασία των δεδομένων και την στατιστική παρουσίαση των αποτελεσμάτων. Για τον υπολογισμό διαφόρων «τελικών σημείων» ογκομετρικής τοξικότητας (toxic endpoints) υπάρχουν αρκετές δημοσιευμένες πρακτικές που έχουν κωδικοποιηθεί και τεκμηριωθεί με διάφορες εκδόσεις που τις περιγράφουν με λεπτομέρειες.



### 5.1.1. Βασικές αρχές στα πειράματα προσδιορισμού τοξικότητας

Στα τεστ τοξικότητας εξετάζεται το πώς επιδρά ένα δείγμα σε ζωντανούς οργανισμούς (βιοδοκιμές). Οι οργανισμοί που χρησιμοποιούνται στα τεστ τοξικότητας όπως βακτήρια, πρωτόζωα, μικροφύκη, ανώτεροι φυτικοί οργανισμοί, τροχόζωα, οστρακόδερμα και ψάρια ανήκουν σε διάφορα στάδια της τροφικής αλυσίδας. Στα τεστ τοξικότητας εξετάζεται πως επιδρά ένα δείγμα στο ρυθμό ανάπτυξης, στη ζωτικότητα, στην αναπνοή, στην αναπαραγωγή ή σε άλλη φυσιολογική λειτουργία των παραπάνω οργανισμών.

Τα πειράματα οξείας τοξικότητας σύμφωνα με τις οδηγίες του Αμερικανικού EPA - Environmental Protection Agency (Οργανισμός Προστασίας Περιβάλλοντος) περιλαμβάνουν έκθεση ενός οποιουδήποτε οργανισμού (από μια ομάδα 20 οργανισμών) σε πέντε διαφορετικές συγκεντρώσεις του δείγματος και στο νερό μάρτυρας (control water). Τα πειράματα προσδιορίζουν τη συγκέντρωση του δείγματος (%), η οποία μέσα στον προκαθορισμένο χρόνο του τεστ προκαλεί θάνατο στο 50% των οργανισμών ή προκαλούν βλάβη σε κάποια ζωτική λειτουργία π.χ. αναπαραγωγή.



### 5.1.2. Νομοθετικό πλαίσιο για τις οικοτοξικολογικές αναλύσεις

Ο στόχος της νομοθεσίας των εθνικών και διεθνών οργανισμών σχετικά με την διαχείριση και την διάθεση των υγρών και στερεών αποβλήτων στο περιβάλλον, είναι να προστατέψουν την ανθρώπινη υγεία και τους οργανισμούς του οικοσυστήματος. Οι περισσότερες νομοθεσίες επικεντρώνονται σε αναλύσεις για τον προσδιορισμό φυσικών και χημικών παραμέτρων των υγρών αποβλήτων, που πρόκειται να διατεθούν σε κάποιο φυσικό αποδέκτη ή των στερεών αποβλήτων, που πρόκειται να αποτεθούν σε κάποιο χώρο διάθεσης ή επεξεργασίας. Συνεπώς, ο προσδιορισμός της ποιότητας των υγρών και στερεών αποβλήτων συνήθως βασίζεται στις φυσικοχημικές αναλύσεις και στη συμμόρφωση των μετρούμενων παραμέτρων με τα όρια που επιβάλλονται από την νομοθεσία.

Η Ευρωπαϊκή Ένωση στην οδηγία 60/2000 για την ποιότητα των επιφανειακών νερών αναφέρεται πέρα από τις χημικές αναλύσεις και στη χρήση οικοτοξικολογικών αναλύσεων. Συγκεκριμένα η παραπάνω οδηγία προτείνει τον προσδιορισμό της τοξικότητας με τη χρήση υδρόβιων οργανισμών όπως τα βακτήρια, τα καρκινοειδή *Daphnia*, τα άλγη κ.λ.π. Επίσης σε εθνικό επίπεδο ορισμένα Ευρωπαϊκά κράτη περιλαμβάνουν στη νομοθεσία τους και τις βιολογικές δοκιμασίες (οικοτοξικολογικές αναλύσεις). Συγκεκριμένα η εθνική νομοθεσία της Ιταλίας ορίζει ότι οι βιοδοκιμές είναι υποχρεωτικές για τον έλεγχο των βιομηχανικών εκροών ενώ είναι προαιρετικές για ποτάμια και λίμνες. Επίσης, στην Ισπανία η εθνική νομοθεσία επιβάλλει βιοδοκιμές σε υγρά και στερεά απόβλητα.



### 5.1.3.Περιπτώσεις όπου εφαρμόζονται αναλύσεις της Υδατικής Τοξικολογίας

Οι αναλύσεις της Υδατικής Τοξικολογίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε πολλές περιπτώσεις όπως:

#### Α) Για τον έλεγχο νερού που προορίζεται για πόσιμο

Σήμερα στις περιπτώσεις αυτές γίνονται φυσικές, χημικές και μικροβιολογικές αναλύσεις. Οι χημικές αναλύσεις προσανατολίζονται προς κάποιες συγκεκριμένες χημικές ουσίες και δεν είναι εύκολο να καλύψουν όλες τις πιθανές περιπτώσεις. Πολλές φορές υπάρχουν καινούρια χημικά στο νερό, για παράδειγμα νέα εντομοκτόνα, άγνωστης τοξικότητας. Στην περίπτωση αυτή μόνο μία οικοτοξικολογική ανάλυση με έναν ευαίσθητο οργανισμό δείκτη θα δείξει κατά πόσο υπάρχει κάποιο γενικό πρόβλημα και μετά οι χημικές αναλύσεις θα κάνουν συγκεκριμένο το πρόβλημα αυτό.

Το 2004, στην Αθήνα η ΕΥΔΑΠ, που είναι υπεύθυνη για την ύδρευση και την αποχέτευση στην περιοχή της πρωτεύουσας, χρησιμοποιεί τη βιοδοκιμή με το βακτήριο *Vibrio fischeri* (τεστ Microtox) για το συνολικό συνεχή έλεγχο της τοξικότητας του πόσιμου νερού σε διάφορα σημεία του δικτύου. Επιλέχθηκε η συγκεκριμένη βιοδοκιμή γιατί δίνει αποτελέσματα πολύ γρήγορα (σε 15 λεπτά). Οι έλεγχοι της ΕΥΔΑΠ ήταν πολύ εντατικοί το καλοκαίρι του 2004 προκειμένου να διαγνώσουν έγκαιρα μια πιθανή τρομοκρατική ενέργεια, που είχε στόχο τοξικό σαμποτάζ στο πόσιμο νερό της Αθήνας, εν όψει των Ολυμπιακών Αγώνων. Εάν γινόντουσαν χημικές αναλύσεις θα ήταν πολύ πιο δύσκολο και χρονοβόρο να διαγνωσθεί ένα τέτοιο τοξικό σαμποτάζ. (Κούγκολος-2007)





Β) Για τον έλεγχο των επιφανειακών νερών, όπως λίμνες, ποτάμια

Σήμερα οι αναλύσεις που γίνονται στα νερά των λιμνών είναι κυρίως γενικές, για παράδειγμα BOD<sub>5</sub>, COD, στερεά και κάποια βαρέα μέταλλα. Οι οικοτοξικολογικές αναλύσεις θα δείξουν κατά πόσο οι διάφορες ουσίες που καταλήγουν στη λίμνη (υπολείμματα εντομοκτόνων, ζιζανιοκτόνων, απόβλητα βιομηχανιών κ.α.) μόνες ή σε συνδυασμό μεταξύ τους απειλούν την ύπαρξη κάποιων ευαίσθητων οργανισμών (ζωοπλαγκτόν, φυτοπλαγκτόν κ.λ.π.). Συνήθως ο άνθρωπος αντιλαμβάνεται το πρόβλημα μόνο όταν φθάσει σε κάποιον ανώτερο οργανισμό, όπως είναι τα ψάρια. Όμως η καταστροφή και των κατωτέρων οργανισμών της τροφικής αλυσίδας έχει ανυπολόγιστες συνέπειες για το οικοσύστημα. (Γ.Σ. Βασιλικιώτης, 1981)

Γ) Για τον έλεγχο των υδατικών αποβλήτων & για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας μονάδων βιολογικού καθαρισμού

Για τον έλεγχο βιομηχανικών εκροών και αστικών λυμάτων, καθώς και για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας τεχνολογιών οι οποίες επεξεργάζονται απόβλητα.

Σε πολλές περιοχές της Ελλάδος τα βιομηχανικά απόβλητα διοχετεύονται ή σχεδιάζεται να διοχετευθούν για επεξεργασία μαζί με τα αστικά λύματα. Αυτό ακριβώς συμβαίνει στη Θεσσαλονίκη, όπου ενώ παλιότερα λειτουργούσε χωριστός βιολογικός καθαρισμός για τα βιομηχανικά υγρά απόβλητα, τώρα σχεδιάζεται η συνεπεξεργασία των αστικών και βιομηχανικών αποβλήτων. Σε αυτές τις περιπτώσεις υπάρχει κίνδυνος τοξικές ουσίες από τις βιομηχανίες να εισρεύσουν στο βιολογικό καθαρισμό και αν είναι μεγάλες οι συγκεντρώσεις τους είναι πιθανό να βλάψουν τους μικροοργανισμούς που προκαλούν βιολογική διάσπαση στα οργανικά λύματα και έτσι να αδρανοποιηθεί ο βιολογικός καθαρισμός. Με περιοδικές χημικές αναλύσεις είναι δύσκολο να λυθεί το πρόβλημα. Η καλύτερη λύση θα ήταν συνεχείς τοξικολογικές αναλύσεις με έναν ευαίσθητο οργανισμό δείκτη που πρέπει να έχει και γρήγορη απόκριση.



Ο Okay O.S. και οι συνεργάτες του από την Τουρκία, καθώς επίσης ο Κούγκολος και οι συνεργάτες του από την Ελλάδα, παρουσίασαν την κοινή τους μελέτη. Στη μελέτη αυτή, έγιναν δειγματοληψίες από πολύπλοκα υγρά απόβλητα – λύματα που απορρίπτονται σε παράκτιες περιοχές της Τουρκίας και της Ελλάδας και εφαρμόστηκαν διάφορες δοκιμές τοξικότητας.

Στις βιολογικές δοκιμές που έγιναν αξιολογήθηκαν :

- Η αναστολή της φωταύγειας του βακτηρίου *Vibrio fischeri*.
- Η αναστολή της φωτοσύνθεσης (μετρώντας το ποσοστό πρόσληψης  $^{14}\text{C}$ ) και η αναστολή ανάπτυξης των φυκών *Phaeodactylum tricornutum*.
- Η θνησιμότητα των καρκινοειδών *Artemia franciscana* και *Brachionus plicatilis*.

Επιπλέον, θανατηφόρες τεχνικές βιοδεικτών έγιναν με την αξιοποίηση μυδιών του είδους *Mytilus galloprovincialis*, τα οποία κατοικούσαν σε παράκτιες περιοχές της Τουρκίας. Όλα τα εξετασθέντα λύματα βρέθηκαν έντονα τοξικά για τα *Phaeodactylum tricornutum* και ελαφρώς τοξικά για τα *Vibrio fischeri*, *Artemia franciscana* και *Brachionus plicatilis*.

Τα αποτελέσματα των δοκιμών έδειξαν ότι ο ρυθμός πρόσληψης του  $^{14}\text{C}$  ήταν η πιο ευαίσθητη μεταξύ των άλλων βιοδοκιμών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κατάσταση της υγείας των μυδιών στις παράκτιες περιοχές μειώθηκε σημαντικά, ένδειξη της ρύπανσης των υδάτων υποδοχής στις περιοχές της Τουρκίας. Τα συμπεράσματα αυτά υπογραμμίζουν την ανάγκη για μια εντατική οικοτοξικολογική παρακολούθηση, που θα συνδυάζει τις πλέον κατάλληλες βιολογικές δοκιμασίες και βιοδείκτες με σκοπό να συμβάλλουν στην αναβάθμιση και τη διατήρηση της οικολογικής ποιότητας των παράκτιων υδάτων στην Ελλάδα και την Τουρκία. (Okay O.S. et.al.2005)



## 5.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ

Στα πειράματα της Οικοτοξικολογίας επιδιώκεται να προστατευθούν τα οικοσυστήματα. Βέβαια, η διαταραχή σε ένα οικοσύστημα μπορεί πολλές φορές να έχει τραγικές συνέπειες και για τον άνθρωπο.

Στην Οικοτοξικολογία και την Υδατική Τοξικολογία γίνονται κάποια πειράματα, όπου κάποιοι οργανισμοί χρησιμοποιούνται ως δείκτες για τη μέτρηση της τοξικότητας χημικών ουσιών ή μειγμάτων στα οικοσυστήματα. Τα πειράματα αυτά λέγονται **βιοδοκιμές ή βιολογικές δοκιμασίες (bioassays)** (Newman και Unger 2002). Τα κριτήρια επιλογής ενός πειράματος είναι σε γενικές γραμμές τα ακόλουθα:

- Το πείραμα πρέπει να μην κρατά πολύ χρόνο και να μην κοστίζει πολύ.
- Ο οργανισμός που χρησιμοποιείται ως δείκτης πρέπει να είναι κατά το δυνατόν ευαίσθητος.
- Τα αποτελέσματα πρέπει να είναι επαναλήψιμα.
- Πρέπει να υπάρχει η δυνατότητα να γίνονται πολλά πειράματα, ώστε να ελέγχονται οι πολλές νέες ουσίες που παράγονται κάθε χρόνο.

Με τις βιοδοκιμές πρέπει να διαπιστωθεί ποιες είναι οι συγκεντρώσεις των τοξικών ουσιών που σκοτώνουν τους έμβιους οργανισμούς ή προκαλούν βλάβη σε κάποια ζωτική τους λειτουργία, όπως την ικανότητα αναπαραγωγής. Είναι σημαντικό να γίνονται πειράματα με περισσότερους από έναν οργανισμούς, οι οποίοι να είναι αντιπροσωπευτικοί των κρίκων της τροφικής αλυσίδας.

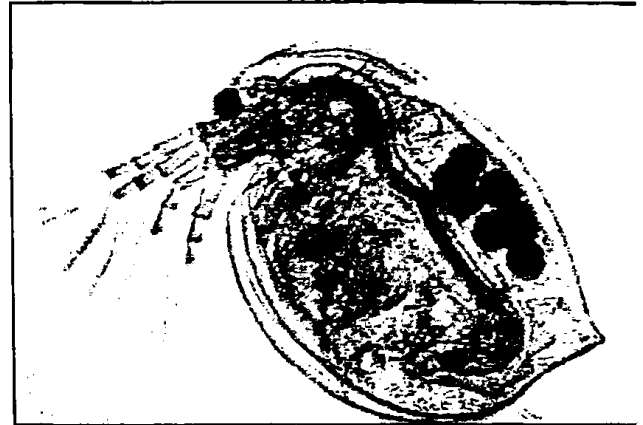
Ακολούθως, περιγράφονται μερικά από τα πιο γνωστά πειράματα που χρησιμοποιούνται στην Υδατική Τοξικολογία (Newman και Unger 2002, Κούγκολος-2007)



### 5.3.ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΤΗΣ ΥΔΑΤΙΚΗΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ ΣΕ ΕΝΑ ΕΙΔΟΣ ΑΠΛΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ

#### 5.3.1. Πείραμα Ακίνητοποίησης της *Daphnia* (24 or 48 hours acute immobilisation test) (Τεστ οξείας Τοξικότητας)

Το πείραμα ακίνητοποίησης της *Daphnia* (24 or 48 hours acute immobilisation test), μαζί με το πείραμα οξείας τοξικότητας (96hr) σε ψάρια, είναι από τα σημαντικότερα στην Υδατική Τοξικολογία. Για αυτό τα χρησιμοποιούν στις μελέτες τους διάφοροι διεθνείς οργανισμοί όπως ο ΟΟΣΑ (Οργανισμός Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης).



[http://en.wikipedia.org/wiki/File:Daphnia\\_magna-female\\_adult.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Daphnia_magna-female_adult.jpg)

*Daphnia magna* Μέση διάρκεια ζωής: 30-40 ημέρες

Οι οργανισμοί *Daphnia magna* και *Daphnia pulex* είναι οι συχνότερα χρησιμοποιούμενοι οργανισμοί δείκτες.

Τα άτομα της *Daphnia magna* έχουν μέγεθος ευκρινές και είναι μεγαλύτερα από τα αντίστοιχα της *Daphnia pulex*, είναι εύκολα διαθέσιμα και καλλιεργήσιμα και απαιτούν σχετικά σκληρότερο νερό για την καλλιέργειά τους σε σύγκριση με τα άτομα της *Daphnia pulex*.

Η *Daphnia magna* είναι καρκινοειδής, είδος ζωοπλαγκτού, πολυκύτταρος οργανισμός. Κατά τη γέννηση έχει μήκος περίπου 0.5mm και το ενήλικο άτομο περί τα 5mm. Για τα πειράματα χρησιμοποιούνται μόνο νεογνά και όχι ενήλικα. Το μεγάλο πλεονέκτημα αυτών των πειραμάτων είναι ότι γίνονται με γυμνό οφθαλμό. Επιπλέον, η *Daphnia magna* είναι ευαίσθητη στις πιο πολλές τοξικές ουσίες (η ευαισθησία ενός πειράματος προσδιορισμού τοξικότητας εξαρτάται και από τον οργανισμό δείκτη και από την τοξική ουσία). (ΑΡΗΑ-ΑΩΩΑ-WEF,1995)

### Μέσο καλλιέργειας – διατήρησης

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες στη διεξαγωγή κάθε εργαστηριακού πειράματος υδατικής τοξικότητας είναι η ποιότητα του νερού καλλιέργειας και διατήρησης των οργανισμών. Ιδιαίτερη φροντίδα απαιτείται προκειμένου να ελαχιστοποιούνται εξωτερικές αιτίες θνησιμότητας, όπως χλωριούχα ή χλωριωμένα χημικά, βαρέα μέταλλα ή διάφορα οργανικά στο μέσο διατήρησης. Για αυτό εφαρμόζονται καλλιέργειες στο μέσο διατήρησης και μέθοδοι ήπιου ή αυστηρότερου καθαρισμού ανάλογα με τις απαιτήσεις του κάθε εργαστηρίου. Για πειράματα με την *Daphnia pulex* χρησιμοποιείται συνήθως μαλακό νερό (40-48mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ) ενώ για την *Daphnia magna* ενδείκνυται νερό μέτριας σκληρότητας (80-100mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ). Το νερό διάλυσης γίνεται αποδεκτό όταν οι οργανισμοί της *Daphnia* επιδεικνύουν αποδεκτή επιβίωση και αναπαραγωγή κατά τη διάρκεια της καλλιέργειάς τους στο παραπάνω μέσο.

Για τη διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιούνται 10 νεογνά ηλικίας μικρότερης από 24h, σε φιάλες των 125ml, οι οποίες περιέχουν 100 mL του εξεταζόμενου αρχικού δείγματος σε 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις. Για κάθε τιμή συγκέντρωσης ετοιμάζονται 3 δείγματα. Επίσης χρησιμοποιείται ένα δείγμα αναφοράς – μάρτυρας (καθαρό νερό). Στα εξεταζόμενα δείγματα το μέσο διάλυσης είναι το μέσο καλλιέργειας για να αποφευχθεί η ανάγκη προσαρμογής των οργανισμών. Επειδή ο θάνατος των οργανισμών δεν ανιχνεύεται εύκολα, η παράμετρος που ζητείται είναι η ακινησία του οργανισμού.

Ένας οργανισμός θεωρείται ακίνητος, εάν δεν κολυμπάει στο δείγμα σε διάστημα 15 δευτερολέπτων από τη στιγμή μετακίνησής του με τη βοήθεια μικροσιφωνίου. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε διάστημα 24 ωρών. Κατά τη διάρκεια του πειράματος δεν πρέπει να παρέχεται τροφή στα νεογνά της *Daphnia* ενώ το πείραμα πραγματοποιείται ή σε απόλυτο σκοτάδι ή σε εναλλαγή φωτός – σκότους με χρονοδιακόπτη.

Το πείραμα οξείας τοξικότητας της *Daphnia* είναι χρήσιμο για τον προσδιορισμό της τοξικότητας μιας χημικής ένωσης, μιγμάτων ή εκροών. Στα πλεονεκτήματά τους συγκαταλέγονται:



- ο σύντομος χρόνος πραγματοποίησης,
- η απαίτηση μικρής ποσότητας δείγματος
- η δημιουργία ολίγων αποβλήτων
- και το χαμηλό κόστος.

Αντίθετα, μειονεκτήματά του είναι:

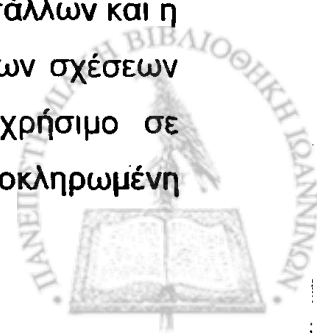
- η ανάγκη συνεχούς καλλιέργειας – διατήρησης των οργανισμών δεικτών
- η ευαισθησία των οργανισμών στην ποιότητα του νερού.
- Η επαναληψιμότητα δεν είναι καλή επειδή είναι δύσκολο να χρησιμοποιηθούν πολλά δείγματα σε ένα πείραμα.

Ο Tomasik P. και οι συνεργάτες του από την Ακαδημία Γεωργίας του τμήματος Χημείας της Πολωνίας και το Πανεπιστήμιο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής, μελέτησαν το 1996 τη χρήση των *Daphnia magna* σε μελέτες ρύπανσης των υδατικών συστημάτων από μέταλλα.

Τα *Daphniidae* (Καρκινοειδή, Anomopoda) χρησιμοποιήθηκαν συχνά σε τοξικολογικές μελέτες και σε περιβαλλοντική παρακολούθηση των υδάτινων οικοσυστημάτων για διάφορους λόγους, όπως η ευαισθησία τους σε τοξίνες, η ευκολία του πολλαπλασιασμού τους και γιατί είναι σημαντικά μέλη του ζωοπλαγκτού σε πολλές λίμνες.

Η εκτεταμένη βιβλιογραφία σχετικά με τη χρήση της *Daphnia* ως βιοδείκτη της ρύπανσης του περιβάλλοντος με ιόντα μετάλλου αναθεωρήθηκε σοβαρά. Παρουσιάζεται μια σύνοψη των δεδομένων σχετικά με την τοξικότητα των μεταλλικών ιόντων σε *Daphnia*. Αυτές οι μελέτες οδήγησαν σε προσπάθειες για την τυποποίηση της χρήσης του βιοδείκτη, καθώς και την παρακολούθηση των διαδικασιών. Έγιναν επίσης προσπάθειες, για να βρεθεί μια σχέση μεταξύ των δεδομένων τοξικότητας και τις πραγματικές ιδιότητες των τοξινών. Μια τέτοια σχέση θα ήταν ωφέλιμη για την πρόβλεψη της ισχύος της τοξικότητας. Όμως οι μελέτες που έγιναν μέχρι σήμερα δεν απέδωσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα για τη δημιουργία αυτής της σχέσης.

Η συλλογή και η ταξινόμηση των δεδομένων τοξικότητας των μετάλλων και η παρουσίαση των προσπαθειών, που έγιναν για τη δημιουργία των σχέσεων αυτών, πραγματοποιήθηκε με την προοπτική ότι θα ήταν χρήσιμο σε μελλοντικές μελέτες, που θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε μια ολοκληρωμένη



θεωρία της επίδρασης της τοξικότητας των μεταλλικών ιόντων στους υδρόβιους οργανισμούς. (Tomasik P. et.al. 1996)

### 5.3.2 Πείραμα ελέγχου ακινησίας *Thamnocephalus platyurus*

Ο οργανισμός *Thamnocephalus platyurus* ανήκει στα βραγχιόποδα και έχει χαρακτηριστικά όμοια με αυτά των οργανισμών *Daphnia*. Τα πειράματα ελέγχου τοξικότητας στηρίζονται στον προσδιορισμό ακινησίας των οργανισμών ή τον προσδιορισμό υπο-θανατηφόρων επιδράσεων, έπειτα από έκθεσή τους σε κάποιο υδατικό δείγμα. Μετά από σύγκριση ευαισθησίας των οργανισμών *D.magna* και *T.platyurus* σε πλήθος χημικών ουσιών, προέκυψε ότι ο οργανισμός *T.platyurus* ήταν λίγο πιο ευαίσθητος (Persoone et al., 1995). Το συμπέρασμα αυτό σε συνδυασμό με άλλα χαρακτηριστικά του πειράματος, όπως μικρότερος χρόνος επώασης των αυγών και η οικονομία (σε περίπτωση χρήσης εμπορικά διαθέσιμων kit), είναι σημαντικοί παράγοντες για την επιλογή του οργανισμού ως δείκτη τοξικότητας. (Persoone et al., 1995)



### 5.3.3. Πείραμα ελέγχου ακινησίας τροχοζώων *Brachionus calicyflorus*

Τα τροχόζωα είναι μικροσκοπικοί οργανισμοί, που ζουν κυρίως στα γλυκά νερά, ελεύθερα ή προσκολλημένα. Αποτελούν σημαντικούς οργανισμούς σε κοινότητες γλυκών νερών, ωστόσο έχουν χρησιμοποιηθεί σπανιότερα ως δείκτες σε μελέτες οικοτοξικολογίας σε σχέση με τα βραγχιόποδα. Τα πλεονεκτήματα που παρουσιάζουν και τα καθιστούν σημαντικούς δείκτες είναι (Charoy et al., 1995):

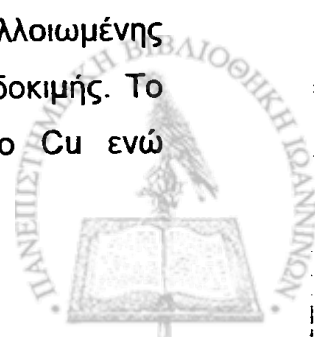
1. το μικρό μέγεθος,
2. ο μικρός χρόνος αναπαραγωγής,
3. η εύκολη καλλιέργεια και
4. η επώασή τους από αυγά.

Συνήθως, προσδιορίζεται το ποσοστό ακινητοποίησης των οργανισμών έπειτα από έκθεσή τους σε κάποιο δείγμα.

Το 1998 οι Charoy και Janssen από το Πανεπιστήμιο της Lyon της Γαλλίας και του Ghent του Βελγίου αντίστοιχα, έκαναν μια μελέτη σχετικά με την επίδραση τοξικών ουσιών στη συμπεριφορά κολύμβησης του τροχοζώου του γλυκού νερού, *Brachionus calicyflorus*, χρησιμοποιώντας ένα αυτοματοποιημένο σύστημα.

Συγκεκριμένα, τρία ήταν τα κριτήρια κολύμβησης: η ταχύτητα, το ελικοειδές και οι περίοδοι κολύμβησης. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις τοξικές ουσίες [χαλκός (Cu), πενταχλωροφαινόλη (PCP), γ-εξαχλωροκυκλοεξάνιο (lindane) ] και εξετάσθηκε η επίδρασή τους στην κινητική συμπεριφορά του τροχοζώου μετά από έκθεση 5 λεπτών, 2 και 6 ωρών. Για κάθε τοξική ουσία οι τιμές 6h-EC<sub>50</sub> υπολογίζονταν από την ταχύτητα, το ελικοειδές και τις περιόδους κολύμβησης και ήταν συγκρίσιμες με τα 96h-, 48h- ή 24h- LC<sub>50</sub> και EC<sub>50</sub> που ελήφθησαν από συμβατικές δοκιμές οξείας τοξικότητας καθώς με τα EC<sub>50</sub> άλλων γρήγορων βιολογικών δοκιμών.

Επιπλέον, παρατηρήθηκαν διαφορετικά μοντέλα αλλοιωμένης συμπεριφοράς, τα οποία εξαρτώνται από τις τοξικές ουσίες της δοκιμής. Το ελικοειδές κολύμπι του τροχοζώου δεν επηρεάσθηκε από το Cu ενώ





επηρεάσθηκε ελαφρώς από την πενταχλωροφαινόλη (PCP) και επλήγη σοβαρά από υψηλές συγκεντρώσεις lindane. Η ταχύτητα κολύμβησης και η περίοδος κολύμβησης μεταβλήθηκαν από σύντομη έκθεση του τροχοζώου στο Cu και στην PCP, αλλά δε μεταβλήθηκαν καθόλου όταν χρησιμοποιήθηκε lindane. Οι αλλαγές στα πρότυπα κολύμβησης συζητήθηκαν σύμφωνα με το γενικό τρόπο δράσης των αντίστοιχων τοξικών ουσιών. (Charoy et.al.1998)

### 5.3.4. Δοκιμασία μακροχρόνιας τοξικότητας με *Daphnia magna* 21 ημερών.

Οι μακροχρόνιες δοκιμασίες τοξικότητας (ή μερικού κύκλου ζωής του οργανισμού) με *Daphnia magna* έχουν σκοπό να προσδιορίσουν εκτός από την επιβίωση, την ανάπτυξη και αναπαραγωγή του πειραματόζωου.

#### Συνθήκες και παράμετροι

Συνήθως διαρκεί 21 ημέρες.

Οι δοκιμασίες γίνονται σε δύο δείγματα για κάθε τιμή συγκέντρωσης της τοξικής ουσίας.

Διατροφή με κατάλληλες ύλες από ζύμη, πράσινα φύκια, διάτομα κλπ.

Ο όγκος των διαλυμάτων είναι 100 ml και το pH = 7 – 8,6 .

Οι άλλες συνθήκες παρόμοιες με την δοκιμασία τοξικότητας 48 ωρών.

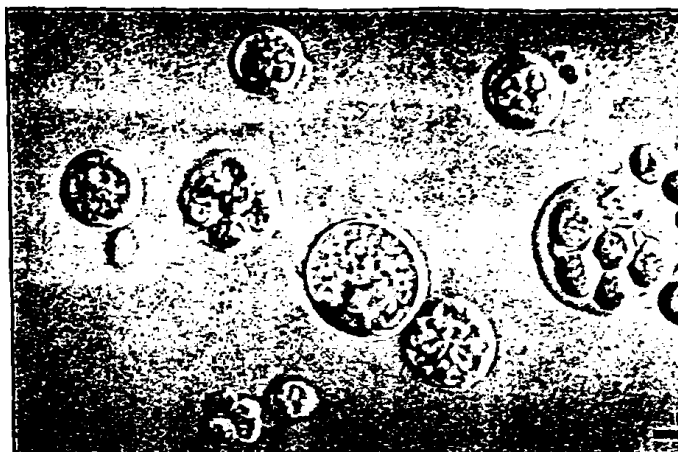
Οι μακροχρόνιες δοκιμασίες τοξικότητας παρουσιάζουν προβλήματα όπως: το είδος της διατροφής, η αλλαγή του διαλύματος, οι δυσκολίες επιβίωσης σε υψηλές συγκεντρώσεις που πλησιάζουν τα όρια αντοχής του οργανισμού.

Παρόμοια μακροχρόνια δοκιμασία τοξικότητας (με της *Daphnia magna*) γίνεται με έναν παραπλήσιο οργανισμό τον *Ceriodaphnia dubia*. Αυτός ο οργανισμός έχει μικρότερο χρόνο αναπαραγωγής γι' αυτό η δοκιμασία διαρκεί λιγότερες ημέρες. Επίσης απαιτούνται μικρότεροι όγκοι διαλυμάτων με μικρότερες συγκεντρώσεις της τοξικής ουσίας και μικρότερες φιάλες οπότε μειώνεται το κόστος. Η δοκιμασία έχει αποδειχθεί χρήσιμη και επαναλήψιμη.



### 5.3.5. Δοκιμασία αναπτυξιακής τοξικότητας σε φύκος 96-ωρών (Algal 96h growth toxicity test).

Το πείραμα της ανάπτυξης αλγών, για παράδειγμα *Chlorella ellipsoidea*. Τα άλγη ή μικροφύκη είναι μικροοργανισμοί, έτσι μπορεί να χρησιμοποιηθεί μεγάλος αριθμός οργανισμών ανά πείραμα. Το μειονέκτημα είναι ότι χρειάζεται όργανο για τη μέτρηση της ανάπτυξης των αλγών, γιατί δεν μπορούν να μετρηθούν με γυμνό μάτι. Τα πειράματα κρατούν γύρω στις 3



[http://ccala.butbn.cas.cz/col\\_images/258.jpg](http://ccala.butbn.cas.cz/col_images/258.jpg)  
*Chlorella ellipsoidea*

ημέρες. Η δοκιμασία αυτή έχει σκοπό να προσδιορίσει την τοξικότητα χημικών ουσιών σε ποικιλία φυκών θαλάσσης και γλυκού νερού. Τα φύκη στα υδατικά συστήματα (ως αυτότροφοι οργανισμοί) είναι γενικά υπεύθυνα για ένα μεγάλο ποσοστό της πρωτογενούς παραγωγής. Είναι πολύ σημαντική αυτή η μελέτη γιατί η ρύπανση στους μονοκύτταρους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς έχει μεγάλο αντίκτυπο για το υδάτινο οικοσύστημα. Χρησιμοποιήθηκαν αρκετοί οργανισμοί, αλλά η ASTM (American Society for Testing and Materials) προτείνει τους παρακάτω:

#### α) Γλυκό νερό

Green algae: *Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus subspicatus*, *Chlorella vulgaris*

Blue-green algae (bacteria): *Microcystus aeruginosa*, *Anabena flos-aquae*

Diatom: *Navicula pelliculosa*

#### β) Αλμυρό νερό

Diatom : *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira pseudonana*

Flagellate : *Dunaliella tertiolecta*



### Παράμετροι και συνθήκες

Η μέθοδος προσαρμόζεται και σε άλλα είδη φυκών .

Ανάλογα με το είδος του οργανισμού χρησιμοποιούνται από  $2 \times 10^4$  μέχρι  $5 \times 10^4$  κύτταρα στις φιάλες δοκιμασιών και η συγκέντρωση των κυττάρων προσδιορίζεται καθημερινά.

Οι μετρήσεις εκτελούνται με ένα hemocytometer ή ηλεκτρονικό καταμετρητή σωματιδίων (electronic particle counter, Coulter Counter).

Η μέτρηση της χλωροφύλλης γίνεται φασματοσκοπικά ή φθορισμομετρικά. Επίσης μετρούνται η περιεκτικότητα σε DNA, φόρτιση σε ATP και  $^{14}\text{C}$  assimilation.

Άλλες παράμετροι που πρέπει να διατηρούνται σταθερές για επαναλήψιμα αποτελέσματα είναι το pH (7.5 για γλυκό νερό, 8.0 για αλμυρό νερό), η θερμοκρασία ( 20-24 °C) και η ένταση του φωτός.

Οι φιάλες πρέπει να αποστειρώνονται για να μειωθεί στο ελάχιστο η μόλυνση των φυκών από μικρόβια (ιδιαίτερα από βακτήρια). Εάν υπάρχουν βακτήρια στη φιάλη μπορούν να διασπάσουν την τοξική ουσία και να μεταβάλλουν την τοξικότητα του διαλύματος.

Οι Hong –Thih Lai και οι συνεργάτες του , από το Εθνικό Πανεπιστήμιο Chiayi της Taiwan, του τμήματος Υδάτινες Βιοεπιστήμες, το 2008 δημοσίευσαν τη μελέτη τους σχετικά με τις επιπτώσεις τριών αντιβιοτικών (χλωραμφαινικόλη, φλοροφαινικόλη και θειαμφαινικόλη) στην ανάπτυξη των μικροφυκών (*Chlorella pyrenoidosa*, *Isochrysis galbana* και *Tetraselmis chui*) που χρησιμοποιούνται σε υδατοκαλλιέργειες.

Προστέθηκαν διαφορετικά επίπεδα δόσεων χλωραμφαινικόλης (CAP), φλορ/φαινικόλης (FF) και θειαμφαινικόλης (TAP) σε καλλιέργειες ενός πράσινου φύκου του γλυκού νερού *Chlorella pyrenoidosa* και δυο θαλάσσιων φυκών *Isochrysis galbana* και *Tetraselmis chui*. Για τα δύο θαλάσσια άλγη η FF έδειξε υψηλότερα επίπεδα τοξικότητας [ $\text{EC}_{50}$  1.3 – 8 mg/l] από την CAP [ $\text{EC}_{50}$  4-41 mg/l] και την TAP [ $\text{EC}_{50}$  38-158 mg/l].

Η CAP ήταν πιο τοξική για το φύκος του γλυκού νερού [ $\text{EC}_{50}$  14mg/l] από την FF [ $\text{EC}_{50}$  215mg/l] και την TAP [ $\text{EC}_{50}$  1283mg/l].



Η ΤΑΡ ήταν λιγότερο τοξική για τα τρία άλγη, αλλά διατήρησε την υψηλότερη σταθερότητα κατά τη διάρκεια της δοκιμής.

Μεταξύ των δοκιμαζόμενων φυκών το *Tetraselmis chui* ήταν το πλέον ευαίσθητο στα τρία αντιβιοτικά.

Αυτή η μελέτη καταδεικνύει ότι και τα τρία αντιβιοτικά φαινικόλες αναστέλλουν την ανάπτυξη των τριών μικροφυκών και θα πρέπει να χρησιμοποιούνται προσεκτικά στις υδατοκαλλιέργειες. (Hong –Thih Lai et.al. 2008)

### 5.3.6.Τα πειράματα με μύκητες, όπως είναι *Sacharomyces cerevisiae*.

Αυτά διαρκούν λιγότερο από τα πειράματα με άλγη (έως μια μέρα). Πάντως, η χρήση των μυκήτων ως οργανισμών δεικτών δεν είναι πολύ διαδεδομένη.

Οι Lubomira Rumlova και Jaroslava Dolezalova από το Κεντρικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο της Πράγας το 2012, δημοσίευσαν μια μελέτη σχετική με ένα νέο βιολογικό τεστ χρησιμοποιώντας το ζυμομύκητα *Sacharomyces cerevisiae* για την ταχεία ανίχνευση των τοξικών ουσιών στο νερό.

Αυτή η μελέτη λοιπόν αξιολογεί τις τοξικές επιδράσεις πέντε ουσιών:

- Ατροπίνης
- Fenitrothion
- Κυανίδιο του καλίου
- Χλωριούχου υδραργύρου
- Νιτρικού Μολύβδου

στο ζυμομύκητα *Sacharomyces cerevisiae*. Περιγράφει ένα βιολογικό τεστ τοξικότητας, το οποίο βασίζεται στην αναστολή της βιωσιμότητας του *Sacharomyces cerevisiae* και συγκρίνει με δύο τυποποιημένες δοκιμές τοξικότητας βασισμένες στην αναστολή της κινητικότητας του *Daphnia magna* (EN ISO 6341) και στην αναστολή της βιοφωταύγειας του *Vibrio fischeri* (EN ISO 11348-2).



Το νέο βιολογικό τεστ – θανατηφόρος δοκιμή του *Sacharomyces cerevisiae* – είναι φθηνότερο και 24 φορές πιο γρήγορο από το τεστ του *Daphnia magna*. Επίσης, η ταχύτητα του νέου τεστ είναι συγκρίσιμη με την ταχύτητα του τεστ *Vibrio fischeri*, αλλά το νέο βιολογικό τεστ είναι πιο ευαίσθητο για ορισμένες ουσίες.

Το νέο τεστ είναι αξιόπιστο για την παρουσία όλων των χρησιμοποιούμενων τοξικών ουσιών στο νερό, σε συγκεντρώσεις που είναι σημαντικά χαμηλότερες από τις συγκεντρώσεις που είναι τοξικές ή θανατηφόρες για τον άνθρωπο. Ως εκ τούτου αυτή η νέα δοκιμή τοξικότητας θα μπορούσε να προταθεί για την ταχεία ανίχνευση τοξικών ουσιών στο νερό. (Lubomira Rumlova et.al. 2012)

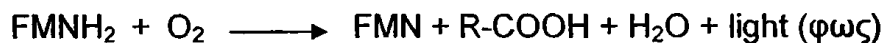
### 5.3.7. Πείραμα αναστολής της βιοφωταύγειας των βακτηρίων *Vibrio fischeri*. MICROTOX TEST

ΤΟ MICROTOX είναι πείραμα ελέγχου άμεσης τοξικότητας. Χρησιμοποιεί το βακτήριο *Vibrio fischeri* (παλαιότερη ονομασία *Photobacterium phosphoreum*), που ζει στη θάλασσα και είναι πολύ σύντομο 15 έως 30 λεπτά. Το βακτήριο αυτό έχει την ικανότητα να εκπέμπει βιοφωταύγεια και το τεστ μετρά κατά πόσο αναστέλλεται η ικανότητα αυτή από τις τοξικές ουσίες.

Ειδικότερα το πείραμα χρησιμοποιεί το βακτήριο *Vibrio fischeri* του γένους B-11177. Τα βακτήρια αυτά αν αναπτυχθούν κατάλληλα, παράγουν φως, το οποίο είναι παραπροϊόν της κυτταρικής τους αναπνοής. (Μάλιστα το φάσμα εκπομπής φωτός του *Vibrio fischeri* παρουσιάζει μέγιστη ένταση στα 490 nm στην ορατή περιοχή). Αφού λοιπόν η βακτηριακή βιοφωταύγεια συνδέεται άμεσα με την αναπνοή και η αναπνοή έχει θεμελιώδη σημασία για όλες τις λειτουργίες του κυττάρου, αν υπάρχει οποιαδήποτε αναστολή στη δραστηριότητα του βακτηρίου, το αποτέλεσμα θα είναι η μείωση του ρυθμού της αναπνοής και συνεπώς η μείωση της έντασης της βιοφωταύγειας. Το βακτήριο *Vibrio fischeri* συναντάται σε μεγάλες συγκεντρώσεις σε φωσφορίζοντα μέρη του σώματος μεγαλύτερων πολυκύτταρων οργανισμών, οι οποίοι ζουν κυρίως στο βυθό των θαλασσών.



Το γένος B-11177 επιλέχθηκε λόγω της υψηλής του ευαισθησίας σε μεγάλο εύρος χημικών ουσιών. Το μέγεθός τους είναι πολύ μικρό (μικρότερο από 1μm). Έχει σχετικά απλή μορφολογία χωρίς επιπλέον λειτουργικά συστήματα στο εσωτερικό των κυττάρων, οπότε διαθέτει αρκετά σημεία κοντά ή στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης, όπου μπορεί να δράσει μια ουσία. Η αντίδραση κατά την οποία παράγεται βιοφωταύγεια, καταλύεται από το ένζυμο λουσιφεράση (Farre et al.-2002)



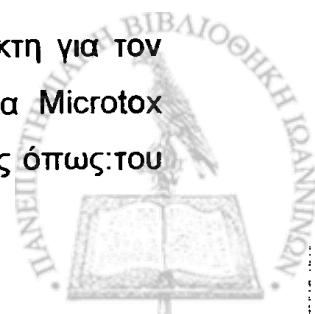
Η βιοφωταύγεια είναι προϊόν της αντίδρασης, στην οποία καταναλώνεται ενέργεια, που φτάνει μέχρι και το 20% της συνολικής ενέργειας του κυττάρου (Wegrzyn και Czyz-2002). Ο ρυθμός αναπνοής του βακτηρίου είναι περίπου 10 – 100 φορές υψηλότερος από το ρυθμό αναπνοής των κυττάρων των θηλαστικών. Επίσης, ο αριθμός των βακτηρίων που χρησιμοποιείται ανά πείραμα είναι πολύ μεγάλος (περίπου  $10^6$ ), οπότε το παραγόμενο φως είναι μετρήσιμο (APHA-AWWA-WEF, 1995).

Μια τοξική ουσία προκαλεί μεταβολές στην κατάσταση του κυττάρου, η οποία μάλιστα μπορεί να είναι σε διαφορετικά επίπεδα (π.χ κυτταρικό τοίχωμα, κυτταρική μεμβράνη, αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, συστατικά κυτοπλάσματος) και κατά συνέπεια προκαλεί μείωση του εκπεμπόμενου φωτός.

Το πείραμα ελέγχου άμεσης τοξικότητας (acute toxicity) με το φωτοβακτήριο *Vibrio fischeri* αναπτύχθηκε από την AZUR ENVIRONMENTAL της Αμερικής. Εξελίχθηκε εμπορικά και κυκλοφόρησε στην αγορά για πρώτη φορά το 1979. Σήμερα κυκλοφορεί στο εμπόριο και χρησιμοποιείται ευρύτατα παγκοσμίως, με αποτέλεσμα να υπάρχει εκτεταμένη βιβλιογραφία για πλήθος ουσιών και δειγμάτων.

Μια τοξικολογική τράπεζα πληροφοριών έχει δημιουργηθεί από τους Καναδούς επιστήμονες Kaiser και Ribo (Environment Canada-1992) για το πείραμα **Microtox**.

Η χρήση του φωτοβακτηρίου *Vibrio fischeri* ως οργανισμού δείκτη για τον προσδιορισμό της τοξικότητας προτάθηκε το 1979. Το πείραμα Microtox χρησιμοποιείται για πολλές εφαρμογές προσδιορισμού τοξικότητας όπως: του



πόσιμου νερού, των αστικών και βιομηχανικών λυμάτων, της ατμοσφαιρικής ρύπανσης (από βιολογικές τοξίνες) και των φαρμακευτικών προϊόντων. Χρησιμοποιείται ένας κατάλληλος αναλυτής (Microtox 500 analyzer), ο οποίος εντοπίζει τις αλλαγές στην εκπομπή φωτός και έτσι προσδιορίζονται οι κίνδυνοι από τις τοξικές ουσίες.

Η Sara Villa και οι συνεργάτες της από το πανεπιστήμιο του Μιλάνου το 2012, μελέτησαν την επίδραση της τοξικότητας 8 πολύπλοκων μιγμάτων χημικών ουσιών με διαφορετικές χημικές δομές και τοξικολογική δράση (ναρκωτικά, πολικά ναρκωτικά, ζιζανιοκτόνα, εντομοκτόνα, μυκητοκτόνα) στη βιοφωταύγεια του βακτηρίου *Vibrio fischeri*.

Στα μίγματα λοιπόν υπήρχαν έως 84 μεμονωμένες χημικές ουσίες. Εφαρμόσθηκαν κατάλληλες στατιστικές προσεγγίσεις για τη σύγκριση μεταξύ των πειραματικών αποτελεσμάτων και των θεωρητικών προβλέψεων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα 2 μοντέλα της προσθετικής συγκέντρωσης (CA) και της ανεξάρτητης δράσης (IA) είναι κατάλληλα, για να εξηγήσουν την επίδραση των μιγμάτων. Ακόμη εξαιρετικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις των επιμέρους χημικών συνέβαλαν στο αποτέλεσμα των μιγμάτων. Συνεργιστικά αποτελέσματα δεν παρατηρήθηκαν σε κανένα από τα μίγματα των δοκιμών.

Ειδικότερα η προσέγγιση της προσθετικής συγκέντρωσης (CA) προέβλεψε τα αποτελέσματα των έξι από τα οκτώ μίγματα και υπερεκτίμησε ελαφρώς τα αποτελέσματα των δυο άλλων. Επομένως, το μοντέλο CA (προσθετικής συγκέντρωσης) μπορεί να προταθεί ως μία ρεαλιστική και αρκετά ασφαλής προσέγγιση για ρυθμιστικούς σκοπούς. (Sara Villa et.al.2012)

Η Sonia P.M. Ventura και οι συνεργάτες της από Πανεπιστήμια της Πορτογαλίας από τη μεριά τους εκτίμησαν την τοξικότητα διαφόρων οικογενειών ιοντικών υγρών σε θαλάσσια βακτήρια *Vibrio fischeri*.

Το αυξανόμενο ενδιαφέρον για την εφαρμογή των ιοντικών διαλυμάτων (ILs) σε ένα ευρύ φάσμα διαδικασιών και προϊόντων παρεμποδίσθηκε από την έλλειψη τοξικολογικών δεδομένων, κυρίως για τα νέα κατιόντα, όπως των βασικών ιοντικών διαλυμάτων (ILs) γουανιδίνιου, φωσφόνιου και ενεργοποιημένου και μη ενεργοποιημένου ιμιδαζόλιου.



Η παρούσα μελέτη εξετάζει την τοξικότητα πέντε βασικών ιοντικών διαλυμάτων (ILs) του γουανιδίνιου, έξι του φωσφόνιου και έξι του ιμιδαζόλιου, για τη φωταύγεια θαλάσσιων βακτηρίων *Vibrio fischeri*. Αυτά τα νέα αποτελέσματα δείχνουν καθαρά ότι τα βασικά ιοντικά διαλύματα (ILs) γουανιδίνιου σε αντίθεση με τα βασικά ιοντικά διαλύματα (ILs) ιμιδαζόλιου και φωσφόνιου δεν ακολουθούν την τάση της αύξησης της τοξικότητας όσο αυξάνει το μήκος της αλυσίδας του αλκυλίου.

Επιπλέον, η εισαγωγή οξυγονούχων ομάδων στις αλυσίδες αλκυλίου, όπως η αιθερομάδα (R-O-) και η εστερομάδα (RCOO-) οδηγεί σε μείωση της τοξικότητας γουανιδίνιου και επίσης ενώσεων ιμιδαζόλιου. Από όλες τις απόψεις η επίδραση των διαφόρων κατιόντων είναι δυνατό να αναγνωρίσει ότι το βασικό ιοντικό διάλυμα φωσφόνιου φαίνεται να είναι πιο τοξικό σε σύγκριση με το ανάλογο βασικό ιοντικό διάλυμα (ILs) ιμιδαζόλιου-(με το ίδιο ανιόν και αλκύλιο). (Sonia P.M. Ventura et.al. 2011)

#### 5.3.8. Τα τεστ με τους μικροοργανισμούς *Brachionus plicatilis* και *Artemia franciscana* (παλαιότερη ονομασία *Artemia salamina*)

Οι οργανισμοί *Brachionus plicatilis* και *Artemia franciscana* χρησιμοποιούνται για τη μελέτη της τοξικότητας σε αλμυρά ή υφάλμυρα νερά. Το τεστ με την *Artemia franciscana* μπορεί να γίνει με γυμνό οφθαλμό, αλλά έχει το μειονέκτημα ότι η *Artemia* δεν είναι πολύ ευαίσθητος οργανισμός. Για να δούμε ευκρινώς τον οργανισμό *Brachionus plicatilis* χρειαζόμαστε μία μεγέθυνση 10 φορές περίπου. Ο *Brachionus plicatilis* είναι πιο ευαίσθητος στην ανίχνευση τοξικών ουσιών από την *Artemia franciscana*.

Στο **Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας** μελετήθηκε η επίδραση των νερών του Παγασητικού κόλπου πάνω στον ευαίσθητο θαλάσσιο οργανισμό *Artemia franciscana*. Τα δείγματα του θαλασσινού νερού συλλέχθηκαν από περιοχές κοντά στις ακτές. Η μελέτη έδειξε ότι η κατάσταση των νερών απέχει πολύ από την ιδανική (πίνακας 5.1) (Κούγκολος Αθ. –2007 )





Ποσοστά θνησιμότητας της *Artemia franciscana* , μετά από έκθεση σε θαλασσινό νερό για 24 ώρες.

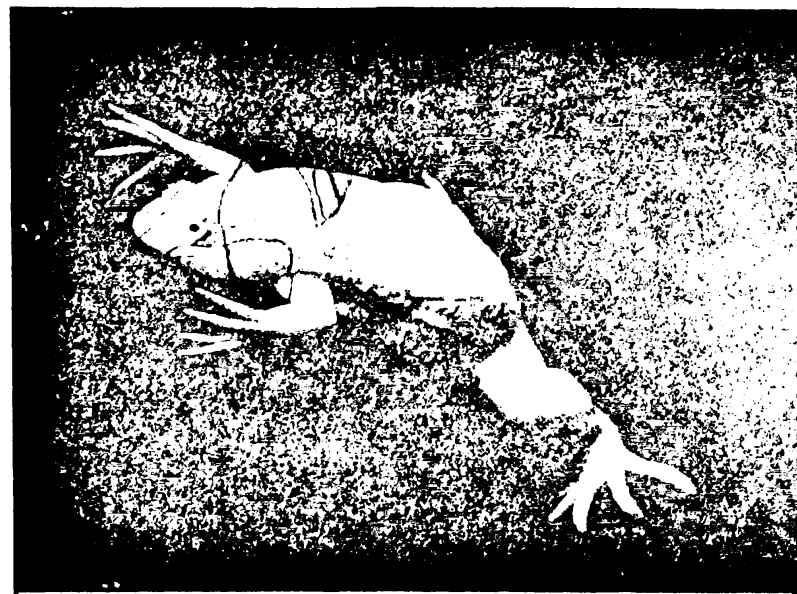
| Περιοχή          | Θνησιμότητα κατά τον<br>Οκτώβριο 1999 (%) | Θνησιμότητα κατά το Μάιο 2000<br>(%) |
|------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------|
| Καλά Νερά        | 20                                        | 30                                   |
| Κάτω Γατζέα      | 0                                         | 0                                    |
| Αγριά            | 20-40                                     | 0                                    |
| Λιμάνι , Βόλος   | 20                                        | 0                                    |
| Παραλία Αλυκών   | 10                                        | 0-10                                 |
| Ν.Αγχίαλαος      | 40                                        | 0                                    |
| Αλμυρός, παραλία | 0-20                                      | 0-30                                 |
| Αμαλιάπολη       | 0-10                                      | 0-10                                 |
| Σούρπη           | 0                                         | 0                                    |
| Ροδιά            | 0                                         | 0                                    |
| Λειχούρα         | 10-40                                     | 0                                    |

### 5.3.9. Δοκιμασία τερατογένεσης σε έμβρυο βατράχου (Frog embryo teratogenesis assay: FETAX)

Αυτή η δοκιμασία τερατογένεσης χρησιμοποιεί το είδος βατράχου *Xenopus laevis* (South African Clawed Frog) και αμφίβια ζώα. Σκοπός της δοκιμασίας κυρίως είναι να μελετηθεί α) η τοξικότητα των υγρών αποβλήτων που καταλήγουν σε λίμνες και ρυάκια (μάλιστα θεωρείται δοκιμασία προτεραιότητας για εξέταση τοξικών αποβλήτων) και β) η τοξικότητα σε εκχυλίσματα ρυπασμένου εδάφους.

Ο βάτραχος *Xenopus laevis* έχει πολλά

πλεονεκτήματα: Αναπαράγεται εύκολα με μεγάλο αριθμό αυγών, τα οποία



<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Xenopus laevis var albino.jpg>

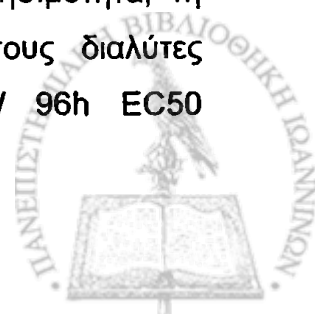
έχουν μεγάλο μέγεθος. Επίσης, σε σχέση με άλλα πειραματόζωα είναι εύκολο να διαπιστωθούν τερατογόνες ανωμαλίες στα αναπτυσσόμενα έμβρυα. (ASTM 1993)

Η μέθοδος έχει σημαντικά πλεονεκτήματα: α) Εφαρμόστηκε εκτενώς και έτσι δημιουργήθηκε εκτενής τράπεζα πληροφοριών για πολλές χημικές ουσίες. β) Τα αποτελέσματά της μπορούν να προεκταθούν σε άλλα είδη ζώων και σε θηλαστικά. Έτσι αποφεύγεται η χρήση θηλαστικών σε πειράματα τερατογένεσης.

Οι ανωμαλίες των εμβρύων, η καθυστέρηση της ανάπτυξης και η θνησιμότητα των εμβρύων εμφανίζονται σε συγκεντρώσεις αρκετά χαμηλές, πιο χαμηλές απ' ό,τι στους ανεπτυγμένους οργανισμούς. Για το λόγο αυτό η δοκιμασία FETAX είναι και χρήσιμη στις μελέτες χρόνιας τοξικότητας υδρόβιων οργανισμών. Τα αποτελέσματα της μεθόδου μπορούν να εφαρμοσθούν και σε άλλα είδη βατράχων. Η μέθοδος είναι διεθνώς αποδεκτή για δοκιμασίες τερατογένεσης σε πειράματα περιβαλλοντικής τοξικολογίας.

Ο Dresser T.H. και οι συνεργάτες του δημοσίευσαν τα αποτελέσματα μιας έρευνας το 1992, που έγινε στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής στο Εργαστήριο Έρευνας και Ανάπτυξης της Βιοϊατρικής του Στρατού. Η δοκιμασία τερατογένεσης εμβρύων Βατράχου *Xenopus laevis* (FETAX) χρησιμοποιήθηκε για να εκτιμηθεί το ενδεχόμενο τερατογένεσης από τη χρήση τεσσάρων διαλυτών.

Συγκεκριμένα, έμβρυα του βατράχου της Ν. Αφρικής *Xenopus laevis* εκτέθηκαν για 96 ώρες σε αιθανόλη, διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), φορμαμίδιο ή τυπική γλυκερίνη. Για να διατηρηθούν οι ομάδες έκθεσης χρησιμοποιήθηκε ένα στατικό σύστημα ανανέωσης, στο οποίο τα μέσα έκθεσης άλλαζαν ανά 24ώρες. Η επιβίωση παρακολουθήθηκε επίσης σε 24ωρα διαστήματα. Το μήκος, ως δείκτης ανάπτυξης και οι αναπτυξιακές δυσμορφίες προσδιορίστηκαν στο τέλος της δοκιμασίας (96ώρες). Για κάθε διαλύτη προσδιορίστηκαν: ο 96h LC 50, η 96h EC 50 (δυσπλασία), καθώς και οι μη παρατηρήσιμες επιπτώσεις επίπεδα (Noels) για τη θνησιμότητα, τη δυσπλασία και το μήκος. Επίσης, για κάθε έναν από τους διαλύτες υπολογίσθηκε ο δείκτης τερατογένεσης,  $[T_1=96h \text{ LC50} / 96h \text{ EC50} \text{ (δυσπλασίες)}]$ .



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

- Το DMSO φαίνεται να είναι ο λιγότερο τοξικός ή τερατογόνος διαλύτης με συγκεντρωτική LC50 του 1.92%, συγκεντρωτική EC50 από 1.57% και T<sub>1</sub> 1.20 και 1.24 σε επαναληπτικές δοκιμές.
- Το φορμαμίδιο φάνηκε να είναι ο πλέον τοξικός διαλύτης με συγκεντρωτική LC50 του 1.04%.
- Η αιθανόλη ήταν ο πιο τερατογόνος διαλύτης με συγκεντρωτική EC50 1.04% και T<sub>1</sub> 1.42 και 1.50.

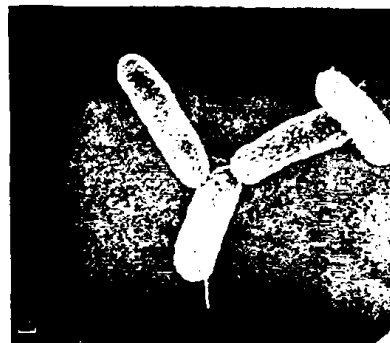
Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας για το DMSO και την αιθανόλη συγκρίθηκαν με προηγούμενα δημοσιευθέντα αποτελέσματα από άλλα εργαστήρια για αυτούς τους δύο διαλύτες και βρέθηκε ότι είναι σε καλή συμφωνία. Έτσι, αυξάνονται τα στοιχεία που υποστηρίζουν ότι τα αποτελέσματα FETAX εμφανίζουν διεργαστηριακή επαναληψιμότητα. (Dresser T.H et.al.1992)



### 5.3.10 Πειράματα μεταλλάξεων με τα βακτήρια *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*.

Με τα πειράματα αυτά γίνεται προσπάθεια να προσδιορισθούν ουσίες που βλάπτουν το DNA των οργανισμών. Το πιο γνωστό και διαδεδομένο τεστ είναι το AMES test, το οποίο προτάθηκε από τον καθηγητή AMES και τους συνεργάτες του το 1975. Χρησιμοποιεί

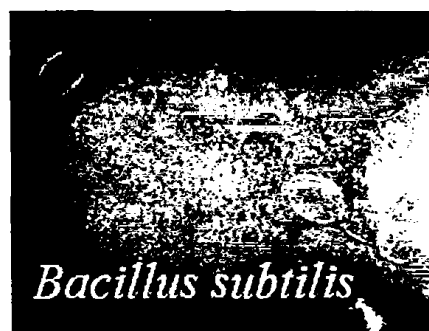
ως οργανισμό δείκτη το βακτήριο *Salmonella typhimurium*. Έχει βρεθεί ότι το 90% των ουσιών που προκαλούν μεταλλάξεις στη *Salmonella typhimurium* είναι και καρκινογόνες. (Monarca et al., 1985)



<http://commons.wikimedia.org/File:Salmonella typhimurium.png>

Άλλο πείραμα διαδεδομένο για τον έλεγχο βλαβών στο DNA είναι το Rec-assay test. Προτάθηκε από τον καθηγητή Kada και τους συνεργάτες του το 1972. Χρησιμοποιεί ως οργανισμό δείκτη το βακτήριο *Bacillus subtilis*.

Το μειονέκτημα των δύο πειραμάτων είναι ότι χρησιμοποιούν βακτήρια, δηλαδή προκαρυωτικούς οργανισμούς. Για να ξεπερασθεί αυτό έχει προταθεί να χρησιμοποιούνται σε τέτοια πειράματα μύκητες, που είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί.



<http://www.tecnologiauv.com/bvap.htm>

### 5.3.11. Δοκιμές TOXKITS

Ενώ μέχρι πριν λίγα χρόνια τα πειράματα προσδιορισμού τοξικότητας απαιτούσαν εξειδικευμένα εργαστήρια και καλλιέργειες οργανισμών δεικτών, οι οποίες κόστιζαν πολύ χρόνο και χρήμα και απαιτούσαν εξειδικευμένο προσωπικό, τελευταίως κάποιοι επιστήμονες από εργαστήρια του Βελγίου ανέπτυξαν τα τεστ τοξικότητας *Toxkits*. Τα *Toxkits* περιέχουν όλα τα απαραίτητα υλικά για την πραγματοποίηση οικοτοξικολογικών αναλύσεων, οι οποίες γίνονται εύκολα και με ελάχιστο κόστος σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους.

Τα πλεονεκτήματα που έχουν τα *Toxkits* είναι τα εξής:

- Είναι εύχρηστα και με πολύ αναλυτικές οδηγίες ώστε να μπορούν να γίνουν οι μετρήσεις και από άτομα χωρίς εξειδίκευση στη μελέτη τοξικότητας.
- Έχουν μικρό κόστος.
- Ακολουθούν τις οδηγίες διεθνών οργανισμών όπως ο OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) και ο ISO.
- Έχουν υψηλή ευαισθησία. (Persoone et al., 1995)
- Απαιτούν ελάχιστο έως καθόλου εργαστηριακό εξοπλισμό.

Τα μειονεκτήματα που έχουν τα *Toxkits* είναι τα εξής:

- Τα περισσότερα δεδομένα που υπάρχουν στη βιβλιογραφία αναφέρονται σε κλασσικές βιολογικές δοκιμασίες και όχι σε *Toxkits*.
- Οι οργανισμοί δείκτες που χρησιμοποιούνται είναι εργαστηριακοί και έτσι απομακρυσμένοι από το φυσικό περιβάλλον.
- Σε κάποιες χώρες, όπως η Γερμανία, η πλειοψηφία των επιστημόνων δε θεωρεί τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών με *Toxkits* αξιόπιστα.

Το χαρακτηριστικό σε αυτά τα τεστ τοξικότητας, είναι ότι οι οργανισμοί – δείκτες περιλαμβάνονται στη συσκευασία σε απενεργοποιημένη μορφή και μπορούν να διατηρηθούν εντός ψυγείου για πολλούς μήνες. Πριν την πραγματοποίηση κάποιου πειράματος, μπορούν να ενεργοποιηθούν με τη βοήθεια κάποιου επωαστή. Έτσι αποφεύγεται η συνεχής καλλιέργεια των οργανισμών σε εξειδικευμένα εργαστήρια.



Τα *Toxkits* μπορούν να χρησιμοποιηθούν:

- Για τον έλεγχο της τοξικότητας επιφανειακών νερών (ποταμών, λιμνών, θαλασσών) ιδιαίτερα σε περιοχές όπου εκρέουν τοξικά απόβλητα.
- Για τον έλεγχο της τοξικότητας αστικών λυμάτων και βιομηχανικών αποβλήτων.
- Για τον έλεγχο υπόγειων νερών.
- Για τον έλεγχο της τοξικότητας των εδαφών (με τη μέθοδο της εκχύλισης).
- Για τον έλεγχο της τοξικότητας ουσιών όπως εντομοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, βαριά μέταλλα.

### Πείραμα Daphtoxkit

Σε αυτό το πείραμα χρησιμοποιούνται αυγά σε απενεργοποιημένη μορφή του καρκινοειδούς *Daphnia magna*, που χρησιμοποιούνται σε παγκόσμια κλίμακα για πειράματα τοξικότητας.

Τα αυγά προστατεύονται από ειδική κάψουλα, στην οποία μπορούν να παραμείνουν αποθηκευμένα για αρκετούς μήνες χωρίς να χάσουν τη βιωσιμότητά τους.

Τα αυγά μπορούν να τοποθετηθούν σε κατάλληλες συνθήκες (θερμοκρασία, μέσο καλλιέργειας,

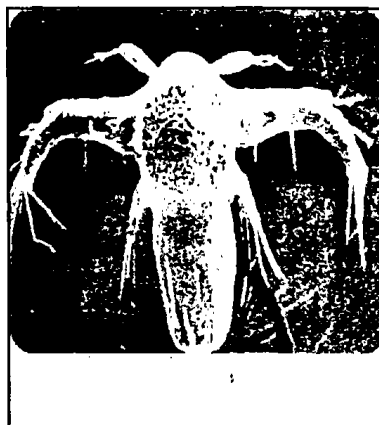
φωτισμός), όπου αναπτύσσονται μέσα σε περίοδο 3-4 ημερών σε νεογνά, για να χρησιμοποιηθούν άμεσα σε πειράματα τοξικότητας.

Το τεστ πραγματοποιείται σε συμφωνία με τις συνθήκες που καθορίζονται τόσο από τις οδηγίες του OECD, όσο και από άλλες εθνικές και διεθνείς τυποποιημένες μεθόδους (ISO, ASTM, USEPA).



### Πείραμα Thamnotoxkit

Πηγή: <http://www.ebpi.ca>



Σ' αυτό το πείραμα χρησιμοποιείται ως οργανισμός δείκτης ο υδρόβιος οργανισμός *Thamnocephalus platyurus*. Ο οργανισμός *Thamnocephalus platyurus* ανήκει στα βραγχιόποδα και έχει χαρακτηριστικά όμοια με αυτά των οργανισμών *Daphnia*. Τα πλεονεκτήματά του είναι η υψηλή ευαισθησία του, ο μικρότερος χρόνος επώασης των αυγών και το χαμηλό κόστος ( με τη χρήση των εμπορικών διαθέσιμων kit) (Persoone et al.-1995).

Ο Nalecz-Jawecki και οι συνεργάτες του από το Πανεπιστήμιο της Βαρσοβίας, αξιολόγησαν τη φωτο-αποικοδόμηση και τη φωτο-τοξικότητα της χλωροπρομαζίνης και της θειοριδαζίνης με χημική ανάλυση και υδρόβιους οργανισμούς.

Η φωτοχημική συμπεριφορά της χλωροπρομαζίνης (CPZ) και της θειοριδαζίνης (THR), μελετήθηκε στην περιοχή υπεριώδους – ορατού (UV-VIS) και αξιολογήθηκε με χημική ανάλυση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (με ανιχνευτή συστοιχίας HPL C-PAD) και δύο βιοδοκιμές, οι οποίες έγιναν σε 2 υδρόβιους οργανισμούς.

Στην περιοχή του ορατού φάσματος (VIS) η CPZ μειώθηκε μέχρι 25% και η THR μέχρι 34% της αρχικής συγκέντρωσης. Ενώ στην περιοχή του υπεριώδους φάσματος (UV) η CPZ και η THR διασπάσθηκαν σχεδόν ολοκληρωτικά.

Η CPZ και η THR ήταν πολύ τοξικές για το πρωτόζωο *Spirostomum ambiguum* (Spirotox) και το καρκινοειδές *Thamnocephalus platyurus* (Thamnotoxkit F<sup>TM</sup>) με 24h LC<sub>50</sub> τιμές περίπου 0.5 mg/L.

Παρά τη δραστική μείωση της συγκέντρωσης των παραπάνω ουσιών (που προκάλεσαν οι ακτινοβολίες UV-VIS) τα ακτινοβολημένα δείγματα ήταν τοξικά για το πρωτόζωο ενώ αντίθετα το καρκινοειδές δεν ήταν ευαίσθητο στα προϊόντα της φωτο-αποικοδόμησης. Με φασματόμετρα μάζας έγινε ανάλυση



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

των προϊόντων ακτινοβολίας και διαπιστώθηκε η παρουσία διμερών και τριμερών προϊόντων CPZ καθώς και μόνο-, δι- και τρι- οξυγονωμένων παραγώγων της THR. Τα στοιχεία αυτά φανερώνουν τη σημασία της έρευνας της περιβαλλοντικής τύχης των φαρμάκων, ιδιαίτερα εκείνων που είναι φωτοτοξικά. (Nalecz-Jawecki et.al. 2008)





#### 5.4. ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΜΙΓΜΑ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΥΔΡΟΒΙΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ (MULTISPECIES TOXICITY TESTS).

Οι δοκιμασίες τοξικότητας σε ένα μίγμα διαφόρων ειδών πειραματόζων, που διατηρούνται στο εργαστήριο κάτω από τεχνητές συνθήκες, είναι σημαντική πηγή για την περιβαλλοντική τοξικολογία.

Επειδή δεν μπορούν να αναπαραστήσουν στο εργαστήριο τις συνθήκες και τις αλληλεπιδράσεις που υπάρχουν σε ένα οικοσύστημα γι' αυτό δημιουργήθηκαν διάφορες μέθοδοι με πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα .

Όλες οι μέθοδοι έχουν τα εξής κύρια χαρακτηριστικά: περιλαμβάνουν δύο ή περισσότερα είδη οργανισμών που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους στο φυσικό περιβάλλον. Επίσης, είναι απαραίτητο να υπάρχει στα πειράματα ετερογένεια στα είδη και στις επιδράσεις, όπως και στο φυσικό περιβάλλον, όμως δεν μπορεί να είναι πολύ μεγάλη γιατί τότε το σύστημα γίνεται πολύπλοκο και είναι δύσκολο να μετρηθεί και να αναλυθεί με βάση ορισμένες παραδοσιακές υποθέσεις και στατιστικές.

Οι δοκιμασίες τοξικότητας που γίνονται σε μίγμα υδρόβιων οργανισμών γίνονται με διάφορες μεθόδους, οι οποίες χρησιμοποιούν ποικιλία ειδών και διάφορα μεγέθη. Οι δοκιμασίες στους υδρόβιους οργανισμούς γίνονται σε φιάλες 1lt (ενός λίτρου) ή μικρότερες. Ενώ οι δοκιμασίες σε μίγματα διαφόρων ειδών οργανισμών στο εργαστήριο χρησιμοποιούν φιάλες 1lt μέχρι 250lt. Τα μεγαλύτερα συστήματα υδρόβιων οργανισμών που χρησιμοποιούνται είναι τα pond mesocosms, δηλαδή μεσόκοσμοι λιμνών τα οποία μελετούν την τοξικότητα των φυτοφαρμάκων.

Οι δοκιμασίες τοξικότητας που γίνονται σε μίγμα χερσαίων οργανισμών γίνονται με διάφορες μεθόδους, οι οποίες χρησιμοποιούν ποικιλία ειδών και διάφορα μεγέθη. Αναφέρουμε μερικά δείγματα χερσαίων μικρόκοσμων :



### Για εργαστηριακές μελέτες

- Μια κοινότητα μικροβίων που ζει στο έδαφος μέσα σε έναν μεγάλο δοκιμαστικό σωλήνα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μελέτη βιοδιασπασιμότητας.
- Μικρά θηλαστικά και έντομα και μια ποικιλία φυτών για σκέπασμα.

### Για μελέτες πεδίου

- Ένα τμήμα εδάφους με φυτά που είναι περιφραγμένο για να εμποδίζεται η έξοδος των οργανισμών που μελετώνται καθώς και είσοδος άλλων οργανισμών.
- Αγροτοσυστήματα και υγράτοποι που περιφράσσονται .

Οι επιστήμονες της Περιβαλλοντικής Τοξικολογίας διαφωνούν στο κατά πόσο οι δοκιμασίες τοξικότητας με μίγμα ειδών (που αναπτύχθηκαν τα τελευταία 15 χρόνια) προσεγγίζουν την πραγματικότητα και είναι κατάλληλες για προεκτάσεις σε άλλα είδη. Το κύριο επιχείρημά τους είναι ότι τα συστήματα μικρής κλίμακας έχουν μικρή βιοποικιλότητα και δεν αντιπροσωπεύουν τα φυσικά οικοσυστήματα και τη δυναμική τους. Άλλοι επιστήμονες δε συμφωνούν και έδειξαν με έρευνες ότι ακόμη και μικρής κλίμακας τεχνητά οικοσυστήματα είναι χρήσιμα για την μέτρηση παραμέτρων Περιβαλλοντικής Τοξικολογίας που συμβαίνουν σε πιο πολύπλοκα συστήματα. Μερικοί υδρόβιοι και χερσαίοι μικρόκοσμοι που χρησιμοποιήθηκαν πρόσφατα σε δοκιμασίες τοξικότητας με πολλά είδη οργανισμών είναι :

### Υδρόβιοι μικρόκοσμοι

Benthic-pelagic microcosm (βενθικός-πελαγικός μικρόκοσμος)

Compartmentalized lake (διαμερισματική λίμνη)

Mixed flask culture microcosm (μικρόκοσμος μικτής καλλιέργειας σε φιάλη)

Pond microcosm (μικρόκοσμος μικρής λίμνης)

Sediment core microcosm (μικρόκοσμος με πυρήνα ιζήματος)

Ecocore I microcosm

Ecocore II microcosm

Standard aquatic microcosm (πρότυπος υδρόβιος μικρόκοσμος)

Stream microcosm (μικρόκοσμος ρέματος, ρυάκι)

Waste treatment microcosm (μικρόκοσμος κατεργασίας αποβλήτων)



#### 5.4.1. Μέθοδος SAM (standardized aquatic microcosm)

##### Τυποποιημένος Υδρόβιος Μικρόκοσμος

Ο τυποποιημένος υδρόβιος μικρόκοσμος (standardized aquatic microcosm, SAM) δημιουργήθηκε για να μελετηθούν οι επιδράσεις χημικών ουσιών σε συστήματα με πολλά είδη οργανισμών στο εργαστήριο.

Ο τυποποιημένος υδρόβιος μικρόκοσμος προετοιμάζεται ως εξής: Σε φιάλη 4lt τοποθετούμε 3lt διάλυμα αποστειρωμένο και εισάγουμε 10 φύκια, ασπόνδυλα και 1 είδος βακτηρίων. Επίσης εισάγουμε ένα ίζημα από 200 gr πυριτικής άμμου και 0,5 gr κονιοποιημένης χιτίνης, το οποίο προηγουμένως αποστειρώνεται σε κλίβανο.

##### Παράμετροι και συνθήκες του πειράματος:

Το πείραμα γίνεται αρχικά σε 30 φιάλες πάνω σε εργαστηριακό πάγκο και ο φωτισμός βρίσκεται σε ύψος 56 cm από τις φιάλες. Χρησιμοποιούνται 3 ομάδες πειραμάτων και μια ομάδα αναφοράς. Δύο φορές την εβδομάδα μετρούνται οι παρακάτω παράμετροι: ο αριθμός και η ποικιλία των οργανισμών, τα θρεπτικά υλικά (νιτρικά, νιτρώδη, αμμωνιακά και φωσφορικά άλατα), το διαλυμένο οξυγόνο (dissolved oxygen, DO), το πηλίκο φωτοσύνθεση / αναπνοή, το pH κτλ .

Η δοκιμασία διαρκεί 64 ημέρες .

Η θερμοκρασία είναι  $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Ο φωτισμός : φωτοπερίοδοι 16 ώρες φως και 8 ώρες σκοτάδι

Ο Landis, και οι συνεργάτες του έκαναν αξιολόγηση των αποικοδομητικών οργανισμών χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Τυποποιημένου Υδρόβιου Μικρόκοσμου (SAM) και δημοσιεύτηκε το 1993.

Στη μελέτη αυτή λοιπόν το βακτήριο *Algaligenes denitrificans* CR-1, ATCC 53957, έχει την ικανότητα να αποικοδομεί το CR, τοξικό υλικό (ελέγχου ταραχών) 1.4 διβενζ-οξαζεπίνη (CR) και χρησιμοποιήθηκε σαν τον οργανισμό δοκιμής. Το γένος *Algaligenes* είναι μια ποικιλόμορφη και εκτεταμένη ομάδα



βακτηρίων, που βρέθηκαν σε διάφορα είδη του υδρόβιου και χερσαίου περιβάλλοντος.

Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιείται ο μικρόκοσμος SAM όπως αναπτύχθηκε από τον Taub με τροποποιήσεις για τους σκοπούς της μελέτης. Χρησιμοποιήθηκαν 4 ομάδες δειγμάτων:

1. μάρτυρες
2. μικρόκοσμοι που περιέχουν τα βακτήρια *Algaligenes denitrificans* CR-1
3. μικρόκοσμοι που περιέχουν την τοξική ουσία CR και
4. μικρόκοσμοι που περιέχουν την τοξική ουσία CR και βακτήρια *Algaligenes denitrificans* CR-1.

Χρησιμοποιήθηκαν ξεχωριστοί ανιχνευτές και εξοπλισμός δειγματοληψίας για τις δοκιμές σε μικρόκοσμους με βακτήρια και μικρόκοσμους χωρίς βακτήρια.

Η αρχική συγκέντρωση της τοξικής ουσίας CR, αρχικά 6.5mg/l, μετρήθηκε χρησιμοποιώντας HPLC. Τα βακτήρια *Algaligenes denitrificans* CR-1 αποίκησαν γρήγορα τους μικρόκοσμους ακόμα και τους μικρόκοσμους χωρίς CR. Η τοξική ουσία CR αποικοδομήθηκε γρήγορα σε επίπεδα κάτω  $EC_{50}$  /  $IC_{50}$  και ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις 1mg/l εντός 18 ημερών.

Οι πληθυσμοί των φυκών ανακτήθηκαν. Ωστόσο οι πληθυσμοί *daphnid* δεν ανακτήθηκαν πριν τελειώσει η περίοδος δοκιμής. Τα πρότυπα του αζώτου και του οξυγόνου από το μεταβολισμό μέσα στους μικρόκοσμους με δόσεις της τοξικής ουσίας CR επηρεάσθηκαν σημαντικά. Η ποικιλία ειδών ήταν ένας φτωχός δείκτης για τις επιπτώσεις της τοξικής ουσίας.

Λόγω των πολυάριθμων δειγμάτων που λαμβάνονται κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν σημαντικό το πρόβλημα της σταυρωτής μόλυνσης μέσω του αέρα. Ωστόσο η μέθοδος SAM ως πειραματικό σύστημα έχει δυνατότητες για πολλά είδη ακολουθώντας τις αλληλεπιδράσεις και τις επιπτώσεις της τοξικής ουσίας και των βακτηρίων αποικοδόμησης και για την αξιολόγηση του κινδύνου νέων οργανισμών. (Landis et.al. 1993)



Άλλη μία μελέτη στηριζόμενη στη μέθοδο SAM είναι αυτή των Meador J.P., Taub F.B., Sibley T.H από το Πανεπιστήμιο της Ουάσιγκτον όπου το 1993 δημοσίευσαν τη μελέτη τους σχετικά με τη Δυναμική του Χαλκού και το μηχανισμό της ανάκαμψης σε επίπεδο οικοσυστήματος σε τυποποιημένο υδάτινο μικρόκοσμο.

Η συγκέντρωση των κυτταρικών φυκιών και της *Daphnia magna*, το pH, ο διαλυμένος οργανικός άνθρακας (DOC) και η συγκέντρωση του διαλυμένου ιοντικού χαλκού μετρήθηκαν σε τυποποιημένο υδάτινο μικρόκοσμο για 489 ημέρες και χρησιμοποιήθηκαν για να εξηγηθεί η ακολουθία ανάκτησης της κοινότητας των οργανισμών. Ένα ανθεκτικό είδος φυκών ήταν κρίσιμο για την έναρξη της ακολουθίας ανάκαμψης σε αυτούς τους μικρόκοσμους. Χρονοδιάγραμμα του *Daphnia magna* έδειξε μεταβλητότητα, αλλά σε υψηλή συσχέτιση με τη μείωση του ιοντικού χαλκού.

Η βιοδιαθεσιμότητα του χαλκού έλεγξε την τοξικότητα, γιατί η *Daphnia magna* από τους υδάτινους μικρόκοσμους δεν εμφάνισε αντίσταση στην τοξικότητα του χαλκού ακόμα και αν η συγκέντρωση του διαλυμένου χαλκού ήταν 5 φορές η τιμή LC<sub>50</sub>. Ο διαλυμένος οργανικός άνθρακας (DOC) και το pH που ελεγχόταν από το μεταβολισμό των φυκών, ήταν πιθανώς σημαντικό για τη μείωση του ιοντικού χαλκού, που επέτρεψε να ξεκινήσει η ακολουθία ανάκαμψης. (Meador J.P et.al. 1993)



### 5.4.2. Δοκιμασία τοξικότητας MFC (Mixed Flask Culture) μικτή καλλιέργεια σε φιάλη.

Η δοκιμασία τοξικότητας της Mixed Flask Culture (MFC) χρησιμοποιείται σε μικρότερη κλίμακα.

Αρχικά από ένα φυσικό οικοσύστημα (λίμνη, ποτάμι, υγρότοπος, δείγμα εδάφους) συλλέγεται διάλυμα για καλλιέργεια, το οποίο παραμένει για 6 μήνες. Στο εξάμηνο διάστημα προστίθεται κατά περιόδους μέσα σε αυτό φυσικό δείγμα για να δημιουργηθούν οι κατάλληλες αλληλοεπιδράσεις μεταξύ των οργανισμών.

Μετά από 6 μήνες το υλικό της καλλιέργειας είναι έτοιμο και εμβολιάζονται μ' αυτό (με ποσότητες 50 cm<sup>3</sup>) οι πειραματικές φιάλες οι οποίες είναι 1lt. Το διάλυμα των πειραματικών φιαλών αφήνεται επί 6 εβδομάδες για να διαμορφωθεί η κοινότητα των οργανισμών και τα πειράματα διαρκούν 12-14 εβδομάδες.

Στη δοκιμασία MFC παίζει μεγάλο ρόλο ο εμβολιασμός.

Το πρωτόκολλο της μεθόδου MFC ορίζει ότι για τον εμβολιασμό απαιτούνται:

- 2 είδη μονοκύτταρων πράσινων φυκιών ή διατόμων,
- 1 είδος πράσινου φύκου νηματοειδούς,
- 1 είδος κυανοφύκους που δεσμεύει άζωτο
- 1 είδος βενθικού οργανισμού
- 1 είδος μακροασπόνδυλου οργανισμού
- 1 είδος μακροασπόνδυλου που τρέφεται με αποσαθρωμένη οργανική ύλη
- είδη βακτηρίων και είδη πρωτόζωων.

Γίνονται 4 ομάδες δοκιμασιών και για κάθε ομάδα γίνονται 5 επαναλήψεις πειραμάτων.

Θερμοκρασία 20°C

Φωτισμός: φωτοπερίοδοι 12 ώρες φως / 12 ώρες σκοτάδι



Μετρούνται: η περιεκτικότητα οξυγόνου, η πυκνότητα φυκιών, η μικροβιακή δραστηριότητα, η αναπνευστική δραστηριότητα, η βιομάζα, το πλήθος πρωτόζωων.

Υπάρχουν αρκετές αντιρρήσεις γι' αυτές τις δοκιμασίες και για το πόσο αντιπροσωπεύουν τις πραγματικές συνθήκες των οικοσυστημάτων. Όμως η μέθοδος αυτή θεωρεί ότι ο χρόνος που διατίθεται για τον εγκλιματισμό των οργανισμών είναι αρκετός για τη συμβιωτική τους ανάπτυξη και έτσι μπορούμε να εκτιμήσουμε την επίδραση των χημικών ουσιών σε όλη την κοινότητα των οργανισμών.

Στο Πανεπιστήμιο της Minnesota στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής το 1986, ο Shannon και οι συνεργάτες του, σύγκριναν τη μέθοδο SAM (Τυποποιημένος Υδάτινος Μικρόκοσμος) με τη μέθοδο MFC (Μικτή Καλλιέργεια Φιάλης), με βάση τα αποτελέσματά τους στο θειικό χαλκό.

Αυτές οι μέθοδοι διέφεραν στη δομή του μικρόκοσμου, την ηλικία και τις μεταβλητές που παρακολουθούνται. Και οι δυο μέθοδοι βρέθηκαν να έχουν δυνατά και αδύνατα σημεία. Η μέθοδος SAM ήταν πιο επαναλαμβανόμενη και παρείχε μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα για τις επιπτώσεις της τοξικής ουσίας, αλλά ήταν εξαιρετικά εντατική εργασία. Η μέθοδος MFC στερούνταν επαναληψιμότητας και δεν είχε πληροφορίες, για να βοηθήσει στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων σε επίπεδο οικοσυστήματος, αλλά εμφάνιζε ευαισθησία ίση με της διαδικασίας SAM και απαιτεί συγκριτικά λιγότερο χρόνο. Θα μπορούσε να αναπτυχθεί μια νέα χρήσιμη μέθοδος μικρόκοσμου ενσωματώνοντας μερικά από τα πλεονεκτήματα της μεθόδου SAM σε μια μικτή καλλιέργεια φιάλης. (Shannon et.al.1986)



### 5.4.3. Δοκιμασία τοξικότητας του μικρόκοσμου FIFRA (Food Insecticide, Fungicide & Rodenticide Act)

Η δοκιμασία τοξικότητας σε υδρόβιο μικρόκοσμο με τη μέθοδο FIFRA δημιουργήθηκε για να μελετηθεί η τοξικότητα των φυτοφαρμάκων σε μεγαλύτερους όγκους διαλύματος απ' ό,τι στις μεθόδους SAM και MFC. Ο απώτερος σκοπός της μεθόδου είναι να συμπεριληφθούν και ψάρια στη δοκιμασία τα οποία είναι θηρευτές των ασπόνδυλων.

Η επίσημη ονομασία της δοκιμασίας είναι Outdoor Aquatic Microcosm Test to Support Pesticide Registration, αλλά αποκαλείται και δοκιμασία μικρόκοσμου FIFRA.

#### Παράμετροι και συνθήκες

Στα πειράματα χρησιμοποιούνται μακρόφυτα, αναδυόμενα ασπόνδυλα, ασπόνδυλα και ψάρια. Οι οργανισμοί που συνήθως χρησιμοποιεί η μέθοδος είναι: φυτοπλαγκτόν, ζωοπλαγκτόν, αναδυόμενα έντομα, βενθικά μακροασπόνδυλα και bluegill sunfish, fathead minnow, channel catfish. Το ίζημα του πυθμένα λαμβάνεται από λίμνη με φυσική βενθική κοινότητα, επίσης το νερό λαμβάνεται από υγιεινή, οικολογικά δραστήρια λίμνη.

Η μέθοδος προσπαθεί να προσομοιώσει τις φυσικές συνθήκες γι' αυτό (προκειμένου η θερμοκρασία να διατηρείται σε εντελώς φυσικές συνθήκες) οι πειραματικές δεξαμενές ή τοποθετούνται μέσα στο έδαφος ή βυθίζονται σε πυθμένα μικρολίμνης.

Οι κλιματολογικές συνθήκες καταγράφονται κατά την διάρκεια των πειραμάτων (θερμοκρασία αέρα, ηλιακή ακτινοβολία, καθίζηση, ταχύτητα ανέμου, υγρασία, εξάτμιση, κλπ. ).

Τα μεγαλύτερα συστήματα που χρησιμοποιεί η δοκιμασία αυτή είναι προσομοιώματα μικρών λιμνών που υπάρχουν σε αγροκτήματα, όπου συνήθως συγκεντρώνονται υπολείμματα φυτοφαρμάκων .

Η ASTM μέχρι τώρα δεν έχει να επιδείξει μια μέθοδο (για διευρυμένο σύστημα μικρόκοσμου) συγκρίσιμη με την μέθοδο FIFRA.  
(<http://www.slideshare.net/kwarkentien/tsca-fifra-presentation>)





### **5.5. ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΟΞΕΙΑΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΥΔΡΟΒΙΑ ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΑ ΚΑΙ ΣΠΟΝΔΥΛΩΤΑ (ACUTE TOXICITY TESTS WITH AQUATIC VERTEBRATES AND MACROINVERTEBRATES).**

Στα πειράματα αυτά χρησιμοποιούνται μακροασπόνδυλα, αμφίβια και ψάρια γλυκού και αλμυρού νερού.

Τα **πειράματα με ψάρια**, έχουν το πλεονέκτημα ότι χρησιμοποιούν οργανισμούς πολύ κοντά στον άνθρωπο (σπονδυλωτά). Τα μειονεκτήματά τους είναι ο μικρός αριθμός οργανισμών ανά πείραμα και η μεγάλη διάρκεια των πειραμάτων. Από την άλλη, τα κύτταρα ψαριών είναι πιο ευαίσθητα από τα πειράματα με ολόκληρα ψάρια και διαρκούν λιγότερο.

Τα είδη που συνήθως χρησιμοποιούνται παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.2.

Τα βασικά προβλήματα των δοκιμασιών αυτών τοξικότητας είναι η προμήθεια υγίων οργανισμών. Πολλά ψάρια αγοράζονται από ιχθυοτροφεία αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις χρησιμοποιούνται ψάρια από το φυσικό τους περιβάλλον, τα οποία όμως αρχικά εγκλιματίζονται στις συνθήκες των εργαστηρίων και μετά χρησιμοποιούνται στις δοκιμασίες τοξικότητας.

**Πίνακας 5.2.** *Είδη που χρησιμοποιούνται για τις δοκιμασίες οξείας τοξικότητας μακροασπόνδυλα, ψάρια και αμφίβια (γλυκού και αλμυρού νερού).*



|                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Τύπος πειράματος   | Στατικό, ανανεώσιμο υλικό, συνεχούς ροής                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Οργανισμοί         | <p><b>Γλυκό νερό:</b></p> <p><b>Σπονδυλωτά:</b> Frog (<i>Rana</i> sp.), toad (<i>Bufo</i> sp.), coho salmon (<i>Oncorhynchus kisutch</i>), rainbow trout (<i>Salmo gairden</i>), brook trout (<i>Salvelinus fontinalis</i>), goldfish (<i>Caecassius auratus</i>), fathead minnow (<i>Pimephales promelas</i>),</p> <p><b>Ασπόνδυλα:</b> Amphipods (<i>Gammarus lacustis</i>), crayfish (<i>Orconectes</i> sp.), mayflies (<i>Hexagenia limbata</i>), midges (<i>Chironomus</i> sp.), snails (<i>Physa integra</i>), stoneflies (<i>Pteronarcys</i> sp.)</p> <p><b>Αλμυρό νερό:</b></p> <p><b>Σπονδυλωτά:</b> Sheepshead minnow (<i>Cyprinodon variegates</i>), silverside (<i>Menidia</i> sp.), pinfish (<i>Lagodon rhomboids</i>), shiver perch (<i>Cymatogaster aggregata</i>), English sole (<i>Parophrys vetulus</i>),</p> <p><b>Ασπόνδυλα:</b> Copepods (<i>Acartia clausi</i>), shrimp (<i>Penaeus setiferus</i>), grass shrimp (<i>Palaemonetes pugio</i>), mysid (<i>Mysidopsis bahia</i>), blue crab (<i>Callinectes sapidus</i>)</p> |
| Ηλικία και μέγεθος | Όλοι οι οργανισμοί στα πειράματα αυτά πρέπει να είναι ομοιογενείς από άποψη ηλικίας και μεγέθους. Για τα ασπόνδυλα πρέπει να χρησιμοποιούνται νεαροί οργανισμοί.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

Το κυριότερο μειονέκτημα είναι ότι τα είδη αυτά μπορεί να είναι ανομοιογενή και να παρουσιάζουν διαφορετικές ευαισθησίες στην χημική ουσία-ρύπο και στις εργαστηριακές συνθήκες.



### Παράμετροι και συνθήκες

Πρέπει να δοθεί προσοχή στην ένταση (στρες) που παρουσιάζουν τα ζώα αυτά, όταν απομονωθούν από το φυσικό τους περιβάλλον και η ποιότητα των νερών που θα χρησιμοποιηθούν. Το νερό σε πολλά εργαστήρια αρχικά διυλίζεται με ιοντοανταλλακτικές ρητίνες και μετά αποστάζεται για να μην υπάρχει ρύπανση και να δώσουν καλά αποτελέσματα οι δοκιμασίες. Έτσι όμως αυξάνεται το κόστος των πειραμάτων.

Κατά τη διάρκεια των δοκιμασιών εξετάζεται το pH, η σκληρότητα του νερού, η αλκαλικότητα και η αλατότητα όταν έχουμε πειράματα με θαλάσσια είδη.

Για δοκιμασίες τοξικότητας σε ψάρια χρησιμοποιούνται συνήθως τα παρακάτω :

α) Γλυκού νερού : fathead minnow (*Pimephales promelas*), bluegill (*Lepomis macrochirus*), channel catfish (*Ictalurus punctatus*), και rainbow trout (*Oncorhynchus gairdneri*).

β) Αλμυρού νερού: sheephead minnow (*Cyprinodon variegatus*), mummichog (*Fundulus heteroclitus*), και silversides (*Menidia sp.*).



Για δοκιμασίες τοξικότητας σε ασπόνδυλα χρησιμοποιούνται συνήθως τα παρακάτω:

α) γλυκού νερού: daphnids (δαφνίδες), insect larvae (προνύμφες εντόμων), crayfish (αστακός ο ποτάμιος), και mollusks (μαλάκια).

β) αλμυρού νερού: mysid (μυσίδι), shrimp (καρίς, κν.γαρίδα), crab species (είδη καρκινοειδών, κν. καβούρια)

Οι Frank P.M και Robertson P.B, από τις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής το 1979, αναφέρθηκαν στην επίδραση της αλατότητας για την τοξικότητα του καδμίου και του χρωμίου στο μπλε καβούρι, *Callinectes sapidus*.



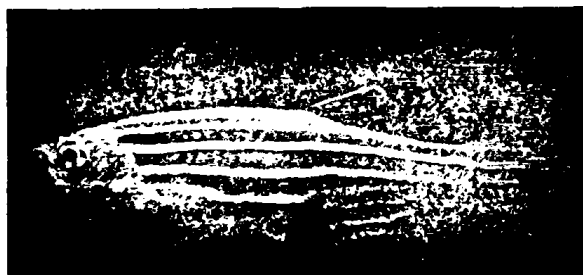
[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Callinectes\\_sapidus\\_1.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Callinectes_sapidus_1.jpg)

Η μελέτη αναφέρει τις θανατηφόρες συγκεντρώσεις του καδμίου και του χρωμίου σε νεαρά μπλε καβούρια, *Callinectes sapidus*, σε δοκιμές οξείας τοξικότητας σε τρεις διαφορετικές αλατότητες. Αυτό έχει σημασία οικονομική για όλες τις εκβολές ποταμών όπου υπάρχουν καρκινοειδή. Η αλατότητα του νερού επηρεάζεται από τη θάλασσα και μπορεί να υπόκεινται σε ρύπανση βαρέων μετάλλων από βιομηχανίες.

Το κάδμιο, όπως αναμενόταν, ήταν πολύ πιο τοξικό από το χρώμιο για όλες τις αλατότητες του νερού. Η 96h- LC<sub>50</sub> σε 1ppt ήταν 0.32ppm καδμίου και 34.2ppm χρωμίου. Η τοξικότητα των δύο μετάλλων μειώθηκε με την αύξηση της αλατότητας. Η 96h- LC<sub>50</sub> σε 35 ppt ήταν 11.6 ppm καδμίου και 98 ppm χρωμίου.

Είναι αυξανόμενη η ανησυχία για τη ρύπανση που προκαλούν τα βαρέα μέταλλα στις εκβολές των ποταμών και στις παράκτιες περιοχές. Το κάδμιο και το χρώμιο είναι δύο από τα πολλά μέταλλα που μπορούν να βρίσκονται στα λύματα βιομηχανιών και μάλιστα σε συγκεντρώσεις υψηλής τοξικότητας. (Frank P.M. et.al 1979)

Επίσης, η Cornelia Kienle και οι συνεργάτες της από το Πανεπιστήμιο Tübingen της Γερμανίας του τμήματος Οικολογίας Φυσιολογίας Ζώων το 2009 δημοσίευσαν τη δική τους μελέτη, η οποία είχε να κάνει με την αναπτυξιακή τοξικότητα και την τοξικότητα συμπεριφοράς των ουσιών chlorpyrifos και χλωριούχου νικελίου στα έμβρυα και προνύμφες του *Danio rerio*.



<http://www.fishbase.us/Photos/ThumbnailSummary.php?ID=4653>

Στη μελέτη αυτή εκτέθηκαν τα έμβρυα και οι προνύμφες του είδους *Danio rerio* σε άλας βαρέως μετάλλου- χλωριούχο νικέλιο ( $\text{NiCl}_2$ ), σε εντομοκτόνο chlorpyrifos (CHP) και σε διμερή μίγματά τους σε οξείες εκθέσεις (2ώρες) και σε εκθέσεις 11ημερών , προκειμένου να εκτιμηθεί η συνδυασμένη τοξικότητα των περιβαλλοντικών χημικών με διαφορετικούς τρόπους δράσης.

Το chlorpyrifos (CHP) είναι ένας αναστολέας της εστεράσης ακετυλοχολίνης, η οποία είναι πιθανό να επηρεάζει τη συμπεριφορά του οργανισμού. Το  $\text{NiCl}_2$  στοχεύει τις ενεργές θέσεις των ενζύμων και θεωρείται ως μια μη ειδική τοξική ουσία για υδρόβιους οργανισμούς. Μελετήθηκαν αρκετές παράμετροι όπως η κινητική δραστηριότητα, οι μορφολογικές ανωμαλίες και η θνησιμότητα των εμβρύων και προνυμφών του *Danio rerio*.

Κατά τη διάρκεια οξείας έκθεσης σε συγκεντρώσεις  $\geq 0.25\text{mg/l}$  του chlorpyrifos, η κινητική δραστηριότητα έτεινε να αυξηθεί. Ωστόσο αυτή η δραστηριότητα μειώθηκε σημαντικά σε συγκεντρώσεις  $\geq 7.5\text{mg Ni/l}$  . Υποχρόνιες εκθέσεις σε CHP οδήγησαν σε αλλαγές συμπεριφοράς σε πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις  $\geq 0.01\text{mg/l}$  και αρκετά νωρίτερα από την αύξηση που παρατηρείται στις μορφολογικές ανωμαλίες και θνησιμότητα [ $\text{LC}_{50} (10\text{d}) : 0.43\text{mg/l}$ ]. Συνδυασμός μιγμάτων CHP και  $\text{NiCl}_2$  οδήγησε στην περίπτωση της κινητικής δραστηριότητας σε μια ανταγωνιστική απόκλιση από το σχέδιο της ανεξάρτητης δράσης.

Στη μελέτη αυτή συγκρίνοντας τις παραμέτρους ανάπτυξης ή επιβίωσης, η συμπεριφορά ήταν το πιο ευαίσθητο τελικό σημείο για την έκθεση σε CHP. Επομένως, προτείνεται αυτή η παράμετρος για να συμπληρώσει εγκατεστημένα τελικά σημεία. (Cornelia Kienle et.al.2009)



**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 5<sup>ου</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ:**

**ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:**

APHA-AWWA-WEF, 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19<sup>th</sup> Edition, Washington D.C.

ASTM, 1991. A standard Practice for performing acute toxicity tests using rotifers in the genus *Brachionus*. American Society for Testing and Materials, E1440, Vol 11.04, 1210-1216.

ASTM, Standard guide for conducting the frog embryo teratogenesis assay-xenopus (FETAX), E 1439-91. Annual Book of ASTM Standards. ASTM Philadelphia, PA 1993.

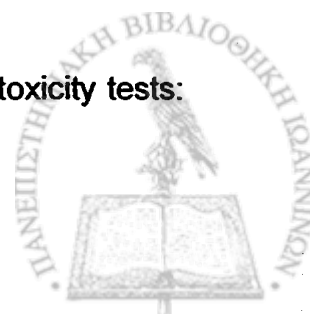
Charoy, C.P., Janssen, C.R., Persoone G., Clement P., 1995. The swimming behavior of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) under toxic stress. The use of automated image analysis for determining sublethal effects of chemicals. *Aquatic toxicology*, 32, 271-282.

Kaiser K.L.E., Ribo V.S., 1991. *Photobacterium phosphoreum* toxicity data index. *Journal of water Pollution Research Canada*.

Monarca S., Pasquini R., Sforzolini S., 1985. Mutagenicity assessment of different drinking water supplies before and after treatments. *Bulletin of Environmental contamination and Toxicology*, 34, 815-823.

Newman M.C., Unger M.A., 2002. *Fundamentals of Ecotoxicology*, 2nd Edition Lewis Publishers, Florida.

Persoone G, Janssen CR, De Coen W, 1995. Cyst – Based toxicity tests: comparison of the sensitivity of the acute *Daphnia magna* tests.



Wegrzyn G., Czyz A., 2002. How do marine bacteria produce light, why are they luminescent and can we employ bacterial luminescence in aquatic biotechnology? *Oceanologia*, 44 (3), 291-305.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

Βαλαβανίδης Αθ. Οικοτοξικολογία και Περιβαλλοντική τοξικολογία. Ερευνητική Μεθοδολογία για την εκτίμηση οικολογικού κινδύνου από επικίνδυνες χημικές ουσίες. Εκδόσεις Σύγχρονα Θέματα, Μη κερδοσκοπική Εκδοτική Εταιρεία, 2008.

Βαλαβανίδης Αθ., Βλαχογιαννη Θωμης. Περιβαλλοντική Χημεία και Οικοτοξικολογία. Διαχείριση Οικοσυστημάτων – Εκτίμηση Οικολογικού κινδύνου. Έκδοση του Τμήματος Χημείας Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2008.

Βασιλικιώτης Γ.Σ. Χημεία Περιβάλλοντος, Θεσσαλονίκη 1981

Κούγκολος Αθ. Εισαγωγή στην Περιβαλλοντική Μηχανική. Εκδόσεις Τζιόλα, 2007.

Σκούλλος Μιχ., Σισκος Παναγιώτης. Χημεία Περιβάλλοντος. Εκδόσεις Συμμετρία, 2010.



**ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ:**

1. [www.chem-tox-ecofox.org](http://www.chem-tox-ecofox.org)
2. <http://www.ebpi.ca>
3. [www.epa.gov/waterscience/WET](http://www.epa.gov/waterscience/WET)
4. [www.sciencelives.com/microtox.html,2008](http://www.sciencelives.com/microtox.html,2008)
5. <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Daphniamagna-femaleadult.jpg>
6. [http://ccala.batdn.cas.cz/col\\_images/258.jpg](http://ccala.batdn.cas.cz/col_images/258.jpg)
7. <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Xenopuslaevisvaralbino.jpg>
8. <http://richardkingwildlifephotography.com/potrfolios/foragefish.html>
9. <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Callinectessapidus.1.jpg>
10. <http://www.fishbase.us/photos/ThumbnailsSummary.php?ID=4653>
11. <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Salmonellatyphimurium.png>
12. <http://www.tecnologiauv.com.br/dvap.htm>
13. <http://www.slideshare.net/kwarkentien/tsca-fifra-presentation>

**ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ:**

1. Okay O.S., Tolun L., Tufekci, Karacik, Kungolos, Samaras, Papadimitriou, Petala, Tsiridis. Comparison of several toxicity tests applied to complex wastewaters and mussel biomarkers in receiving waters. Journal of Environmental Science and Health 2005.
2. Tomasik P. , Warren D.M. The use of Daphnia in studies of metal pollution of aquatic systems. Environmental Reviews, 1996.
3. Christine Charoy, Colin R. Janssen. The swimming behaviour of *Brachionus calyciflorus* (Rotifer) under toxic stress. Chemosphere, Vol.38, No 14, pp:3247-3260, 1999 Elsevier Science Ltd.
4. Hong -Thih Lai, Jung-Hsin Hou, Chyong-Ing Su, Chun-Lang Chen. Effects of chloramphenicol, florfenicol and triamphenicol on growth of algae *Chlorella pyrenoidosa*, *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis chui*. Ecotoxicology and Environmental Safety , 2008 Published by Elsevier Inc.





5. Lubomira Rumlova, Jaroslava Dolezalova. A new biological Test utilising the yeast *Saccharomyces cerevisiae* for the rapid detection of toxic substances in water. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 33, 2012 (459-464), Elsevier B.V.
6. Sara Villa, Sonia Migliorati, Gianna Serafina Monti, Marco Vighi. Toxicity on the luminescent bacterium *Vibrio fischeri* (Beijerinck). II: Response to complex mixtures of heterogeneous chemicals at low levels of individual components, 2012 Elsevier Inc.
7. Sonia P.M. Ventura, Carolina S. Marques, Andreia A. Rosatella, Carlos A.M. Afonso, Fernando Goncalves, Joao A.P. Coutinho. Toxicity assessment of various ionic liquid families towards *Vibrio fischeri* marine bacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011 Elsevier Inc.
8. Dresser T.H. , Rivera E.R, Hoffman F.J. , Finch R.A. Teratogenic assessment of four solvents using the *Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus (FETAX)*. *Journal of Applied Toxicology*, US Army Biomedical Research and Development Laboratory, Health Effects Research Division, Fort Detrick, Frederick, United States, 1992.
9. Frank P.M., Robertson P.B. The influence of salinity and chromium to the blue crab *Callinectes sapidus*. *Bulletin of environmental Contamination and Toxicology*, Volume 21, Issue 1-2, January 1979, Pages 74-78, United States.
10. Cornelia Kienle, Heinz-R. Kohler, Almut Gerhardt. Behavioural and developmental toxicity of chlorpyrifos and nickel chloride to zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2009, Elsevier Inc.



11. Grzegorz Nalecz-Jawecki, Anna Hajnas, Jozef Sawicki. Photodegradation and phototoxicity of thioridazine and chlorpromazine evaluated with chemical analysis and aquatic organisms. Ecotoxicology. Springer Science and Business Media, LLC 2007.
12. Landis, Wayne G., Chester, Nancy A., Haley, Mark V. Evaluation of the ability of *Algaligenes denitrificans denitrificans* CR-1 to degrade the riot control agent CR using the Standardized Aquatic Microcosm (Conference Paper). Environmental Toxicology and Risk Assessment, ASTM Special Technical Publication, 1993.
13. Meador J.P., Taub F.B., Sibley T.H. Copper dynamics and the mechanism of ecosystem level recovery in a standardized aquatic microcosm. Ecological Applications, 1993.
14. Shannon, Lyle J., Harrass, Michael C., Yount, J. David, Walbridge, Charles T. Comparison of Mixed Flask Culture and Stanrdized Laaboratory Model Ecosystems for Toxicity Testing (Conference Paper). ASTM Special Technical Publication, 1986.



## 6.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΡΥΠΑΝΣΗ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΤΗΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΗΣ.

Με τον όρο θαλάσσια ρύπανση εννοούμε την άμεση ή έμμεση απελευθέρωση ρυπογόνων ουσιών στο θαλάσσιο περιβάλλον, η οποία οφείλεται στην ανθρώπινη δραστηριότητα και προκαλεί ή είναι δυνατόν να προκαλέσει κίνδυνο στην ανθρώπινη υγεία, βλάβη στους ζωντανούς οργανισμούς, υποβιβασμό των θαλασσίων οικοσυστημάτων αλλά και των φυσικών πόρων ή παρακώλυση νόμιμων δραστηριοτήτων που σχετίζονται με τη θάλασσα (OSPAR Commission 2000). Τα τελευταία χρόνια, τα επίπεδα των περιβαλλοντικών ρύπων έχουν αυξηθεί πολύ στο θαλάσσιο περιβάλλον λόγω των δραστηριοτήτων του ανθρώπου (EEA 1999).

### 6.1.1. Αιτίες θαλάσσιας ρύπανσης

Κύριες πηγές θαλάσσιας ρύπανσης αποτελούν τα αστικά και βιομηχανικά απόβλητα, η έκπλυση γεωργικών εδαφών, τα λύματα υπονόμων, οι διαδικασίες εξαγωγής άμμου και χαλικιού, οι βιομηχανίες εξόρυξης πετρελαίου, φυσικού αερίου και ορυκτών, η τοποθέτηση καλωδίων και σωληνώσεων, ο τουρισμός, ποικίλες ψυχαγωγικές δραστηριότητες, οι υδατοκαλλιέργειες, η αλιεία, οι θαλάσσιες μεταφορές, τα ατυχήματα διαρροής πετρελαίου κ.ά. (EEA 1999, GESAMP 2001).

### 6.1.2. Θαλάσσιοι ρύποι

Οι ρύποι που απελευθερώνονται στο θαλάσσιο περιβάλλον διακρίνονται σε διάφορες κατηγορίες όπως: αλογονωμένοι υδρογονάνθρακες, μη αλογονωμένοι υδρογονάνθρακες, βαρέα μέταλλα, ανιόντα, φυτοφάρμακα κ.ά.. (Lawrence & Elliot 2003, Δημητριάδης κ.ά. 2006). Θαλάσσιοι ρύποι έχουν ανιχνευθεί όχι μόνο κοντά σε βιομηχανικές περιοχές αλλά και σε απομακρυσμένα σημεία του πλανήτη, όπως είναι η Αρκτική και η Ανταρκτική



(Wu 1999). Σε παγκόσμια κλίμακα, οι περισσότερες από τις παράκτιες περιοχές, που μελετήθηκαν, εμφανίζουν μικρότερα ή μεγαλύτερα επίπεδα ρύπανσης. (<http://www.oceansatlas.org>)

Πολλές οργανικές ενώσεις, που χρησιμοποιήθηκαν από τον άνθρωπο κατά το παρελθόν, είναι ιδιαίτερα ανθεκτικές, με αποτέλεσμα αυτές ή τα παράγωγά τους να εντοπίζονται στο θαλάσσιο περιβάλλον, ακόμα και πολλά χρόνια μετά από την απαγόρευση της χρήσης τους από τον άνθρωπο. (Γ.Σ. Βασιλικιώτης 1981) Καθίσταται λοιπόν αναγκαία η λήψη μέτρων για την προστασία του υδάτινου περιβάλλοντος από τη ρύπανση, ιδίως τη ρύπανση που προκαλείται από ορισμένες ανθεκτικές, τοξικές και βιοσυσσωρεύσιμες ουσίες, όπως ορίζεται και στην αντίστοιχη οδηγία του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου (EC 11/2006).

### 6.1.3. Επιπτώσεις θαλάσσιας ρύπανσης

Η παρουσία ρύπων στα θαλάσσια οικοσυστήματα μπορεί να επιφέρει πλήθος ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων σε όλα τα επίπεδα οργάνωσης της ζωής. Στις αρνητικές συνέπειες, που προκαλεί η θαλάσσια ρύπανση, περιλαμβάνονται επιδράσεις σε επίπεδα όπως το μοριακό ή κυτταρικό, έως και αλλαγές στη δομή και τη λειτουργία των βιοκοινοτήτων, μέσω της διατάραξης της αναπαραγωγικής διαδικασίας και της αλλαγής στη συμπεριφορά των οργανισμών (GESAMP 2001). Η έντονη επίδραση των ρύπων στα θαλάσσια οικοσυστήματα καθιστά επιτακτική την ανάγκη ανάπτυξης μεθόδων για την ταυτοποίηση, μέτρηση, συγκριτική εκτίμηση και διαχείριση των επιπτώσεων που προκύπτουν από την απελευθέρωση χημικών ρύπων στο θαλάσσιο περιβάλλον. (Cajaraville et al. 2000, Broeg et al. 2005)



#### 6.1.4. Εκτίμηση της θαλάσσιας ρύπανσης

Αρχικά η εκτίμηση της θαλάσσιας ρύπανσης πραγματοποιούνταν με τη χημική ανάλυση, δηλαδή τον εντοπισμό χημικών ουσιών στο νερό, στα ιζήματα και στους ζωντανούς οργανισμούς.

Η χημική ανάλυση μπορεί να αποκαλύψει την παρουσία ρύπων, όμως δεν μπορεί να προσδιορίσει τις επιπτώσεις τους στη χλωρίδα και την πανίδα, ούτε το αποτέλεσμα που μπορεί να επιφέρει ο συνδυασμός ποικίλων ρύπων (συνεργιστικά, ανταγωνιστικά ή προσθετικά φαινόμενα) ούτε το διαφορετικό αποτέλεσμα, που μπορεί να προκαλέσει ένας ρύπος σε έναν οργανισμό, κάτω από την επίδραση διαφορετικών περιβαλλοντικών συνθηκών. Επιπλέον, πολλοί οργανικοί ρύποι μεταβολίζονται γρήγορα μετά από την απελευθέρωσή τους στο περιβάλλον (Aas et.al. 2000), δημιουργώντας μεταβολίτες αρκετά επικίνδυνους για τους ζωντανούς οργανισμούς. Σε μια τέτοια περίπτωση, η χημική ανάλυση δεν αποκαλύπτει την παρουσία των πρωτογενών ρύπων, μολονότι οι ζωντανοί οργανισμοί δέχονται τη δυσμενή επίδραση των παραγώγων τους. Επομένως, αν και η χημική ανάλυση συνιστά θεμελιώδη τεχνική για την παρακολούθηση της ρύπανσης θαλασσίων οικοσυστημάτων (chemical monitoring), η μέθοδος αυτή από μόνη της δεν αποτελεί αποτελεσματικό εργαλείο για τον προσδιορισμό των επιπτώσεων της ρύπανσης (UNEP/STAP 2003).

Από τις αρχές της δεκαετίας του '70 άρχισε να εφαρμόζεται και η **βιοπαρακολούθηση (biomonitoring)**, δηλαδή η παρακολούθηση των αποτελεσμάτων της ρύπανσης σε ζωντανούς οργανισμούς. Δηλαδή, εκτός από τις τεχνικές για τη μέτρηση της συγκέντρωσης οργανικών ή ανόργανων ρύπων σε ιστούς ζωντανών οργανισμών, αναπτύχθηκαν και μέθοδοι για την εκτίμηση και καταγραφή των βιολογικών επιπτώσεων της ρύπανσης.

Το πεδίο της βιοπαρακολούθησης είναι ιδιαίτερα ευρύ και περιλαμβάνει μια πληθώρα τεχνικών. Στην «**παθητική βιοπαρακολούθηση**» χρησιμοποιούνται οργανισμοί οι οποίοι υπάρχουν ήδη στο φυσικό περιβάλλον της περιοχής μελέτης.



Αντίθετα, στην «ενεργητική βιοπαρακολούθηση» εισάγονται οργανισμοί - δείκτες στην περιοχή μελέτης και εκτίθενται για συγκεκριμένο χρόνο σε καθορισμένες συνθήκες (Wittig 1993). Η καταγραφή αλλαγών της φυσιολογίας ή και της συμπεριφοράς οργανισμών, με τη χρήση αυτόματων συστημάτων, αποτελεί άλλο ένα σημαντικό εργαλείο στον τομέα της βιοπαρακολούθησης. Επίσης, βιολογικοί προσδιορισμοί στο πεδίο ή στο εργαστήριο αξιοποιούνται για την εκτίμηση της τοξικότητας του νερού, ενώ και η χρήση ανοσολογικών μεθόδων εφαρμόζεται ως ένα γρήγορο μέσο για τη μέτρηση μεμονωμένων ή ομάδων χημικών στοιχείων.

Επιπρόσθετα, η εφαρμογή «βιοτικών δεικτών», οι οποίοι χρησιμοποιούν συγκεκριμένους οργανισμούς με διαφορετικό βαθμό ανθεκτικότητας στη ρύπανση, παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με την καθαρότητα του νερού (NRC 1980, NCMR 1997, Δημητριάδης κ.ά. 2006). Μάλιστα, ο συνδυασμός της εφαρμογής «βιοτικών δεικτών» και της μέτρησης διάφορων φυσικοχημικών και υδρομορφολογικών παραμέτρων, όπως απαιτεί και η οδηγία του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου για τα νερά (EC 60/2000), μας δίνει μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα για την κατάσταση της ποιότητας των υδάτων.



## 6.2. ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΜΥΔΙΩΝ ΩΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ – ΒΙΟΕΝΔΕΙΚΤΩΝ ΣΕ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΒΙΟΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ

Σπονδυλωτά (ψάρια), καρκινοειδή και μαλάκια αποτελούν τους περισσότερο διαδεδομένους οργανισμούς για την εκτίμηση της κατάστασης του θαλάσσιου περιβάλλοντος. Τα ψάρια, λόγω του ότι εμφανίζουν δυνατότητα μετακίνησης, δεν μπορούν να καταδείξουν τη ρύπανση μιας συγκεκριμένης θαλάσσιας περιοχής. Ως εκ τούτου, όταν χρησιμοποιούνται τα ψάρια ως οργανισμοί βιοενδείκτες σε μελέτες βιοπαρακολούθησης θαλασσίων οικοσυστημάτων, συνήθως διατηρούνται μέσα σε κλωβούς με σκοπό να περιορισθεί η κινητικότητά τους. Αυτό σε συνδυασμό με το υψηλό κόστος των ψαριών έχει ως αποτέλεσμα να μη χρησιμοποιούνται τα ψάρια σε μελέτες βιοπαρακολούθησης της θαλάσσιας ρύπανσης σε κλίμακα ανάλογη με αυτή των μαλακίων. Έτσι, τα στρείδια, οι πεταλίδες και περισσότερο τα μύδια χρησιμοποιούνται εκτεταμένα σε προγράμματα βιοπαρακολούθησης. (Cajaraville et al. 1990, Livingstone et al. 1990, Smolders et al. 2003, Marigomez et al. 2006, ICES 2006).

### 6.2.1. Τα πλεονεκτήματα των μυδιών

Τα δίθυρα και ιδιαίτερα τα μύδια χάρη στις εγγενείς ιδιότητές τους (δέχονται και φιλτράρουν μεγάλο όγκο ύδατος για να προσλάβουν την τροφή τους, οπότε βιοσυσσωρεύουν μαζί μ' αυτήν στους ιστούς τους και τυχόν ρύπους που υπάρχουν στο νερό κυρίως βαρέα μέταλλα και οργανικές ενώσεις) μπορούν να λειτουργήσουν ως δείκτες της «υγείας του οικοσυστήματος» μέσα στο οποίο ζουν, προσφέροντας πολύτιμα στοιχεία στις οικοτοξικολογικές μελέτες, οι οποίες έχουν στόχο την αποτίμηση της θαλάσσιας ρύπανσης και τον έλεγχο της τοξικότητας στο υδάτινο περιβάλλον.

**Τα πλεονεκτήματα των μυδιών**, όπως έχουν από καιρό επισημάνει οι επιστήμονες, είναι πολλά και σημαντικά (NCR 1980, Philips 1980, Widdows 1985, Farrington et al. 1987, Δημητριάδης κ.ά. 2006):



- Τα μύδια κυριαρχούν στην παράκτια ζώνη, στις κοινωνίες των φωτόφιλων φυκών και παρουσιάζουν ευρεία γεωγραφική κατανομή.
- Είναι προσκολλημένοι οργανισμοί και άρα καταλληλότεροι από άλλους, οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα μετανάστευσης, για την πρόσληψη και την εκτίμηση χημικών ρύπων από μια συγκεκριμένη περιοχή.
- Είναι αρκετά ανθεκτικά σε ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών συνθηκών και παρουσιάζουν μεγάλη αντοχή μετά από επίδραση σχετικά υψηλής συγκέντρωσης ρύπων.
- Είναι διηθηματοφάγα και λόγω της ικανότητάς τους να φιλτράρουν σημαντικό όγκο νερού, γίνονται αποδέκτες μεγάλων ποσοτήτων ρυπογόνων ουσιών, οι οποίες μπορούν να συσσωρευτούν στους ιστούς τους σε πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις από το θαλασσινό νερό. Επομένως, τοξικές ουσίες, που εμφανίζονται σε ίχνη στο θαλασσινό νερό, μπορούν να προσδιορισθούν ευκολότερα στους ιστούς των οργανισμών αυτών.
- Τα δίθυρα, σε σύγκριση με τα αρθρόποδα και τα ψάρια, μεταβολίζουν ελάχιστα τις οργανικές τοξικές ουσίες (γιατί η δραστηριότητα των ενζυμικών συστημάτων είναι χαμηλή). Άρα, οι συγκεντρώσεις των ρύπων στους ιστούς τους αντικατοπτρίζουν με μεγαλύτερη ακρίβεια την έκταση της περιβαλλοντικής ρύπανσης.
- Η μέτρηση των τοξικών ουσιών στους ιστούς των διθύρων παρέχει πρόσθετες πληροφορίες για τη βιολογική διαθεσιμότητά τους, η οποία δεν μπορεί να αξιολογηθεί όταν οι μετρήσεις πραγματοποιούνται στο νερό, στα αιωρούμενα σωματίδια ή στα ιζήματα.
- Τα μύδια εμφανίζουν σχετικά σταθερούς πληθυσμούς με μεγάλο αριθμό ατόμων. Το γεγονός αυτό επιτρέπει την πραγματοποίηση επανειλημμένων δειγματοληψιών για τη μακροχρόνια παρακολούθηση του υδάτινου περιβάλλοντος.
- Είναι εύκολη η μεταφορά και η διατήρησή τους μέσα σε κλωβούς σε περιοχές ενδιαφέροντος.
- Είναι δυνατή η διατήρησή τους κάτω από ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες, γεγονός που επιτρέπει πειράματα στο εργαστήριο.
- Υπάρχει εκτεταμένη βασική γνώση για τις βασικές λειτουργίες τους, με αποτέλεσμα τη δυνατότητα εξαγωγής συμπερασμάτων με οικοτοξικολογική συνάφεια.





### 6.2.2. Επίδραση αβιοτικών και βιοτικών παραγόντων στους βιοδείκτες οξειδωτικού stress σε μύδια.

Οι αποκρίσεις των μοριακών βιοδεικτών οξειδωτικού stress στα μύδια επηρεάζονται από περιβαλλοντικούς ή αβιοτικούς παράγοντες και βιοτικούς παράγοντες.

**A) Οι περιβαλλοντικοί ή αβιοτικοί παράγοντες, όπως αλατότητα, θερμοκρασία, επίπεδο οξυγόνου, μπορούν να επιδράσουν στη φυσιολογία και τη συμπεριφορά των δίθυρων μαλακίων, επηρεάζοντας το ρυθμό αύξησης, το ρυθμό πρόσληψης τροφής, τον αναπαραγωγικό κύκλο και κατά συνέπεια την ικανότητά τους να αποκρίνονται στη ρύπανση.**

Για παράδειγμα:

1. Η αυξημένη αλατότητα και η έντονη μεταβολή στο pH του θαλασσινού νερού είναι αβιοτικοί παράγοντες, που μπορούν να μειώσουν το χρόνο ανοίγματος του κελύφους, ώστε να επέλθει ομαλή εξισορρόπηση του εσωτερικού περιβάλλοντος του οργανισμού με το υδάτινο μέσο. Όταν συμβαίνει αυτό διατηρείται ευκολότερα η ομοιόσταση των κυττάρων, ενώ η απαιτούμενη ενέργεια εξασφαλίζεται μέσα από αναερόβιες διαδικασίες. ([www.eebe.gr](http://www.eebe.gr))
2. Η έκθεση των ατόμων στην ατμόσφαιρα εξαιτίας της παλίρροιας είναι ένας άλλος παράγοντας, που προκαλεί αύξηση της αναερόβιας αναπνοής επηρεάζοντας το μεταβολισμό των οργανισμών, τη φυσιολογική τους ομοιόσταση και τη δράση των ενζύμων στο εσωτερικό των κυττάρων.
3. Οι συνθήκες έντονου συνωστισμού περιορίζουν την ικανότητα πρόσληψης τροφής, με αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους και της βιωσιμότητας των ατόμων και τη μεταβολή του αναπαραγωγικού τους κύκλου. Επίσης, ο αυξημένος ανταγωνισμός για εύρεση τροφής, ο οποίος προκαλείται λόγω του συνωστισμού, αναγκάζει τους οργανισμούς να φιλτράρουν μεγαλύτερες

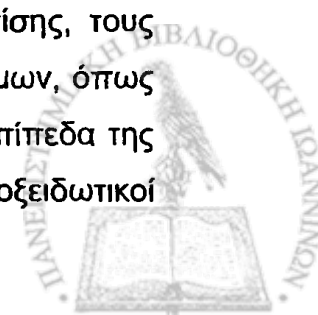


ποσότητες νερού, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση αυξημένης ποσότητας ρύπων στο εσωτερικό των ιστών τους.

4. Τέλος, η μόλυνση από παράσιτα έχει επίπτωση στη φυσιολογική κατάσταση των μυδιών. (Rayyan et al. 2004)

**Β) Οι Βιοτικοί Παράγοντες**, όπως η ηλικία, το μέγεθος των ατόμων, το βάρος του μελετώμενου ιστού και η περίοδος αναπαραγωγής, καθορίζουν τη φυσιολογία και συμπεριφορά των μυδιών και κατά συνέπεια τη δυνατότητα να αποκρίνονται στη ρύπανση.

1. Ο αναπαραγωγικός κύκλος καθορίζει σε μεγάλο βαθμό τη φυσιολογική κατάσταση των μυδιών και συνεπώς εμπλέκεται στη χρήση των μυδιών ως βιολογικοί δείκτες για τη μελέτη της ρύπανσης από χημικές ενώσεις που προκαλούν οξειδωτικό stress. Η ωοτοκία των μυδιών *Mytilus galloprovincialis* στην Ελλάδα ξεκινά από τα μέσα του Δεκεμβρίου και ολοκληρώνεται μέχρι το Φεβρουάριο. Το φθινόπωρο τα μύδια βρίσκονται σε πρώιμα στάδια γαμετογένεσης, με τις γονάδες να ωριμάζουν σταδιακά μέχρι την έναρξη του χειμώνα. Όλα τα άτομα τον Ιανουάριο είναι σε πλήρη ωριμότητα και η ωοτοκία αρχίζει. Το Φεβρουάριο τα μύδια βρίσκονται σε διάφορες φάσεις ωοτοκίας και το Μάρτιο η ωοτοκία ολοκληρώνεται, επειδή ευνοείται από την αύξηση της θερμοκρασίας. Μετά την πρώτη ωοτοκία μπορεί να πραγματοποιηθεί γρήγορη γαμετογένεση, καθιστώντας τα μύδια ικανά για μια δεύτερη ωοτοκία, που μπορεί να πραγματοποιηθεί στις αρχές του καλοκαιριού. Κατά την περίοδο λίγο πριν την ωοτοκία τα μύδια παρουσιάζουν την ανάγκη για ικανοποιητικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς, με αποτέλεσμα αυτοί να ενισχύονται τους πρώτους ανοιξιάτικους μήνες, όπου πραγματοποιείται η πρώτη ωοτοκία. Μετρήσεις που έγιναν σε μύδια για τη δραστικότητα της CAT, σε σχέση με τον αναπαραγωγικό κύκλο, έδειξαν ότι αυξάνεται η δραστικότητα του ενζύμου τους ανοιξιάτικους μήνες. Επίσης, τους ανοιξιάτικους μήνες αν και αυξάνεται η δραστικότητα ενζύμων, όπως της CAT και της SOD, παρατηρούνται και αυξήσεις στα επίπεδα της λιπιδικής υπεροξειδωσης, που σημαίνει πως οι αντιοξειδωτικοί



μηχανισμοί δεν ενισχύονται επαρκώς για να αποφευχθούν οι επιπτώσεις του οξειδωτικού stress.

2. Το μέγεθος και η ηλικία των μυδιών είναι δύο ακόμη σημαντικοί παράγοντες που εμπλέκονται στη χρήση των μυδιών ως βιολογικοί δείκτες ρύπανσης από χημικές ενώσεις που προκαλούν οξειδωτικό stress.
3. Τέλος, οι ιστοί των μυδιών εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις μετάλλων και ιδιαίτερα τα βράγχια, στο τέλος του χειμώνα και στις αρχές της άνοιξης, γιατί τότε αυξάνεται ο ρυθμός φιλτραρίσματος αφού πρόκειται για την περίοδο της γαμετογένεσης. Αντίθετα, το καλοκαίρι παρατηρούνται μικρότερες συγκεντρώσεις μετάλλων στους ιστούς των μυδιών.



### 6.3. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΕΝΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

#### 6.3.1. Εισαγωγή

Τα μαλάκια και ιδιαίτερα τα μύδια, είναι ιδανικοί οργανισμοί για την ποσοτική εκτίμηση (quantitative assessment) της ρύπανσης και του οικοτοξικολογικού κινδύνου (Ecological Risk Assessment) στα υδάτινα οικοσυστήματα. Είναι βενθικοί οργανισμοί, όπως έχει προαναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, που διηθούν μεγάλες ποσότητες ύδατος, ευρύτατα εξαπλωμένοι και ικανοί να συσσωρεύουν ορισμένες κατηγορίες ρυπογόνων χημικών ενώσεων, παρέχοντας έτσι μια εικόνα της βιοδιαθεσιμότητάς τους. Έτσι η χρήση των μυδιών είναι ευρύτατα διαδεδομένη σε προγράμματα παρακολούθησης της ρύπανσης των υδάτινων συστημάτων, όπου οι χημικές αναλύσεις συμπληρώνονται με τη χρήση βιοδεικτών, ώστε να εκτιμηθούν οι μοριακές, οι βιοχημικές και οι κυτταρικές επιδράσεις, που προκαλούνται από τις ρυπογόνες ουσίες.

### 6.3.2. Κατανομή, συστηματική κατάταξη

Τα Μύδια που είναι ιδιαίτερα διαδεδομένα στις οικοτοξικολογικές και περιβαλλοντικές μελέτες είναι:

τα *Mytilus galloprovincialis* (Μεσόγειος Θάλασσα, Μαύρη Θάλασσα, Αδριατική Θάλασσα) και τα *Mytilus edulis* (Λευκή Θάλασσα, Βαλτική, Μεσόγειος και Ατλαντικός Ωκεανός), καθώς επίσης και άλλα είδη, όπως: τα *Perna perna* (Ατλαντικός και Ινδικός Ωκεανός, Μεσόγειος Θάλασσα), *Perna viridis* (Ασία, Ειρηνικός Ωκεανός) ([www.marine.csiro.au](http://www.marine.csiro.au)), *Modiolus modiolus* (Λευκή Θάλασσα, Βόρεια Θάλασσα, Ατλαντικός και Ειρηνικός Ωκεανός), *Bathymodiolus azoricus* (Ατλαντικός Ωκεανός) και *Unio tumidus* (γλυκού νερού, Ευρώπη) ([http://nis.gsmfc.org/nis\\_factsheet.php?toc\\_id=149](http://nis.gsmfc.org/nis_factsheet.php?toc_id=149)).

Το γένος *Mytilus* παρουσιάζει ευρεία κατανομή τόσο στο βόρειο όσο και στο νότιο ημισφαίριο και περιλαμβάνει τέσσερα είδη: *Mytilus galloprovincialis*, *M. edulis*, *M. trossulus* και *M. californianus*. Η εμφάνιση του γένους τοποθετείται πριν από 1-2 εκατομμύρια χρόνια. Τα στοιχεία στα οποία στηρίζεται η κατάταξη των ειδών του γένους *Mytilus*, καθώς και στοιχεία σχετικά με την οικολογία, τη φυσιολογία, τη γενετική, την εκτροφή ή τη σχέση των μυδιών με τη δημόσια υγεία εμπεριέχονται στο βιβλίο της Gosling (1992).

Στο Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ), με αφορμή μια διδακτορική διατριβή, έγινε μια διερεύνηση βιομαρτύρων ρύπανσης στο μύδι *Mytilus galloprovincialis* με μελέτες στο πεδίο (Θερμαϊκός - Στρυμονικός Κόλπος) και στο εργαστήριο μετά από έκθεση σε ρύπους.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ως βιοενδείκτης το μύδι *Mytilus galloprovincialis*. Η συστηματική κατάταξη του είδους αυτού είναι η ακόλουθη:

Βασίλειο: Animalia

Φύλο: Mollusca

Κλάση: Bivalvia

Υποκλάση: Pteriomorpha

Τάξη: Lamellibranchia

Οικογένεια: Mytilidae

Γένος: *Mytilus*

Είδος: *galloprovincialis*

Κοινό όνομα: μύδι

Εμπορικό όνομα: μύδι Μεσογείου

Κοινό αγγλικό όνομα: Mediterranean mussel, bay mussel.



Εικόνα 1: Μύδι (*Mytilus galloprovincialis*). Αριστερά η εξωτερική όψη της

θυρίδας και δεξιά η εσωτερική. (Φωτογραφία από το διαδίκτυο στη διεύθυνση:

<http://www.habitas.org.uk/marinelife/species.asp?item=W16510>).

### 6.3.3. Συσσώρευση βαρέων μετάλλων και οργανικών ρύπων σε ιστούς του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*

#### A) Συσσώρευση βαρέων μετάλλων

Τα μέταλλα είναι μεγάλη ομάδα χημικών στοιχείων, που υπάρχουν στη φύση και μετατρέπονται σε ρύπους κυρίως από ανθρωπογενείς δραστηριότητες.

Ο όρος «βαρέα μέταλλα» χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει μέταλλα που αποτελούν περιβαλλοντικούς ρύπους. Αρχικά, «βαρέα» χαρακτηρίζονταν τα μέταλλα που είχαν σχετική πυκνότητα ως προς το νερό μεγαλύτερη του (5) πέντε. Τα τελευταία χρόνια ο χαρακτηρισμός «βαρέα μέταλλα» δε γίνεται με βάση την πυκνότητά τους, αλλά κυρίως με βάση τις χημικές τους ιδιότητες. (Δημητριάδης κ.ά. 2006).

Τα μέταλλα, ανάλογα με τη βιολογική τους σημασία, διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: απαραίτητα και μη απαραίτητα. Τα απαραίτητα μέταλλα συμβάλλουν στην ενεργοποίηση μεταλλοενζύμων και πρωτεϊνών στρες, βοηθούν στη μεταφορά οξυγόνου, ενώ σημαντικός είναι ο ρόλος τους σε αναγωγικές και πολλές άλλες βιολογικές διαδικασίες. Παρά τη μεγάλη σημασία τους στη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων, μικρές μόνο συγκεντρώσεις τους απαιτούνται από τους ζωντανούς οργανισμούς, οι οποίοι εμφανίζουν ειδικούς μηχανισμούς για την πρόσληψη και μεταφορά των στοιχείων αυτών στους ιστούς. Τα απαραίτητα μέταλλα μπορεί να εμφανίσουν τοξική δράση στην περίπτωση που η συγκέντρωσή τους ξεπεράσει κάποιο όριο (Nicaise et al. 1989, Nott 1991).

Τα μη απαραίτητα μέταλλα δεν έχουν κάποιο γνωστό βιολογικό ρόλο και εμφανίζουν μεγάλη τοξικότητα, ιδιαίτερα όταν η συγκέντρωσή τους στους ιστούς υπερβεί μια οριακή τιμή (Rainbow 1993). Συγκεκριμένα, μπορούν να επιφέρουν σειρά δυσμενών επιδράσεων στους ζωντανούς οργανισμούς, όπως νευροφυσιολογικές διαταραχές, γενετικές αλλοιώσεις των κυττάρων (μεταλλάξεις), επιδράσεις στην ενζυμική και ορμονική δραστηριότητα, προβλήματα στην αναπαραγωγή, τερατογενέσεις και καρκινογενέσεις. Μάλιστα, λόγω συναγωνισμού με τα απαραίτητα, μπορούν να καταλάβουν τις



θέσεις σύνδεσης των τελευταίων σε ειδικά μόρια και δομές, με συνέπεια την εμφάνιση ανωμαλιών στο μεταβολισμό. Γενικότερα, η τοξικότητα των μετάλλων αποτελεί συνδυασμό ποικίλων παραγόντων, όπως: η συγκέντρωσή τους, το είδος του μετάλλου, η παρουσία και η συνεργατική δράση άλλων μετάλλων καθώς και το είδος του οργανισμού.

Αυξημένες συγκεντρώσεις μετάλλων εμφανίζονται σε νερά και ιζήματα των παράκτιων και των εκβολικών περιοχών (όπως είναι τα δέλτα ποταμών και οι χώροι απελευθέρωσης βιομηχανικών αποβλήτων). (Vasilikiotis et.al, 1983)

Η εισαγωγή των μετάλλων σε ιστούς μαλακίων μπορεί να πραγματοποιηθεί παθητικά με διάχυση από την επιφάνεια του σώματος ή μέσω της τροφής. Ορισμένα μέταλλα, όπως ο χαλκός και ο ψευδάργυρος, εισάγονται στο κύτταρο μέσω πρωτεϊνών της πλασματικής μεμβράνης, με τη διαδικασία της υποβοηθούμενης διάχυσης, ενώ μεγαλύτερα ιόντα χρησιμοποιούν διαμεμβρανικές πρωτεΐνες ενεργητικής μεταφοράς για την είσοδό τους στα κύτταρα. Τέλος, η πρόσληψη των μετάλλων μπορεί να πραγματοποιηθεί με ενδοκύτωση και πinoκύτωση οργανομεταλλικών συμπλόκων.

Η συσσώρευση μεταλλικών ιόντων στους ιστούς των μυδιών δεν επηρεάζεται μόνο από τη ρύπανση, αλλά φαίνεται να εξαρτάται και από ποικίλους φυσικούς παράγοντες, όπως: το μέγεθος των ατόμων, την ηλικία, το φύλο, το ρυθμό αύξησης, την αναπαραγωγική δραστηριότητα, την εποχικότητα, το ύψος της υδάτινης στήλης, την αλατότητα, την ταυτόχρονη παρουσία ποικίλων ρύπων και το ρυθμό έκκρισης των ρύπων από τα διάφορα όργανα.

Στα θαλάσσια μαλάκια τα σημεία όπου συσσωρεύονται πολλά διαφορετικά μέταλλα είναι οι ιστοί. Μάλιστα, για τα περισσότερα μέταλλα οι κύριες θέσεις συσσώρευσης και αποτοξικοποίησης είναι οι ιστοί: πεπτικός αδένας, βράγχια και νεφρίδια. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται η διατήρηση χαμηλών τιμών ρύπων στους υπόλοιπους ιστούς του οργανισμού. Τα κύτταρα για να αντιμετωπίσουν τις τοξικές επιπτώσεις των μετάλλων έχουν αναπτύξει διάφορους προστατευτικούς μηχανισμούς, όπως η συσσώρευσή τους σε μη τοξικές μορφές. Αυτό γίνεται είτε με τη σύνδεσή τους με οργανικές χειλικές ενώσεις είτε με σχηματισμό συμπλόκων με ανόργανα υλικά σε μορφή ιζημάτων.





Η Besada και οι συνεργάτες της από το Ισπανικό Ινστιτούτο Ωκεανογραφίας, το 2010 δημοσίευσαν τη μελέτη τους, η οποία ήταν σχετική με την παρακολούθηση βαρέων μετάλλων σε άγρια μύδια από τη Βόρεια ακτή του Ατλαντικού της Ισπανίας.

Οι συγκεντρώσεις λοιπόν των 5 βαρέων μετάλλων Hg, Cd, Pb, Cu και Zn προσδιορίστηκαν σε ιστούς άγριων μυδιών (*Mytilus galloprovincialis*), που συλλέχθηκαν από 41 σταθμούς της Βόρειας ακτής της Ισπανίας στον Ατλαντικό Ωκεανό, για να εκτιμηθούν τα επίπεδα και η κατανομή των βαρέων μετάλλων στο θαλάσσιο περιβάλλον.

Αυτή η μελέτη, που πραγματοποιήθηκε το 2005, συνέβαλε στην έρευνα για τη διεθνή ρύπανση OSPAR. Δημιουργήθηκε μια δεξαμενή μυδιού χρησιμοποιώντας 50 ή περισσότερα άτομα, η οποία αντιπροσωπεύει το εύρος στα σημεία της δειγματοληψίας.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός διεξήχθη μετά από επίδραση νιτρικού οξέος και χρησιμοποιώντας τη φασματομετρική μέθοδο ατομικής απορρόφησης, AAS (προσδιορισμός Cd (καδμίου) και Pb (μολύβδου) χρησιμοποιώντας την ηλεκτροθερμική ατομική απορρόφηση, Cu και Zn με τη φλογοφασματομετρία ατομικής απορρόφησης και του συνολικού Hg χρησιμοποιώντας την τεχνική του ψυχρού ατμού.) Η ποιότητα των χημικών αναλύσεων αξιολογήθηκε με διεργαστηριακές ασκήσεις που πραγματοποιούνται σε τακτά χρονικά διαστήματα.

Σε γενικές γραμμές τα επίπεδα των μετάλλων ήταν υψηλότερα στις βόρειες ακτές της Ισπανίας (στον Ατλαντικό) από ότι για τον Ατλαντικό- εκτός από ένα σημείο δειγματοληψίας κοντά στο Vigo μια από τις κύριες βιομηχανικές περιοχές της Γαλικίας.

Κάποια σημεία δειγματοληψίας της Γαλικίας, που βρίσκονται μακριά από ανθρώπινες εισροές, εμφάνισαν υψηλές συγκεντρώσεις Cd. Αυτό αποδόθηκε στις ετήσιες διαδικασίες ανάβλυσής της περιοχής. Οι συγκεντρώσεις του Cu αυξήθηκαν από τα Βορειοδυτικά προς τα Ανατολικά ενώ οι συγκεντρώσεις του Zn παρουσίασαν ομοιογένεια κατά τη διάρκεια της μελέτης των δύο γεωγραφικών περιοχών. Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν χρησιμοποιώντας πολλαπλές μελέτες και διεθνή κριτήρια αξιολόγησης για συγκεντρώσεις. (Besada et.al.2010)



Επίσης η Besada και οι συνεργάτες της από το Ισπανικό Ινστιτούτο Ωκεανογραφίας, το 2007 δημοσίευσαν μια Στατιστική σύγκριση από συγκεντρώσεις μεταλλικών ιχνοστοιχείων σε Άγρια Μύδια σε επιλεγμένες περιοχές της Γαλικίας και του Κόλπου Biscay της Ισπανίας.

Στη μελέτη αυτή παρακολουθούνται οι συγκεντρώσεις πέντε ιχνοστοιχείων Cd, Hg, Pb, Cu και Zn, από το 2000-2004 σε άγρια μύδια *Mytilus galloprovincialis* στις περιοχές της Γαλικίας (Β.Δ. της Ιβηρικής χερσονήσου) και του κόλπου Biscay. Δημιουργήθηκε μια δεξαμενή μυδιών μαλακών ιστών, χρησιμοποιώντας 50 ή περισσότερα άτομα, που εκπροσωπούν το διαθέσιμο εύρος μεγέθους 35-60mm, που παρουσιάζεται στα σημεία δειγματοληψίας (Coruna, Pontevedra και Vigo-Galicia, ΒΔ της Ισπανίας και Aviles, Μπιλμπάο και Σαντατερ στον Κόλπο της Βισκαγιά). Τα μέταλλα αναλύθηκαν με ατομική απορρόφηση φασματομετρίας, AAS (φλόγα: Cu και Zn, φούρνο γραφίτη, AAS: Cd και Pb, ροή έγχυσης ψυχρού ατμού AAS: συνολική Hg). Διεξήχθησαν μονομεταβλητές στατιστικές μελέτες, ανάλυση της διακύμανσης (Anova) και ανάλυση σε Κύριες Συνιστώσες (autoscaled data, Varimax rotation). Σε γενικές γραμμές, τα δείγματα του κόλπου έδειξαν υψηλότερες συγκεντρώσεις μετάλλων κυρίως κοντά στο Aviles, όπου τα εργοστάσια σιδήρου και χάλυβα ρίχνουν υπολείμματα για χρόνια σε μια κοντινή παράκτια περιοχή. (Besada et.al.2007)

## **B) Συσσώρευση Οργανικών Ρύπων**

Οι περισσότεροι οργανικοί ρύποι είναι λιπόφιλες ενώσεις και παρουσιάζουν υψηλό ρυθμό συσσώρευσης στους ιστούς των ζωντανών οργανισμών. Εμφανίστηκαν στο φυσικό περιβάλλον, λόγω της βιομηχανικής ανάπτυξης, κατά τις τελευταίες μόνο δεκαετίες. Το μικρό διάστημα παρουσίας τους στη φύση δεν επέτρεψε να αναπτυχθούν ειδικοί προστατευτικοί μηχανισμοί για την εξουδετέρωση των τοξικών αποτελεσμάτων τους. Οι παράγοντες που αυξάνουν την τοξικότητα των οργανικών ρύπων στους οργανισμούς είναι: η αδυναμία βιοδιάσπασης και απομάκρυνσής τους από τους ιστούς και η μικρή υδατοδιαλυτότητά τους.



Τα άτομα του είδους *M. galloprovincialis* παρουσιάζουν αυξημένη δυνατότητα συσσώρευσης οργανικών ρύπων στους ιστούς τους με συνέπεια να αποτελούν αντικείμενο πολλών περιβαλλοντικών μελετών.

Μέσω του προγράμματος παρακολούθησης μυδιών (Mussel Watch) που εφαρμόστηκε το 2001-2007, ο Hee Gu Choi και οι συνεργάτες του, εκτιμήσανε το επίπεδο και την έκταση των οργανικών ρύπων κατά μήκος των ακτών της Κορέας.

Το 2001 συλλέχθηκαν, μύδια και στρείδια από 20 τοποθεσίες κατά μήκος των Κορεάτικων ακτών, ενώ στο διάστημα 2002 έως 2007 από 25 τοποθεσίες.

Οι ιστοί των μυδιών αναλύθηκαν για τα PCBs, οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα, PAHs, BTs και PCDD/Fs. Οι ρύποι PCBs, PAHs, BTs και PCDD/Fs υπήρχαν σε όλο το μήκος των ακτών της Κορέας με συχνότητα μεγαλύτερη του 95% πάνω από 7 χρόνια. Μέσα στα μύδια-κατά μήκος των Κορεάτικων ακτών- οι συγκεντρώσεις των οργανικών ρύπων ήταν σχετικά χαμηλή ή μέτρια σε σύγκριση με άλλες μελέτες.

Οι συγκεντρώσεις των PCBs, DDTs και PCDD/Fs ήταν κάτω από τα επίπεδα δράσης ή το ανώτατο όριο για τον άνθρωπο, που θεσπίστηκε από USFDA και την Ευρωπαϊκή Ένωση. Οι συγκεντρώσεις ήταν αυξημένες:

- για τα PCBs, PAHs, BTs και PCDD/Fs σε περιοχές κοντά σε βιομηχανικά συγκροτήματα και μεγάλα λιμάνια,
- για HCHs σε περιοχές κοντά σε μη βιομηχανικά συγκροτήματα και
- για DDTs κοντά σε δύο μη βιομηχανικές.

Επίσης, χρησιμοποιώντας δυο μη παραμετρικές δοκιμασίες, η δοκιμασία Spearman αποκάλυψε ότι οι BTs και PCDD/Fs είχαν σημαντική μείωση σε 4 θέσεις (Gwang yang Bay, Cheonsu Bay, Garogym Bay και ακτές Incheon) και σε 6 θέσεις (Hupo ακτή, Guryongro ακτή, Ανατολικό μέρος Geojeodo, Gunsan ακτή, Garogym Κόλπος, Asan Κόλπος). (Hee Gu Choi et.al.2009)



## 6.3.4. Γενετική και μοριακή σκοπιά του stress.

Η απόκριση των μαλακίων σε διάφορους χημικούς παράγοντες (βαρέα μέταλλα, ραδιενεργά απόβλητα κ.α.) και στο θερμικό πλήγμα αποτέλεσε αντικείμενο πολλών μελετών (Ανέστης et al.2006).

Στο 29<sup>ο</sup> Επιστημονικό συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών που διεξήχθη στην Καβάλα το Μάιο του 2007, ο Ανέστης και οι συνεργάτες του από το Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης του Τμήματος Βιολογίας και εργαστηρίου Φυσιολογίας Ζώων παρουσίασαν την επίδραση της θερμοκρασίας στην ενεργειακή κατάσταση και δραστικότητα των γλυκολυτικών ενζύμων στο θαλάσσιο δίθυρο *Mytilus galloprovincialis*.

Στα πλαίσια της αύξησης της παγκόσμιας θερμοκρασίας οργανισμοί, όπως τα δίθυρα, θα αντιμετωπίσουν πρώτοι τις συνέπειες από τις ακραίες συνθήκες. Η ετήσια θερμοκρασία της θάλασσας στην περιοχή του Θερμαϊκού Κόλπου, όπου καλλιεργούνται μύδια του είδους *Mytilus galloprovincialis*, κυμαίνεται μεταξύ των 9 και 26 °C. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση του θερμικού στρες στις φυσιολογικές και βιοχημικές αποκρίσεις των μυδιών καθώς και οι περιορισμοί που το στρες επιφέρει σε αυτά, μέσω του προσδιορισμού της Ενδογενούς Επιδίωξης για Αύξηση (Scope For Growth, SFG), η οποία υποδηλώνει το κέρδος ενέργειας από την προσβαλλόμενη τροφή.

Επίσης, προσδιορίστηκε η δραστικότητα των γλυκολυτικών ενζύμων εξοκινάση (HK), φωσφο-φρουκτοκινάση (PFK), αλδολάση (Ald), κινάση του φωσφογλυκερινικού οξέος (PGK), πυροσταφυλική κινάση (PK) και καρβοξυκινάση του φωσφοενολοπυροσταφυλικού οξέος (PEPCK). Μύδια, που είχαν εγκλιματιστεί για 2 εβδομάδες στους 18 °C, μεταφέρθηκαν σε 5 ενυδρεία. Η θερμοκρασία του νερού ρυθμίστηκε στους 20 °C, 24 °C, 26 °C και 28 °C και τα ζώα εγκλιματίστηκαν στις νέες θερμοκρασίες για 30 ημέρες. Άτομα απομακρύνονταν κάθε 5 ημέρες από τα ενυδρεία και γίνονταν προσδιορισμός του SFG και της δραστικότητας των ενζύμων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά τους, η αύξηση της θερμοκρασίας εγκλιματισμού οδηγεί σε μετάπτωση του SFG σε αρνητική τιμή υποδεικνύοντας μια σημαντική απώλεια



της ικανότητας των μυδιών να κερδίζουν ενέργεια από την τροφή τους, γεγονός που συμβαδίζει με την υψηλή θνησιμότητα που καταγράφηκε στις υψηλότερες θερμοκρασίες. Με εξαίρεση την PERCK και την PK, οι δραστηρότητες των υπόλοιπων ενζύμων αυξήθηκαν σημαντικά ως απόκριση στις υψηλές θερμοκρασίες, ιδιαίτερα μετά τους 24 °C. Επιπλέον, η μείωση του λόγου PK/PERCK φανερώνει μια μετάπτωση από τον αερόβιο στον αναερόβιο τύπο μεταβολισμού. Ωστόσο, τα στοιχεία από τις δραστηρότητες των ενζύμων φανερώνουν μια επανενεργοποίηση του μεταβολισμού στους ιστούς των μυδιών μετά από παρατεταμένο εγκλιματισμό στους 26 °C και 28 °C. Αυτή η επανενεργοποίηση ενδεχομένως υποστηρίζει ενεργειακά την έκφραση των Hsp κατά το θερμικό στρες.

Οι πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος προστατεύουν τα κύτταρα από τις πιθανές επιβλαβείς συνέπειες παραγόντων στρες. Η επαγωγή αυτών των πρωτεϊνών μπορεί να προκληθεί από την αύξηση της θερμοκρασίας, το ψυχρό πλήγμα, την υποξεία, την αλατότητα, τα ιόντα βαρέων μετάλλων, οργανικές ουσίες, ιώσεις, μικροβιακές μολύνσεις, δηλητηριάσεις, καρκίνο και αναπτυξιακούς παράγοντες.

Στο 28<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών που διεξήχθη στα Ιωάννινα το Μάιο του 2006, ο Ανέστης και οι συνεργάτες του από το Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης του Τμήματος Βιολογίας και εργαστηρίου Φυσιολογίας Ζώων παρουσίασαν τη μελέτη τους σχετικά με τον προσδιορισμό των ανωτέρων ορίων ανοχής στη Θερμοκρασία στο θαλάσσιο δίδυρο *Mytilus galloprovincialis*. Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος επηρεάζει λειτουργίες σε κάθε επίπεδο βιολογικής οργάνωσης, όπως: τη γονιδιακή έκφραση, τον τύπο του μεταβολισμού και ακόμα την ηθολογία και τη γεωγραφική κατανομή των οργανισμών. Μία από τις κύριες αποκρίσεις των κυττάρων σε υψηλές θερμοκρασίες είναι η επιλεκτική ενίσχυση της έκφρασης των πρωτεϊνών θερμικού πλήγματος (heat shock proteins, hsp). Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο προσδιορισμός των ανώτερων ορίων ανοχής στη θερμοκρασία, πέρα από τα οποία επηρεάζεται αρνητικά η ικανότητα αερόβιας οξείδωσης του *Mytilus galloprovincialis*. Άτομα του είδους *M. galloprovincialis* εγκλιματίστηκαν σε



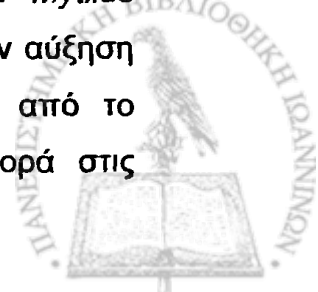
ενυδρεία με θαλασσινό νερό, όπου η θερμοκρασία είχε ρυθμιστεί στους 20° C, 24°C, 26°C, 28°C και 30°C αντίστοιχα για 30 ημέρες. Κάθε 5 ημέρες γινόταν λήψη των ιστών για τον προσδιορισμό της έκφρασης των hsps 70 και 90 kDa, της ενεργοποίησης των p38 MAPK και JNKs και της μέγιστης δραστηριότητας των γλυκολυτικών ενζύμων κινάση του πυροσταφυλικού οξέος, αλδολάση και εξοκινάση σύμφωνα με γνωστές μεθόδους. Τα αποτελέσματα δείχνουν μια διαφοροποίηση στην έκφραση των hsps και στην ικανότητα της αερόβιας παραγωγής του ATP σε σχέση με την θερμοκρασία εγκλιματισμού.

Συγκεκριμένα, οι hsps εκφράζονται ισχυρά μετά τους 26°C, ενώ η μείωση της αερόβιας οξειδωσης και η έναρξη της αναερόβιας παραγωγής ATP αρχίζει ήδη μετά τους 22°C. Η έκφραση των hsps σχετίζεται με σηματοδοτικά μονοπάτια, στα οποία μπορεί να εμπλέκονται κινάσες της υπέρ-οικογένειας των MAP κινασών. Φαίνεται ότι οι ανώτερες θερμοκρασίες, μετά τις οποίες παρατηρούνται σημαντικές μεταβολές στην φυσιολογία των θαλάσσιων δίθυρων, μπορούν να προσδιορισθούν όχι μόνο από την έκφραση των hsps, αλλά και από τις μεταβολές στο πρότυπο του μεταβολισμού. (Ανέστης et.al. 2006)

Σε μοριακό επίπεδο έχουν περιγραφεί μέλη της οικογένειας γονιδίων HSP70 για αρκετά μαλάκια. (Μιχαηλίδης 2007)

Ο Μιχαηλίδης Β. , Αναπληρωτής καθηγητής στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης της Σχολής Θετικών Επιστημών του Τμήματος Βιολογίας του εργαστηρίου Φυσιολογίας Ζώων, παρουσίασε τη μελέτη του στο 29<sup>ο</sup> Επιστημονικό συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών που διεξήχθη στην Καβάλα το Μάιο του 2007.

Η μελέτη του ήταν σχετική με τις βιοχημικές και μεταβολικές αποκρίσεις των ψαριών και των διθύρων σε ένα θερμότερο περιβάλλον. Σύμφωνα με αυτή λοιπόν, ο προσδιορισμός των θερμικών ορίων των θαλάσσιων οργανισμών καθίσταται σημαντικός στα πλαίσια μιας γεωγραφικής ανακατανομής των ειδών, λόγω της υπερθέρμανσης του Πλανήτη. Σκοπός των πρόσφατων εργασιών είναι ο προσδιορισμός των αποκρίσεων των διθύρων *Mytilus galloprovincialis* και *Modiolus barbatus*, καθώς και των ψαριών στην αύξηση της θερμοκρασίας σε διάφορα επίπεδα κυτταρικής οργάνωσης από το μοριακό επίπεδο έως τη συμπεριφορά των ατόμων. Όσον αφορά στις



αντιδράσεις συμπεριφοράς των μυδιών μελετήθηκε η διάρκεια ανοίγματος και κλεισίματος κελυφών. Επιδράσεις στο μεταβολισμό των διθύρων και ψαριών προσδιορίστηκαν μετρώντας τις δραστηρότητες των γλυκο-λυτικών ενζύμων. Αντιδράσεις σε κυτταρικό επίπεδο προσδιορίστηκαν μελετώντας την έκφραση των πρωτεϊνών του θερμικού πλήγματος (Hsps). Αύξηση της θερμοκρασίας από τους 17 °C –24 °C προκαλεί παράταση του χρόνου κλεισίματος των κελυφών στο δίθυρο *Mytilus galloprovincialis*. Παράλληλα με τη συμπεριφορά αυτή παρατηρείται μείωση της δραστηρότητας της P K. Εγκλιματισμός σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 26 °C προκάλεσαν σημαντικές αυξήσεις στο ποσοστό θνησιμότητας των μυδιών και παράλληλα έκφραση των Hsp 70. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η κρίσιμη θερμοκρασία για το δίθυρο *Mytilus galloprovincialis* είναι ( $T_c > 26^\circ\text{C}$ ) μεγαλύτερη από ότι για το δίθυρο *Modiolus barbatus* ( $T_c > 22^\circ\text{C}$ ), το οποίο ζει στην υπο-παραλιακή ζώνη. Μελέτες του πρότυπου μεταβολισμού και του παράγοντα SFG έδειξαν ότι θερμοκρασίες μικρότερες των  $T_c$  μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά διάφορες φυσιολογικές διαδικασίες συμπεριλαμβανομένης αυτής της αύξησης των ατόμων. Στα ψάρια η  $T_c$  προσδιορίστηκε πάνω από τους 26 °C, όπως έχουν δείξει τα αποτελέσματα από την έκφραση των Hsp 70 και 90. Επίσης, εγκλιματισμός σε θερμοκρασίες υψηλότερες από τους 26 °C προκαλεί ενεργοποίηση του αναερόβιου μεταβολισμού σύμφωνα με την αύξηση της δραστηρότητας της L-LDH. Λαμβάνοντας υπόψη τις μεταβολές στη συμπεριφορά των οργανισμών και τις αποκρίσεις τους σε κυτταρικό επίπεδο, συμπεραίνουμε ότι εγκλιματισμός των οργανισμών ακόμη και σε θερμοκρασίες μικρότερων των  $T_c$  μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές αλλαγές στη βιολογία τους και σημαντική μείωση των πληθυσμών.

Για το είδος *M. galloprovincialis*, έχουν απομονωθεί τόσο θερμοεπαγόμενα όσο και συστατικά εκφραζόμενα γονίδια. Έχει προταθεί ότι οι πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιομάρτυρες, εκφράζοντας το βαθμό του κυτταρικού στρες των θαλάσσιων οργανισμών, ακόμα και να παρέχουν πληροφορίες για τη φύση του παράγοντα στρες.



Ο Πυθαρόπουλος Σ. και οι συνεργάτες του από το Πανεπιστήμιο Πατρών Τμήματος Ιατρικής του Εργαστηρίου Βιολογικής Χημείας στο 29<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών στην Καβάλα το 2007, παρουσίασαν τις Μεταφραστικές Αποκρίσεις των Μυδιών σε Ρύπανση του Θαλάσσιου Ύδατος. Η μελέτη αυτή επιχορηγήθηκε (MEL 2322-2918-2664BL2202MED POL) στα πλαίσια του προγράμματος UNEP/MAP.

Σύμφωνα με αυτή λοιπόν, η ολική μετάφραση ελαττώνεται ως ανταπόκριση σε διάφορα είδη κυτταρικού stress, αφενός για εξοικονόμηση ενέργειας και αφετέρου για αποφυγή σύνθεσης ανεπιθύμητων πρωτεϊνών. Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι οργανισμοί μειώνουν την πρωτεϊνική σύνθεση, αποθηκεύοντας τα ριβοσώματα σε ανενεργή μορφή. Έτσι, ένας αποτελεσματικός τρόπος βιοπαρακολούθησης της ρύπανσης μπορεί να είναι η μέτρηση των πολυσωμάτων, που αποτελούν δείκτη της μεταφραστικής ικανότητας των κυτάρων. Για να ελεγχθεί αυτή η υπόθεση τοποθετήθηκαν μύδια του είδους *Mytilus galloprovincialis* σε πλαστικά δίκτυα και καταποντίστηκαν σε βάθος 3 έως 10m σε μια καθαρή περιοχή -περιοχή αναφοράς-στο Γαλαξίδι και σε δυο σταθμούς βιοπαρακολούθησης στον Πατραϊκό Κόλπο, το χειμώνα, την άνοιξη και το φθινόπωρο του 2006. Μετά από έκθεση ενός μηνός, πρότυποι βιοδείκτες μετρήθηκαν σε κύτταρα του πεπτικού αδένος και των βραγχίων των μυδιών. Επίσης, μετρήθηκαν βαρέα μέταλλα στο περιβάλλον του θαλάσσιου ύδατος και σε ιστούς μυδιών, καθώς και το ποσοστό των πολυσωμάτων και η ικανότητα των ριβοσωμάτων για έναρξη της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Παράγοντες που επηρεάζουν τις μετρήσεις, όπως: η ηλικία, η ανάπτυξη και ο αναπαραγωγικός κύκλος ελήφθησαν υπόψη. Τα αποτελέσματά τους υποστηρίζουν την άποψη ότι η μείωση της ολικής πρωτεϊνικής σύνθεσης αποτελεί σπουδαίο συστατικό της ανταπόκρισης των κυτάρων έναντι του περιβαλλοντικού stress και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε προγράμματα βιοπαρακολούθησης. Επίσης, προηγούμενες παρατηρήσεις τους επιβεβαιώνουν ότι ο βαθμός ρύπανσης του Πατραϊκού Κόλπου ποικίλλει από θέση σε θέση και εξαρτάται από τις επιδράσεις αγροτικών, αστικών και βιομηχανικών πηγών ρύπανσης. Ωστόσο, σύγκριση των παρόντων με δεδομένα της τελευταίας 5ετίας εισηγείται ότι η ρύπανση του Πατραϊκού Κόλπου υποχωρεί προοδευτικά, όπως δείχνει η μείωση της βιοσυσσώρευσης





ρύπαντών στους ιστούς των μυδιών και η εξασθένηση των βιοαποκρίσεων. (Πυθαρόπουλος Σ. et.al. 2007)

### 6.4. ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΜΕ ΜΥΔΙΑ ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟ.

Τα δίθυρα μαλάκια χρησιμοποιούνται ευρέως ως βιοενδείκτες της θαλάσσιας ρύπανσης.

Τα τελευταία χρόνια εντάθηκε η χρήση μυδιών ως βιοενδείκτες σε σημαντικά προγράμματα παρακολούθησης της θαλάσσιας ρύπανσης. Υπάρχουν καθιερωμένα πειράματα και στη διεθνή βιβλιογραφία βρίσκονται πολυάριθμα αποτελέσματα χρήσης μυδιών, προκειμένου να μελετηθούν βιοδείκτες έκθεσης σε τοξικές ενώσεις (μέταλλα, πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες-ΠΑΥ, PCBs, κλπ), τα οποία εστιάζουν στις τοξικές επιδράσεις στο *Mytilus galloprovincialis*. Το *Mytilus galloprovincialis* είναι ένα συνηθισμένο και χαρακτηριστικό είδος μυδιού στη Μεσόγειο. ([www.technologiein.pathfinder.gr/mussels-polution](http://www.technologiein.pathfinder.gr/mussels-polution))

Στις χώρες της Μεσογείου το 2002 ξεκίνησε το πρόγραμμα MUSSEL WATCH που χρησιμοποιεί μύδια. Το MUSSEL WATCH αρχικά μετρούσε μόνο συγκεντρώσεις ραδιενεργών στοιχείων, όπως το Καίσιο 137 ( $^{137}\text{Cs}$ ), όμως τα τελευταία χρόνια διευρύνθηκε και πλέον περιλαμβάνει τη συλλογή δεδομένων για διάφορους ρύπους.

#### 6.4.1. Προγράμματα στην Ελλάδα: Σαρωνικός, Θερμαϊκός και Στρυμονικός Κόλπος

Στην Ελλάδα η θαλάσσια ρύπανση αποτελεί εδώ και πολλά χρόνια ένα από τα σημαντικότερα περιβαλλοντικά προβλήματα. Στους κόλπους Σαρωνικό, Θερμαϊκό και Στρυμονικό έχουν γίνει διάφορες μελέτες για βαρέα μέταλλα και διάφορους ρύπους. ([www.library.tee.gr](http://www.library.tee.gr))

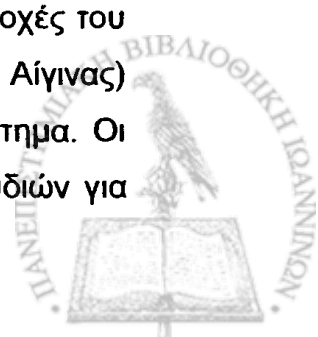


## Α) Σαρωνικός Κόλπος

Ο Σαρωνικός κόλπος αποτελεί ανέκαθεν περιβαλλοντικό πρόβλημα της Ελλάδας, λόγω της υπέρμετρης και άναρχης ανάπτυξης του Πειραιά και της Αθήνας, σε συνδυασμό με την απουσία κατάλληλων υποδομών. Στον κόλπο της Ελευσίνας (που είναι τμήμα του Σαρωνικού) λειτουργούσαν από παλιά διυλιστήρια πετρελαίου, ναυπηγεία, χυτήρια, βιομηχανίες τσιμέντου κλπ. Έτσι τα αστικά και βιομηχανικά απόβλητα της Αττικής επιβάρυναν σημαντικά το θαλάσσιο περιβάλλον. Το ίδιο έκαναν η διακίνηση των πλοίων, οι εργασίες επιχωμάτωσης, η ατμοσφαιρική ρύπανση και το ρεύμα του Αγ. Γεωργίου, που μετέφερε υγρά απόβλητα βυρσοδεψείων, βιομηχανιών χάρτου και στραγγίσματα του χώρου ταφής απορριμμάτων των Άνω Λιοσίων, με μοιραίες συνέπειες στο περιβάλλον.

Όλα αυτά τα χρόνια, το Εθνικό Κέντρο Θαλάσσιων Ερευνών διενεργούσε συστηματικές έρευνες και δειγματοληψίες σε 16 διαφορετικά σημεία στην περιοχή για βαρέα μέταλλα και άλλους ρύπους και υπογράμμιζε στις εκθέσεις του προς τους αρμόδιους την τραγική κατάσταση του Κόλπου και τον κίνδυνο να νεκρωθεί από ζωή. Χρειάστηκε να ξεκινήσει η λειτουργία του Κέντρου Επεξεργασίας Λυμάτων της Ψυτάλλειας, το 1994, για να αρχίσει να «αναπνέει» και πάλι ο Σαρωνικός, με τον περιορισμό του ρυπαντικού φορτίου και τη βελτίωση της διαφάνειας των νερών. Από το 2005 και μετά, όταν λειτούργησε πια και ο βιολογικός καθαρισμός, τα λύματα είναι εντελώς καθαρά, με αποτέλεσμα να κάνουν πάλι την εμφάνισή τους ψάρια στα δίκτυα των ψαράδων.

Παράλληλα με τις συνήθεις εργαστηριακές αναλύσεις, στο Σαρωνικό είχαν χρησιμοποιηθεί από παλιά (την περίοδο 1993-97) μύδια της ποικιλίας *Mytilus gallorprovincialis* για τον έλεγχο της συγκέντρωσης οργανοχλωριωμένων ενώσεων, αναδεικνύοντας το πρόβλημα. Ανάλογες μελέτες με μύδια έγιναν και τα τελευταία χρόνια, στο Εργαστήριο Χημείας Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου της Αθήνας, με αντικείμενο τη ρύπανση σε τρεις περιοχές του Σαρωνικού (ιδιαίτερα στον Κόλπο της Ελευσίνας και στα ανοικτά της Αίγινας) και την αποτίμηση των αντιοξειδωτικών δεικτών στο βιολογικό σύστημα. Οι έλεγχοι, που έγιναν πρόσφατα, στο μανδύα και τα βράγχια των μυδιών για



συγκεντρώσεις τοξικών μετάλλων (όπως κάδμιο, χαλκός, μόλυβδος, σίδηρος κ.λπ) και πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων απέδειξαν τόσο τη βελτίωση της κατάστασης στον Κόλπο όσο και την εγκυρότητα της μεθόδου ελέγχου. Επιβεβαιώθηκε ότι η εκτίμηση των επιπέδων ρύπανσης μπορεί να γίνει με ικανοποιητική προσέγγιση, σε σύγκριση με έρευνες σε «καθαρές» περιοχές. (Vlahogianni T. Et.al. 2007)

Βέβαια, τέτοιου είδους πειράματα μπορούν να διεξαχθούν σε διάφορες θάλασσες και κόλπους είτε υπάρχουν εκεί αυτόχθονα μύδια είτε όχι. Τα αυτόχθονα μύδια μπορούν να συλλεχθούν κατά εποχές και να μεταφερθούν στο εργαστήριο για περαιτέρω μελέτες και αναλύσεις, ενώ τα μη αυτόχθονα μπορούν να συγκεντρωθούν από μυδοκαλλιέργειες και να βυθισθούν στην εξεταζόμενη περιοχή για 2-3 εβδομάδες και στη συνέχεια να γίνουν αναλύσεις. Η δεύτερη μέθοδος χρησιμοποιείται τα τελευταία χρόνια για τη μελέτη της ρύπανσης στον κόλπο της Βενετίας.

## Β) Θερμαϊκός κόλπος

Ο Θερμαϊκός κόλπος, που βρίσκεται στο βορειοδυτικό άκρο του Αιγαίου πελάγους, αποτελεί ένα σύνθετο και ενδιαφέρον οικοσύστημα. Είναι σχετικά ρηχός κόλπος και το μέσο βάθος του δεν ξεπερνά τα 50 m .

Αποτελεί τελικό αποδέκτη πολλών ρύπων μια και εδώ καταλήγουν τα αστικά λύματα της Θεσσαλονίκης (πάνω από 1.200.000 κατοίκους), τα οποία μάλιστα μέχρι πρόσφατα ελευθερώνονταν στο εσωτερικό τμήμα του κόλπου, χωρίς να υποστούν κάποια προηγούμενη επεξεργασία. Επιπλέον, τα βιομηχανικά απόβλητα και η λειτουργία του λιμανιού της Θεσσαλονίκης επιβαρύνουν περισσότερο την κατάσταση των νερών του Θερμαϊκού. Ο κόλπος αυτός είναι αποδέκτης των νερών του Αξιού, του Λουδία και του Αλιάκμονα. Ο Αξιός επιβαρύνεται με αστικά λύματα και βιομηχανικά απόβλητα, που καταλήγουν ανεπεξέργαστα στον ποταμό. Επίσης, σε όλο σχεδόν το μήκος του, η απόπλυση των γεωργικών εκτάσεων έχει ως αποτέλεσμα τα λιπάσματα και τα φυτοφάρμακα να υποβαθμίζουν την ποιότητα του νερού του. Ο Λουδίας εμφανίζει αυξημένες συγκεντρώσεις ρύπων και ο Αλιάκμονας παρουσιάζει χαμηλή ποιότητα υδάτων.

Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, ανιχνεύθηκαν αυξημένες τιμές βαρέων μετάλλων σε ιζήματα από το Θερμαϊκό κόλπο, κυρίως στη βιομηχανική περιοχή, στο λιμάνι της Θεσσαλονίκης και στην έξοδο του αγωγού των αστικών λυμάτων. Οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων σε ιστούς μυδιών, που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές του Θερμαϊκού κόλπου, είναι αρκετά αυξημένες σε περιοχές της δυτικής πλευράς, κοντά στη βιομηχανική ζώνη της Θεσσαλονίκης, στην περιοχή του λιμανιού, καθώς και στις περιοχές που εκβάλλουν οι μεγάλοι ποταμοί της περιοχής. Αντίθετα με τα μέταλλα, υψηλότερες τιμές πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) και οργανοχλωριωμένων παραγώγων εντοπίστηκαν στο ανατολικό τμήμα του Θερμαϊκού κόλπου (περιοχή Περαιάς).



Το 2005, η Βασιλική-Αγγελική Κατσίκη και η Η. Φλώρου, από το Ελληνικό Κέντρο Θαλάσσιων Ερευνών (ΕΛΚΕΘΕ) και από το Εθνικό Κέντρο Επιστημονικών Φυσικών Ερευνών Δημόκριτος αντίστοιχα, δημοσίευσαν τη μελέτη τους σχετικά με το Θερμαϊκό Κόλπο. (Κατσίκη et.al.2005)

Τα μύδια λοιπόν, είναι παγκοσμίως αναγνωρισμένα ως βιοδείκτες τοξικότητας και χρησιμοποιούνται σε προγράμματα Mussel Watch καθότι στους ιστούς τους συσσωρεύονται ρύποι σε αυξημένα επίπεδα, σε σχέση πάντα με τη βιολογική διαθεσιμότητα των ρύπων στο θαλάσσιο περιβάλλον.

Η παρούσα μελέτη χρησιμοποιεί το μύδι *Mytilus galloprovincialis* ως τοπικό βιοδείκτη για την παρακολούθηση της επίδρασης των βαρέων μετάλλων και του  $^{137}\text{Cs}$ , σε ένα οικοσύστημα του Θερμαϊκού κόλπου όπου εκβάλλουν πολλοί ποταμοί (Ελλάδα- Ανατολική Μεσόγειος). Δείγματα *Mytilus galloprovincialis* συλλέχθηκαν σε μηνιαία βάση από δυο μονάδες υδατοκαλλιέργειας κατά τη διάρκεια της περιόδου μεταξύ Απριλίου και Οκτωβρίου 2000.

Οι αναλύσεις για τα βαρέα μέταλλα Cu, Cr, Ni, Zn, Fe, Mn και  $^{137}\text{Cs}$  έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν ήταν χαμηλές και παρόμοιες με αυτές που βρέθηκαν σε άλλες μη μολυσμένες περιοχές της Μεσογείου. Επίσης, δεν υπήρχαν στατιστικές σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους δύο σταθμούς δειγματοληψίας. Αντίθετα, τα επίπεδα συγκεντρώσεων των βαρέων μετάλλων και του  $^{137}\text{Cs}$  παρουσίασαν μεγάλη διακύμανση ανάλογα με τις εποχές του έτους. Κατά τη διάρκεια της ψυχρής περιόδου αυξήθηκαν οι συγκεντρώσεις τους ειδικά για Cu, Zn, Mn και Cr, που είναι απαραίτητα για τη ζωή. Επίσης, τα μέταλλα που συμμετέχουν περισσότερο σε βιοχημικές διεργασίες, φαίνεται να παρουσιάζουν περισσότερες συσχετίσεις από άλλα που έχουν λιγότερη σημασία για το μεταβολισμό των οργανισμών.



## Γ) Στρυμονικός κόλπος

Ο Στρυμονικός κόλπος εκτείνεται μεταξύ της χερσονήσου της Χαλκιδικής και της χερσονήσου που σχηματίζει το όρος Παγγαίο καθώς καταλήγει στο Αιγαίο Πέλαγος. Τα ισοβαθή του Στρυμονικού κόλπου αυξάνονται απότομα καθώς απομακρυνόμαστε από την ακτή, φθάνοντας τα 40 m σε απόσταση 2 km από την ακτή, μέχρι ένα μέγιστο βάθος 90 m στο σχετικά επίπεδο κεντρικό τμήμα του κόλπου. Ο ποταμός Στρυμόνας, που πηγάζει από τη Βουλγαρία και ο μικρότερος ποταμός Ρήχιος, στα δυτικά, αποτελούν τις κύριες πηγές γλυκού νερού, θρεπτικών ουσιών και ρύπων (οικιακής και γεωργικής προέλευσης) του Στρυμονικού κόλπου.

Ο κόλπος αυτός αποτελεί μια από τις πιο σημαντικές περιοχές για τον πολλαπλασιασμό και την αλιεία πελαγικών ειδών στο Βόρειο Αιγαίο. Κατά το παρελθόν στην περιοχή δεν ανιχνεύονταν υψηλά επίπεδα ρύπων. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια ο κόλπος δέχεται την επίδραση αυξημένης ποσότητας λιπασμάτων και εντομοκτόνων από τις καλλιέργειες γειτονικών εκτάσεων, συγκεντρώνει λύματα από τους γύρω οικισμούς και βιομηχανικά απόβλητα από τις χημικές βιομηχανίες που αναπτύσσονται στην περιοχή.

Παρόλα αυτά, συγκριτικές μελέτες στο νερό, στα ιζήματα και στους ιστούς μυδιών καταδεικνύουν χαμηλότερα επίπεδα ρύπανσης στο Στρυμονικό, σε σχέση με το Θερμαϊκό κόλπο (ΔΕΠΠΠΕΘ 2004).

Η θαλάσσια περιοχή του Θερμαϊκού κόλπου αποτελεί ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη φυσικών πληθυσμών μυδιών *M. galloprovincialis*. Οι ακτές του Θερμαϊκού κόλπου φιλοξενούν τις πιο εκτεταμένες και παραγωγικές μονάδες καλλιέργειας μυδιών στην Ελλάδα. Σύμφωνα με τα στοιχεία του Υπουργείου Γεωργίας (2002) το 70% της συνολικής Ελληνικής παραγωγής προέρχεται από τη συγκεκριμένη περιοχή, ενώ μονάδες μυδοκαλλιέργειας έχουν αναπτυχθεί και στο Στρυμονικό κόλπο.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 6<sup>ου</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ:ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

Aas E., Baussant T., Balk L., Liewenborg, Andersen O.K., 2000. PAH metabolites in bile, cytochrome P4501A and DNA adducts as environmental risk parameters for chronic oil exposure: a laboratory experiment with Atlantic cod. *Aquatic Toxicology*, 51, 241-258.

Broeg K., Westernhagen Hv., Zander S., Korting W., Köhler A., 2005. The "Bioeffect Assessment Index" (BAI) concept for the quantification of effects of marine pollution by an integrated biomarker approach. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 495-503.

Cajaraville M.P., Diez G., Marigomez I. and Angulo E., 1990. Responses of basophilic cells of the digestive gland of mussels to petroleum hydrocarbons exposure. *Diseases of Aquatic Organisms*, 9, 221-228.

Cajaraville M.P., Bebianno M.J., Blasco J., Porte C., Sarasquete C. and Viarengo A., 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula. *Science of the Total Environment*, 247, 295-311.

EEA (European Environmental Agency), 1999. State and pressures of the marine and coastal Mediterranean environment. In: Izzo G, Moret S. (Eds). *Environmental issues series no 5*. Copenhagen, Denmark, 117 pp.

Farrington J.W., Davis A.C., Tripp B.W., Phelps D.K. and Galloway, W.B., 1987. 'Mussel Watch'-measurements of chemical pollutants in bivalves as one indicator of coastal environment quality. In: *New approaches to monitoring aquatic ecosystems*, (Boyle TP, Ed.), ASTM STP 940. Philadelphia: American Society for testing and Materials, pp. 125-139.



GESAMP (IMO / FAO / UNESCO OIOC / WMO / WHO / IAEA / UN / UNEP), 2001. Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection and Advisory Committee on Protection of the Sea. A Sea of troubles., GESAMP, Reports and Studies, No.70, 33pp.

Gosling E., 1992. In: Gosling E. (ed) The mussels *Mytilus*: Ecology, physiology genetics and culture. Elsevier Amsterdam, London, New York, Tokyo.

ICES, 2006. Report of the Working Group on Biological Effects of Contaminants (WGBEC), 27-31 March 2006, Copenhagen, Denmark. ICES CM 2006/MHC 04. 79 pp.

Lawrence A.J., Elliot M., 2003. Introduction and conceptual model. In: Lawrence AJ, Hemingway KL (Eds.), Effects of pollution on fish. Molecular effects and population responses. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, 1-13pp.

Livingstone D.R., Garcia Martinez P., Michel X., Narbonne J.F., O'Hara S., Ribera D. and Winston G.W., 1990. Oxyradical production as a pollutant-mediated mechanism of toxicity in the common mussel, *Mytilus edulis* L., and other molluscs. Functional Ecology, 4, 415-424.

Marigomez I., Soto M., Cancio I., Orbea A., Garmendia L., Cajaraville M.P., 2006. Cell and tissue biomarkers in mussel and histopathology in hake and anchovy from Bay of Biscay after the Prestige oil spill (Monitoring Campaign 2003). Marine Pollution Bulletin, 53, 287-304.

NCMR, Oceanography Institute, 1997. Monitoring of the quality of the marine environment of the gulf of Thessaloniki through 1977. Final technical report, pp1-250.





NCR, 1980. The International Mussel Watch: Report of a Workshop. Washington DC, US National Academy of Sciences, National Research Council, Publications Office, 248pp.

Nicaise G., Gillot I., Julliard A.K., Keicher E., Blaineau S., Amsellem J., Meyran J.C., Hernandez-Nicaise M.L., Ciapa B., Gleyzal G., 1989. X-ray microanalysis of calcium containing organelles in resin embedded tissue. *Scanning Microscopy*, 3, 199-220.

Nott J.A., 1991. Cytology of pollutant metals in marine invertebrates: a review of microanalytical application . *Scanning Microscopy*, 5, 191-205.

OSPAR, Commission, 2000. Quality Status Report 2000: Region IV – Bay of Biscay and Iberian Coast. OSPAR Commission, London, UK, 134 pp.

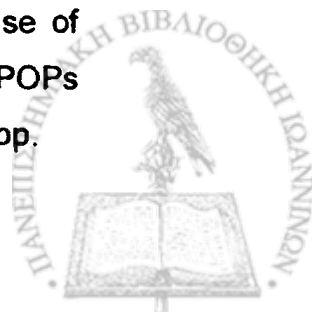
Phillips D.G.H. 1980. Quantitative aquatic biological indicators: their use to monitor trace metal and organochlorine pollution. Applied Science Publishers Ltd., London.

Rainbow P.S., 1993. The significance of trace metal concentrations in marine invertebrates. In: *Ecotoxicology of metals in invertebrates*. Dallinger R. And Rainboe P.S. (Eds) Lewis Publisher, Boca Raton, pp. 119-131.

Rayyan A., Photis G., Chintiroglou C.C., 2004. Metazoan parasite species in cultured mussel *Mytilus galloprovincialis* in the Thermaikos Gulf (North Aegean Sea, Greece). *Diseases of Aquatic Organisms*, 58, 55-62.

Smolders R., Bervoets L., Wepener V., Blust R., 2003. A conceptual framework for using mussels as biomonitors in whole effluent toxicity. *Human and Ecological Risk Assessment*, 9, 741-760.

UNEP/STAP, 2003. Report of the STAP GEF Workshop on the Use of Bioindicators, Biomarkers and Analytical Methods for the Analysis of POPs in Developing Countries. Tsukuba, Japan 10-12 December 2003, 34 pp.



Vasilikiotis, G.Fytianos, K. And Zotou A,1983. « Heavy metals in marine organisms of the North Aegean Sea, Greece.” Chemosphere,12,5-81.

Vlahogianni T, Dasenakis M, Scoullos M, Valavanidis A. Intergrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metal’ s pollution in coastal areas from Saronikos gulf of Greece. Mar Pollut Bull, 2007, **54**: 1361-1371.

Widdows J., 1985. In: The effects of Stress and Pollution on Marine Animals. Praeger Press, New York, pp. 161-178.

Wittig R., 1993. General aspects of biomonitoring heavy metals by plants. In: B. Markert, (ed) Plants as Biomonitors, pp. 3–27.

Wu R.S.S., 1999. Eutrophication, water borne pathogens and xenobiotic compounds: Environmental risks and challenges. Marine Pollution Bulletin, 39, 11-22

#### **ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:**

Γ.Σ. Βασιλικιώτης, Χημεία Περιβάλλοντος, Θεσσαλονίκη 1981

Δημητριάδης Β.Κ., Καλογιάννη Μ., Λαζαρίδου Μ., 2006. Οικοτοξικολογία. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Εκδόσεων. Θεσσαλονίκη.

#### **ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ:**

1. [www.oceansatlas.gr](http://www.oceansatlas.gr)
2. <http://www.habitas.org.uk/marinelife/species.asp?item=W16510>



3. [http://nis.gsmfc.org/nis\\_factsheet.php?toc\\_id=149](http://nis.gsmfc.org/nis_factsheet.php?toc_id=149)).
4. [www.eebe.gr](http://www.eebe.gr)
5. [www.marine.csiro.au](http://www.marine.csiro.au)
6. [www.library.tee.gr](http://www.library.tee.gr)
7. [www.technologe.in.pathfinder.gr/mussels-polution](http://www.technologe.in.pathfinder.gr/mussels-polution)

### **ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ:**

Vasiliki- Angelique Catsiki, H. Florou. Study on the behavior of the heavy metals Cu, Cr, Ni, Zn, Fe, Mn and  $^{137}\text{Cs}$ , in an estuarine ecosystem using *Mytilus galloprovincialis* as a bioindicator species: the case of Thermaikos gulf, Greece. Journal of Environmental Radioactivity , 2005 Elsevier Ltd.

Victoria Besada, Jose Manuel Andrade, Fernando Schultse, Juan Jose Gonzalez. Monitoring of heavy metals in wild mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Spanish North- Atlantic Coast. Continental Shelf Research, 2010 Elsevier Ltd.

Victoria Besada, Jose Manuel Andrade, Fernando Schultse, Juan Jose Gonzalez. Statistical comparison of trace metal concentrations in wild mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in selected sites of Galicia and Gulf of Biscay (Spain). Journal of Marine Systems 2008.

Hee Gu Choi, Hyo Bang Moon, Minkyu Choi, Jun Yu, Sang Soo Kim. Mussel watch program for organic contaminants along the Korea coast 2001 – 2007. Springer Science + Business Media B.V. 2009

Ανέστης Α., Λάζου Α. και Β. Μιχαηλίδης. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΩΤΕΡΩΝ ΟΡΙΩΝ ΑΝΟΧΗΣ ΣΤΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΣΤΟ ΘΑΛΑΣΣΙΟ ΔΙΘΥΡΟ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*. ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ. ΠΡΑΚΤΙΚΑ 28<sup>ου</sup> ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ



ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ,  
ΙΩΑΝΝΙΝΑ, ΜΑΙΟΥ 2006

Ανέστης Α., Portner H.-O., Στάικου Α. και Β. Μιχαηλίδης. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΓΛΥΚΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΣΤΟ ΘΑΛΑΣΣΙΟ ΔΙΘΥΡΟ ΜΥΤΙΛΟΣ GALLOPROVINCIALIS. ΠΡΑΚΤΙΚΑ 29<sup>ου</sup> ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΚΑΒΑΛΑ, 17-19 ΜΑΙΟΥ 2007

Μιχαηλίδης Β.. ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΔΙΘΥΡΩΝ ΣΕ ΕΝΑ ΘΕΡΜΟΤΕΡΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ. ΠΡΑΚΤΙΚΑ 29<sup>ου</sup> ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΚΑΒΑΛΑ, 17-19 ΜΑΙΟΥ 2007

Πυθαροπούλου Σ., Κλέτσας Γ., Σταματίου Ε. και Καλπαξής Δ. ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΩΝ ΜΥΔΙΩΝ ΣΕ ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΥΔΑΤΟΣ. ΠΡΑΚΤΙΚΑ 29<sup>ΟΥ</sup> ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΚΑΒΑΛΑ 17-19 ΜΑΪΟΥ 2007. Η μελέτη αυτή επιχορηγήθηκε (MEL 2322-2918-2664BL2202MED POL) στα πλαίσια του προγράμματος UNEP/MAP.

