

Fytoindikácia ekogenotoxickej deteriorizácie v prostredí priemyslových komplexov

Karol Mičieta, Gustáv Murín

Univerzita Komenského, Prírodovedecká fakulta
UK, Katedra botaniky, Révová 39, Bratislava

Fytoindikácia

Rastliny patria medzi organizmy, ktoré veľmi citlivo reagujú na zmeny v prostredí.

Prejavuje sa to na všetkých organizačných úrovniach -od bunky cez jedinca, populáciu až spoločenstvo.

Fytoindikačné výskumy majú svoje nazastupiteľné miesto najmä v monitorovaní a hodnotení kvality životného prostredia

Fytoindikácia

V nadnárodnej úrovni spolupráce existujú rôzne programy s vypracovanými a dohodnutými jednotnými metodikami.

Hodnotia sa kvalitatívne a kvantitatívne parametre, ktoré sa využívajú pri monitorovaní a hodnotení stupňa záťaže prostredia.

Parametre hodnotenia vegetácie - druhové spektrum, distribúcia, produkcia biomasy, výška, pokryvnosť, symptómy poškodenia výhonkov a pod. - pri absentujúcej komplexnosti z minulosti, sú pre súčasné potreby a požiadavky výskumu i praxe hodnotenia extrémnych vplyvov na existenciu bioty nedostačujúce.

Fytoindikácia

Súčasnosť – ekotoxikológia, ekogenotoxikológia – vyžaduje nové prístupy, metodicky odpovedajúce teoretickým a praktickým potrebám, ktoré budú dostatočne presne indikovať zmeny v určitom kratšom časovom intervale.

Fytoindikačné parametre

- musia exaktne, dostatočne rýchlo a presne signalizovať aktuálne kritické zmeny v prostredí
- kontinuálne indikovať a monitorovať stavy v životnom prostredí
- súčasne slúžiť pre praktické i teoretické poznávanie zložitých javov vegetácie a flóry.

Poškodzovanie životného prostredia

V dôsledku interakcie s jednotlivými zložkami krajiny ako aj v dôsledku interakcie týchto krajinných zložiek medzi sebou sa tieto **xenobiotické produkty - ekotoxikologické faktory** postupne transformujú, pričom v zmenenej podobe potom spätne vplývajú na zložky krajiny.

Na hodnotenie stavu, zmien, trendov, podmienok a dopadov ich rozšírenia je potrebný monitoring a kvalifikovaná odpovedajúca indikácia.

Indikácia ekotoxicity, ekogenotoxicity

- Charakterizácia ekotoxikologických faktorov - komplexných zmesí v prostredí kvalifikovanou chemickou analýzou má svoje limity
- Odpovedajúca interpretácia ich dopadov na biologické systémy je veľmi zložitá
- Genotoxické účinky týchto komplexných zmesí, ich synergické a antagonické účinky sú v súčasnosti veľkou neznámou
- V zmysle metodologických princípov, zodpovedajúca indikácia genotoxických účinkov je možná len v podmienkach “in situ”

Princípy hodnotenia ekotoxikologických, ekogenotoxikologických faktorov

Metodologické požiadavky:

- Aký je charakter škodlivých účinkov a ktoré zložky životného prostredia zasahuje ?
 - Aký je význam týchto účinkov pre daný ekosystém ?

Prednosti fytoindikácie ekotoxicity a ekogenotoxicity rastlinami

- žijú priamo v životnom prostredí alebo sa tam implantujú (pestujú) štandardizované modelové testovacie systémy (napr. Tradescantia, Vicia, Arabidopsis) a tak umožňujú hodnotiť znečistenie v reálnom komplexe zložiek životného prostredia
- sú ľahko identifikovateľné
- prirodzená integrujúca funkcia, v dynamických médiách (vzduch, voda, pôda) prirodzenú integrujúcu funkciu

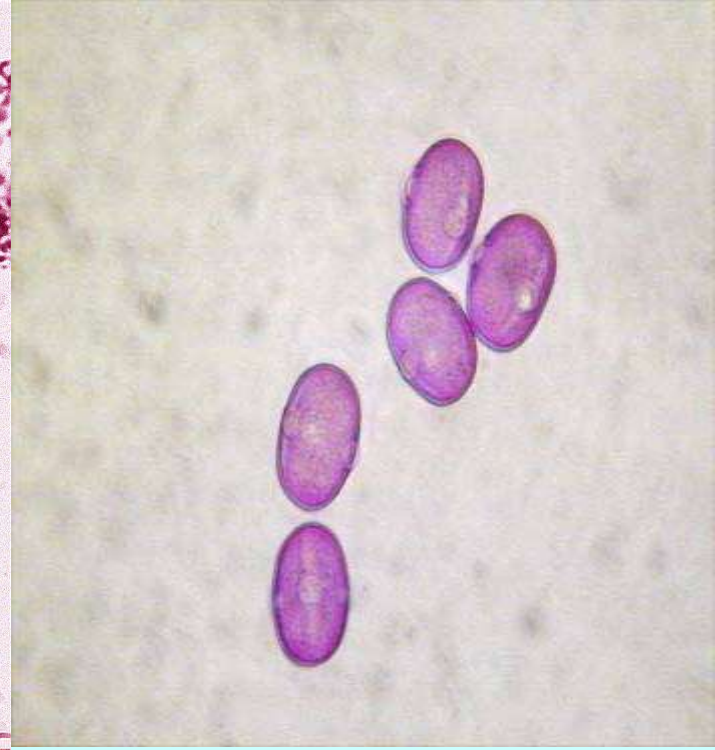
Prednosti fytoindikácie genotoxicity rastlinami

- dávajú všeobecnú alebo špecifickú odpoveď na zmenu v prostredí (pri voľbe zodpovedajúcej metodiky možno detekovať genotoxický účinok na všetkých úrovniach genetického aparátu bunky)
- neunikajú zo znečisteného prostredia, resp. možno ich tam podľa potreby kultivovať
- umožňujú sledovať genotoxický vplyv rizikového faktora alebo viacerých rizikových faktorov, vplyv rezíduí, prípadne ich metabolitov

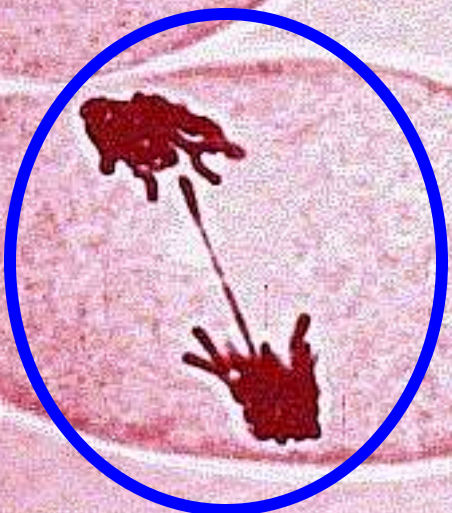


Využitie laboratórne štandardizovaných testov pri indikácii a monitoringu v podmienkach in situ prináša napriek niektorým obmedzeniam výhody

Vicia faba test



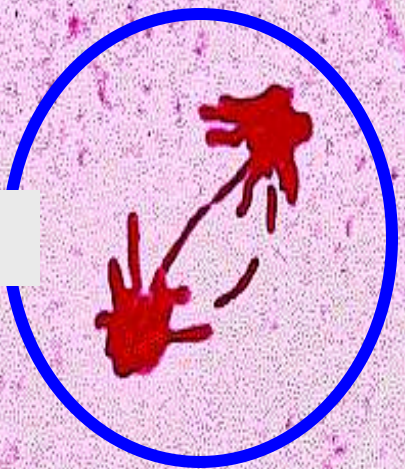
normálna anafelofáza



genómové mutácie



chromozómové aberácie



Molekulárno-cytogenetické metódy



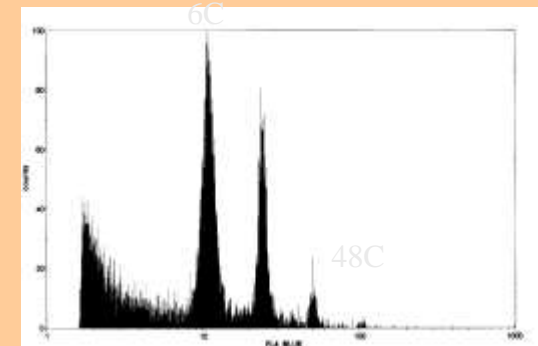
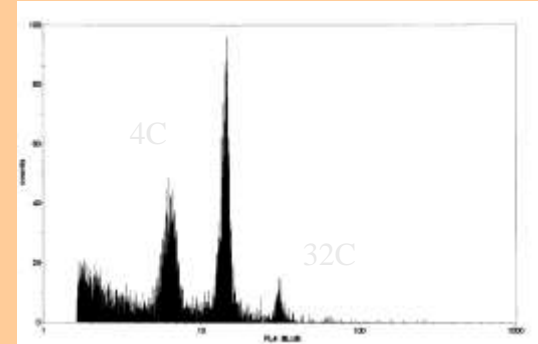
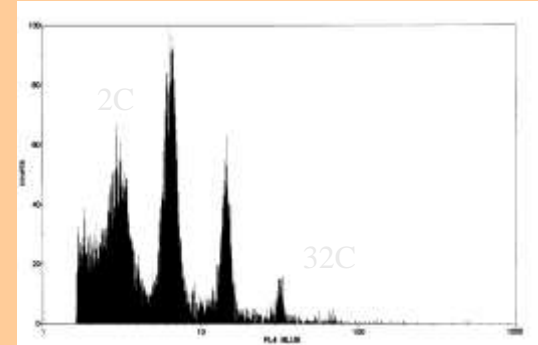
Obsah DNA

2n

**Prietoková
cytofotometria
Flow cytometry**

4n

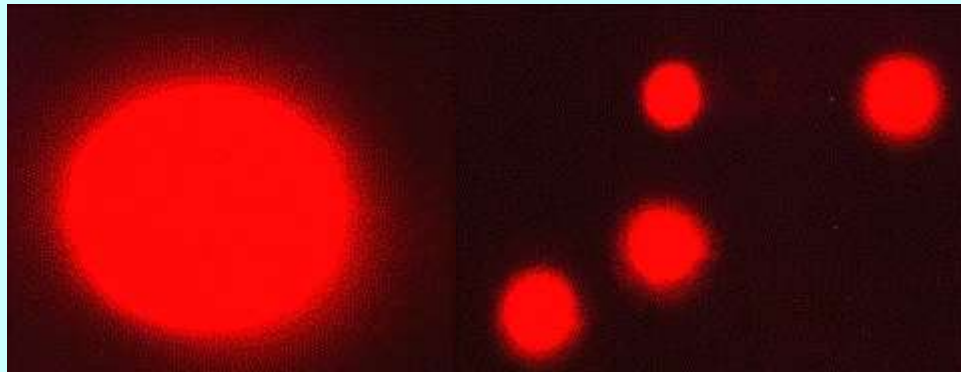
6n



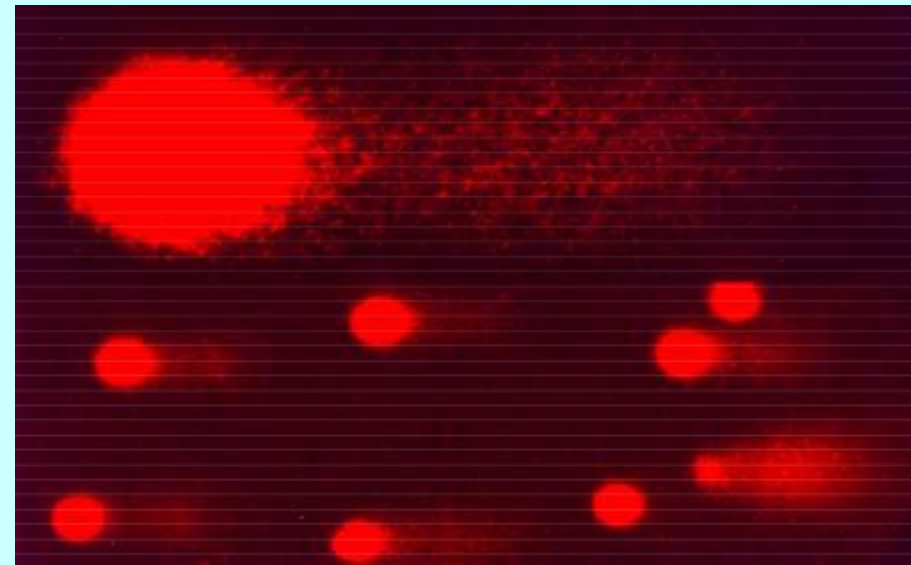
Molekulárno-cytogenetické metódy

Kométovej test

Comet assay



Control

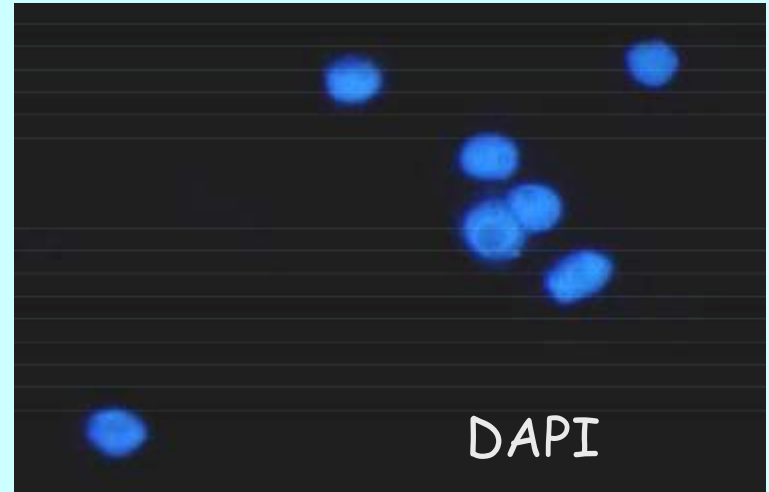


Etidium bromid

Molekulárno-cytogenetické metódy

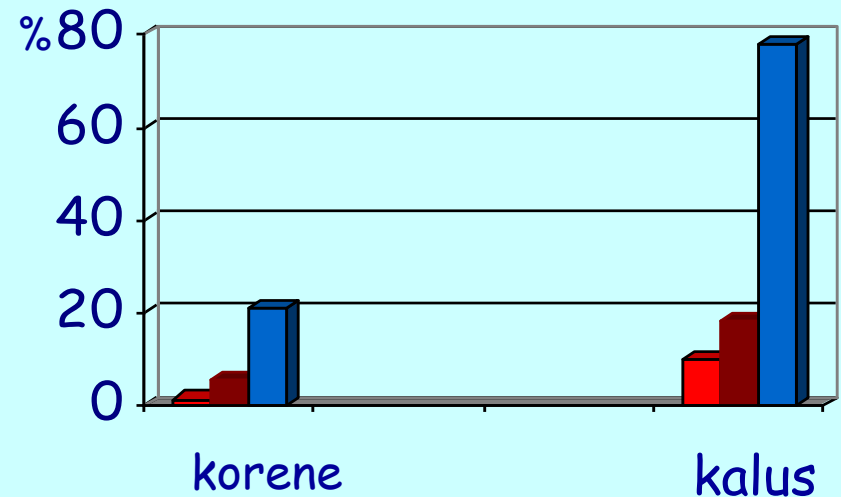
TUNEL test

Terminal transferase (TdT) mediated
dUTP-digoxigenin/biotin Nick End
Labelling

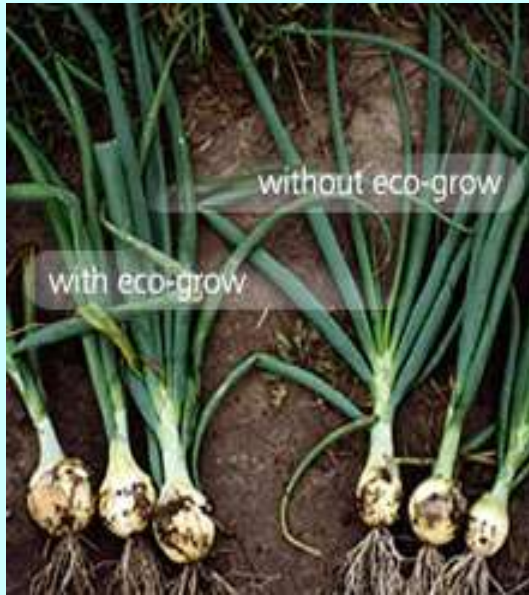


Kontrola, 1 Gy; 70 Gy

Frekvencia jadier



Allium test



Nevýhody: možnosť anoxie koreňov, ošetrovanie koreňov fungicídmi, nie je štandardizovaný protokol, nízky počet deliacich sa buniek oproti Vicia testu

Levan A. (1938)1949. Hereditas suppl. Vol. 325



Arabidopsis thaliana test



- Nízky počet chromozómov, $n=5$
- Malý genóm 100 000kb
- Krátky životný cyklus 5-12 týždňov

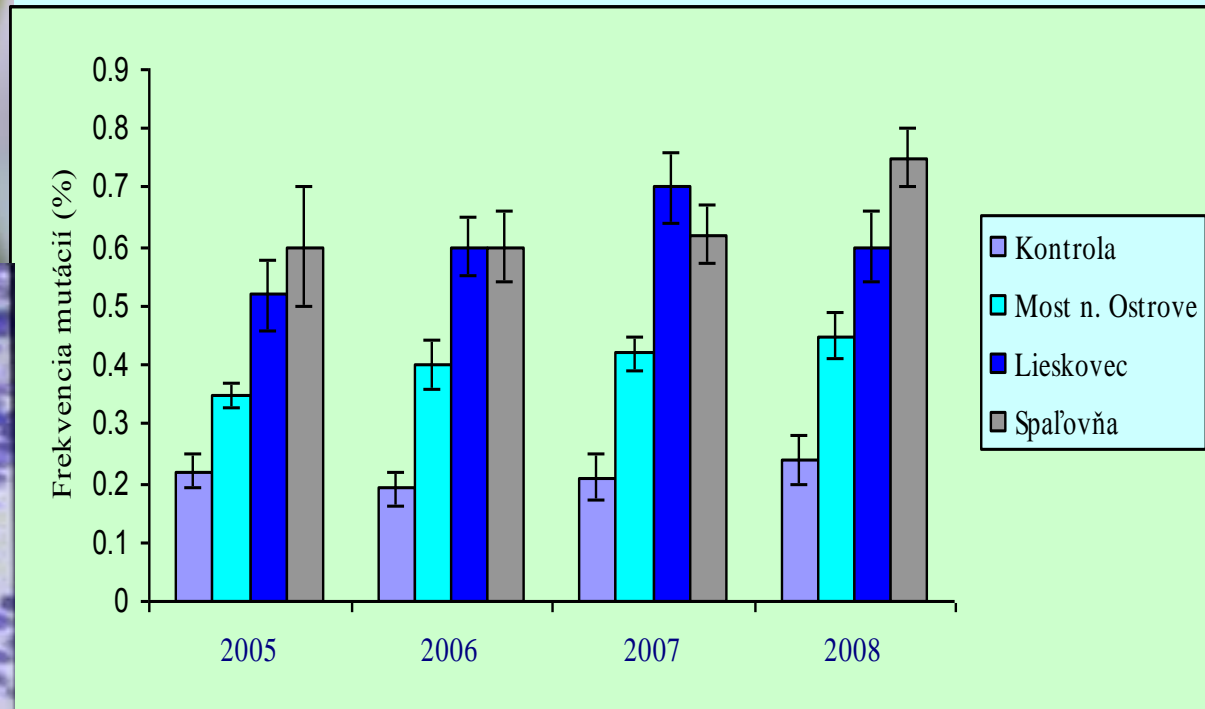
Nízka úspešnosť prežitia rastlín
v otvorenom prostredí

Tradescantia SHM



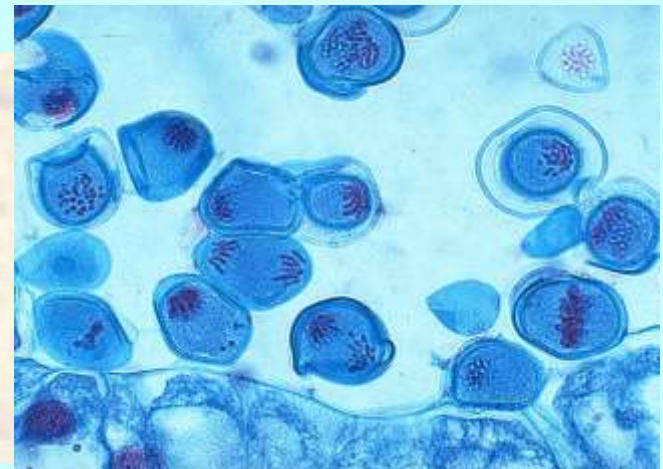
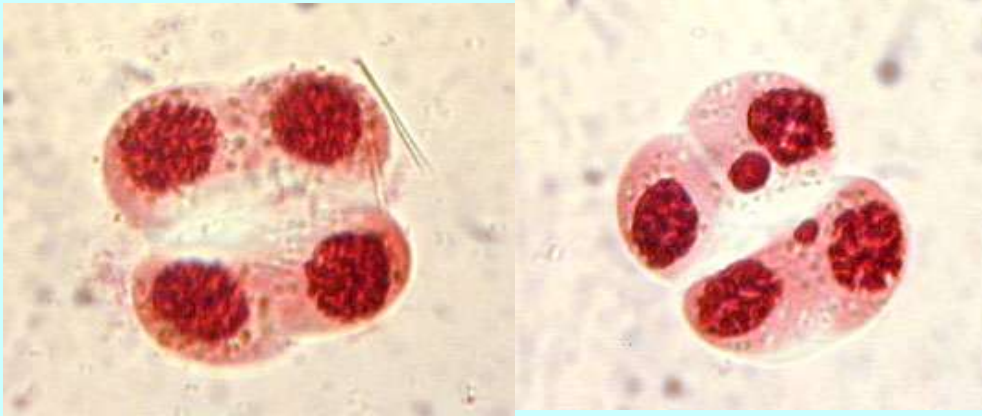
Tradescantia farebnomutačný test klon 4430

Tradescantia SHM test v okolí Spaľovne Bratislava

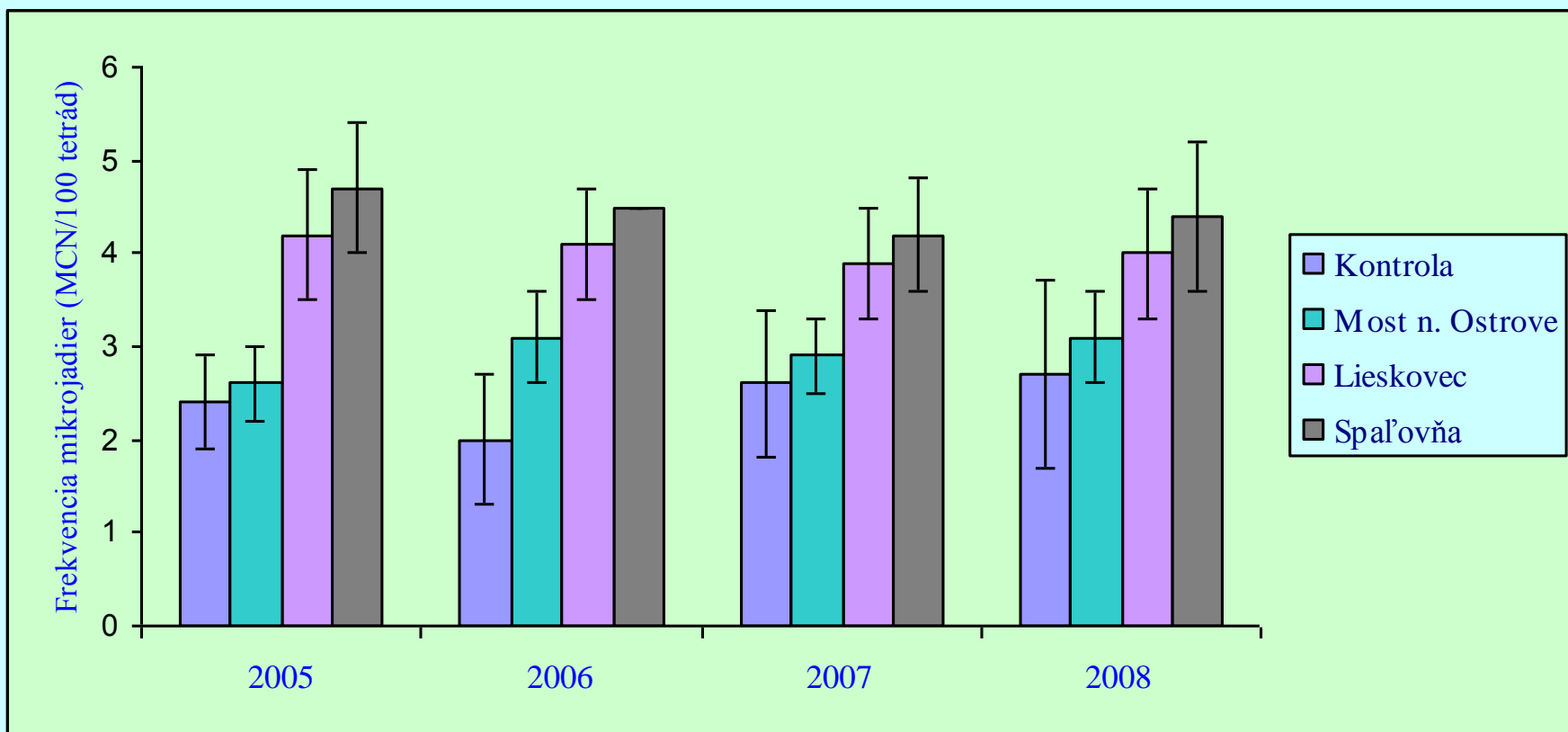


Tradescantia micronucleus test

Tradescantia mikrojadrový test

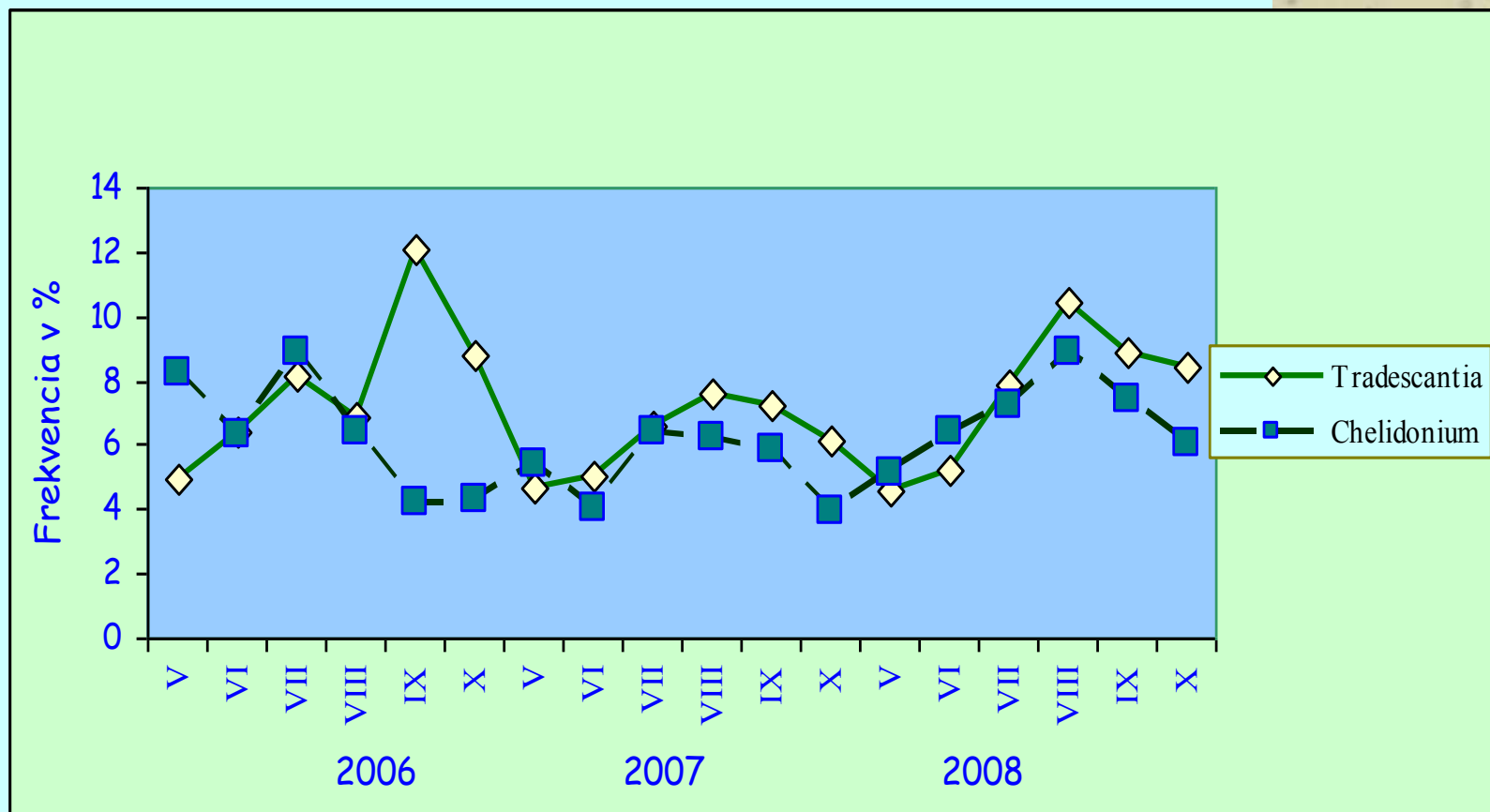
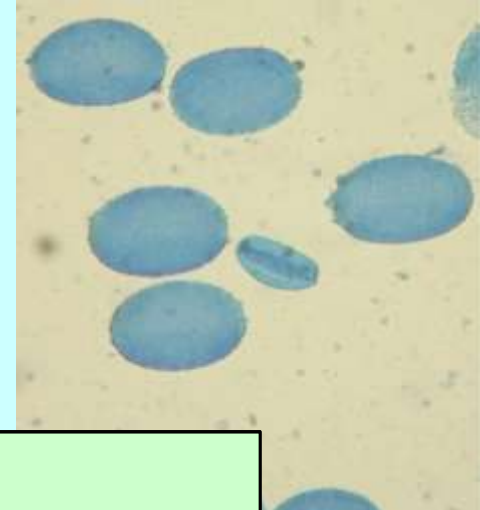


Výsledky *Tradescantia* MCN testu (*T. paludosa* klon 03) V každom roku 6x hodnotených 1500 tetrád pre každú lokalitu –okolie Spalovňa Bratislava

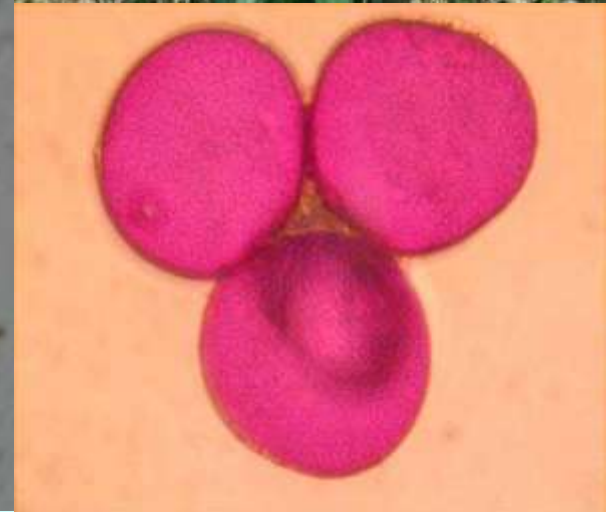
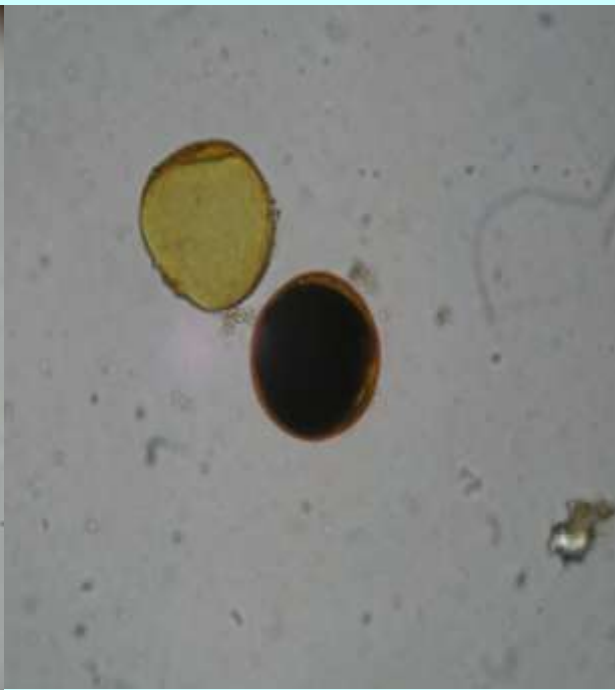
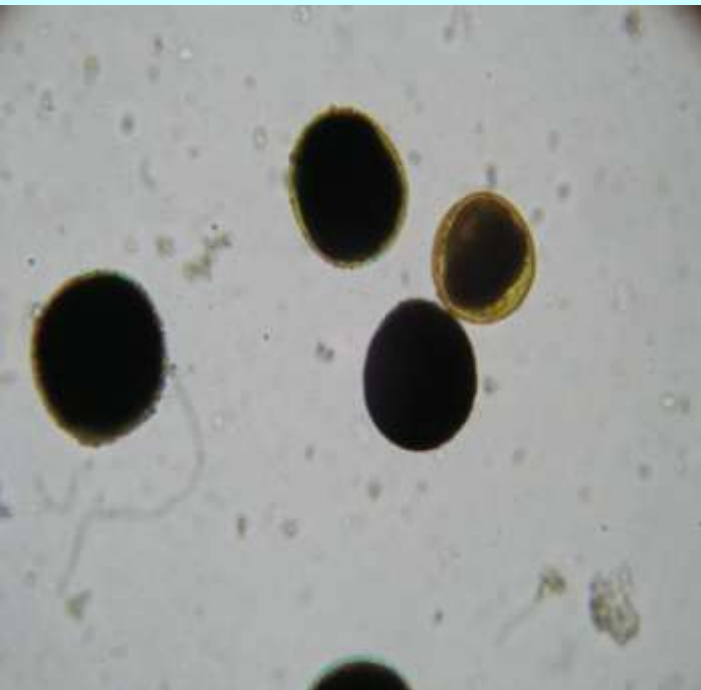


Tradescantia mikrospórogenézový test

Porovnanie frekvencie abortívnosti mikrospór *T. paludosa* v okolí Spáľovne Bratislava s natívnou populáciou *Chelidonium majus*



Zea mays waxy test





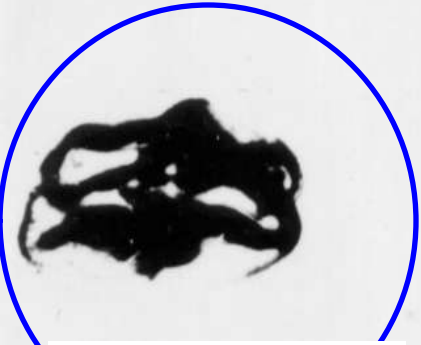
3 letálne mutácie



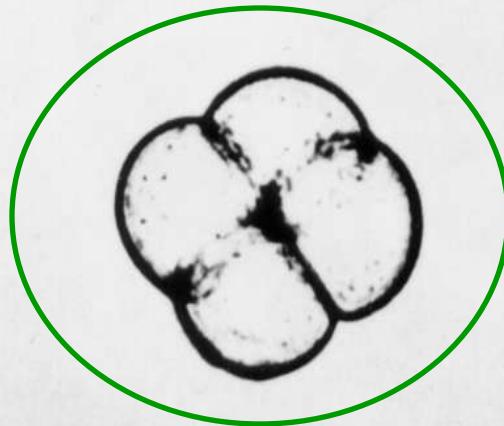
1 letálna mutácia



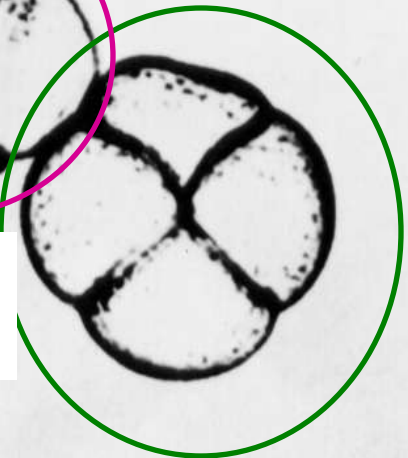
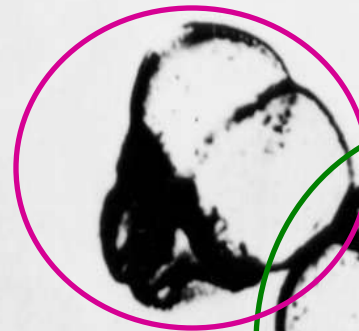
Normálna tetráda

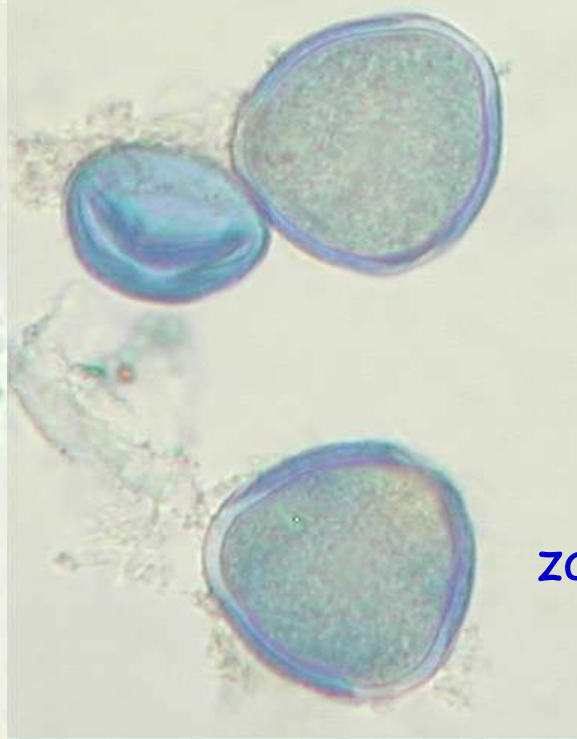
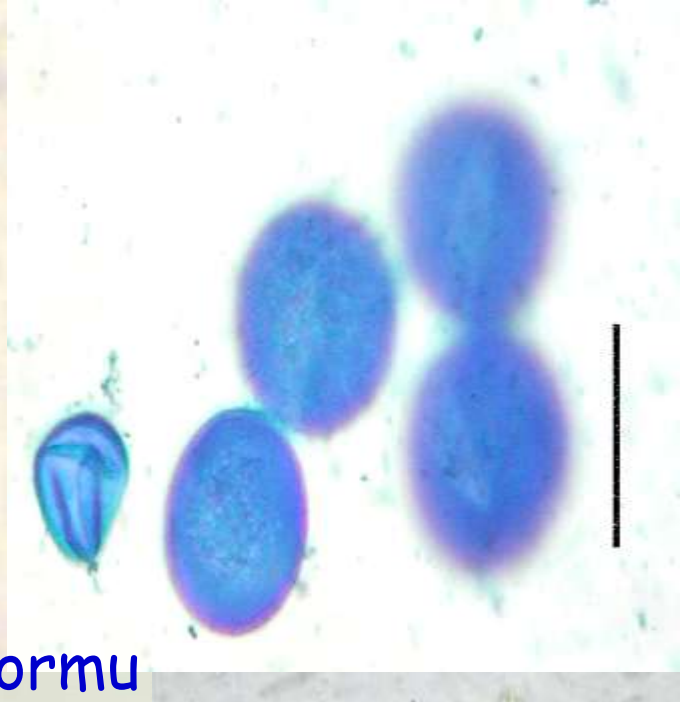


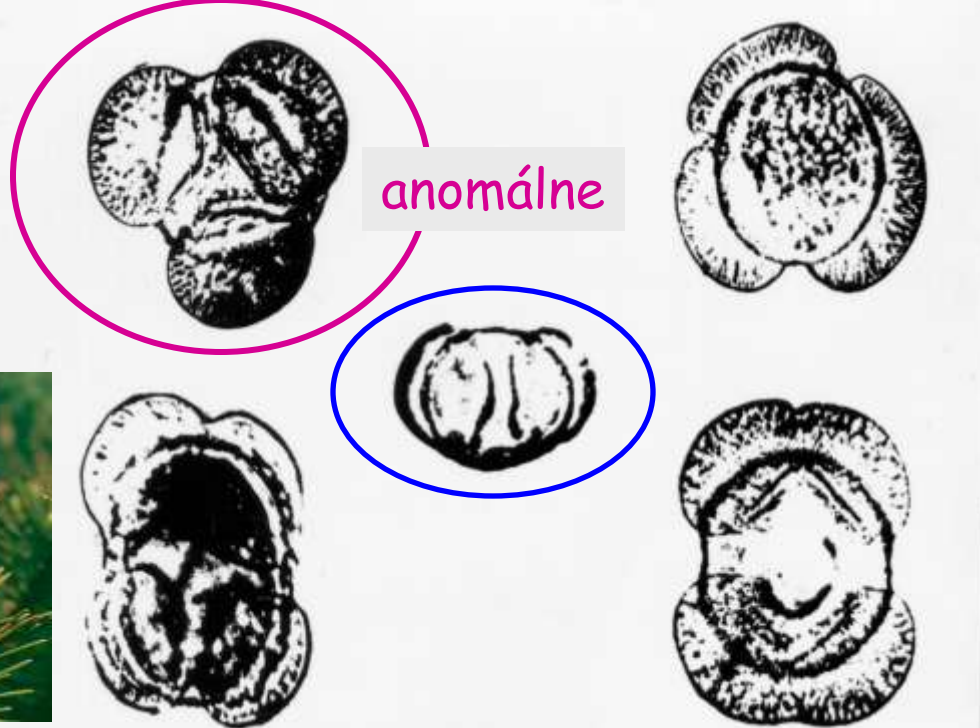
Fyziologické poškodenie



2 letálne mutácie





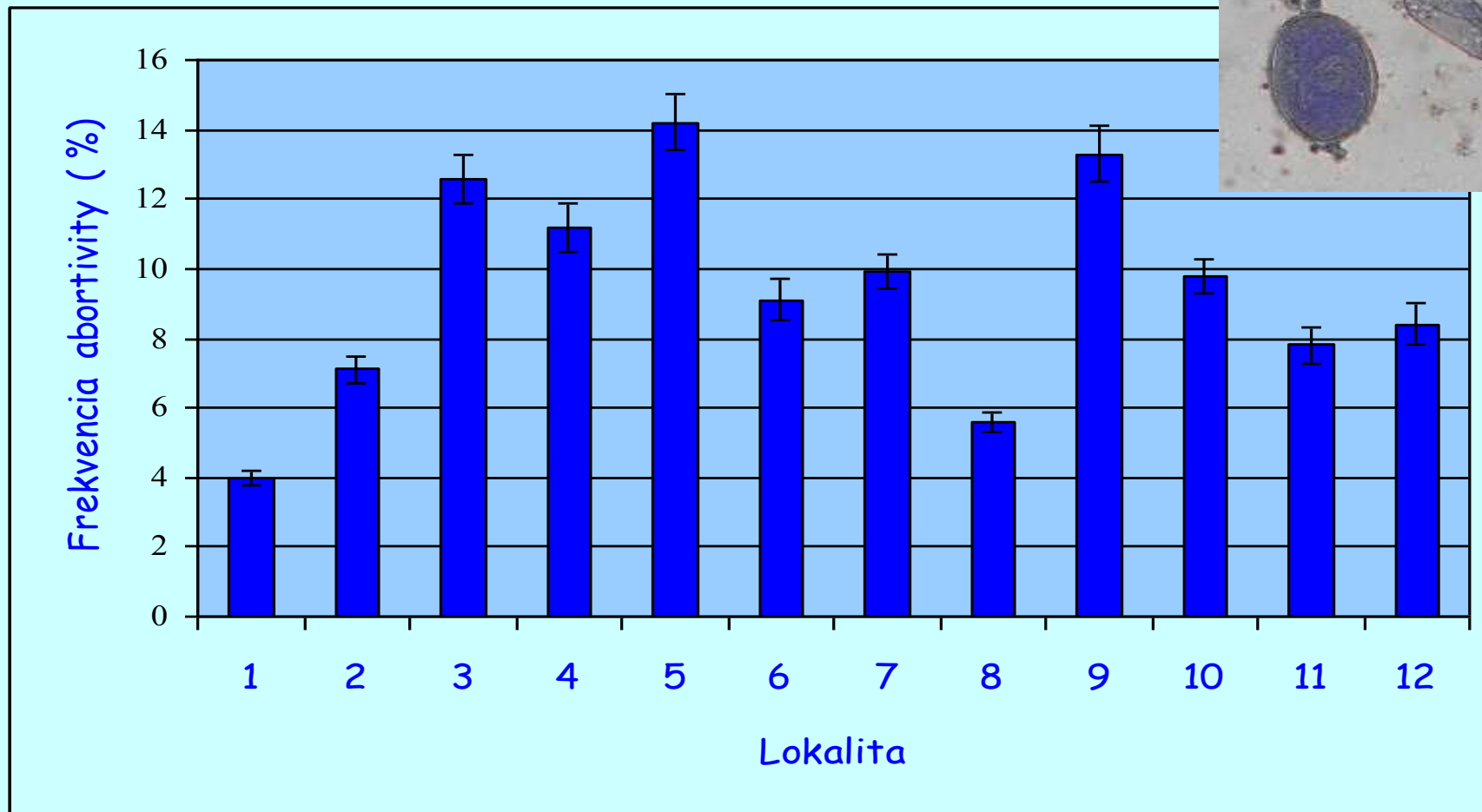


Výber indikačných druhov musí spĺňať tieto základné kritériá

1. **Druhy musia byť diploidné.** Tvorja haploidné peľové zrná, v ktorých gény pre normálny vývin peľu sú zastúpené v jednej sade chromozómov, takže ich poškodenie sa môže bezprostredne prejaviť. Polyploidné druhy vylučujeme pre predpokladané poruchy meiózy z dôvodu tvorby multivalentov.
2. Druhy tvoria v prirodzených podmienkach **kvalitný peľ**, podľa predbežných analýz nesmie jeho abortívnosť **prevyšovať 5%**.
3. **Rozšírenie druhov** by malo byť **bežné** nielen na prirodzených stanovištiach, ale aj v blízkosti sídlisk a priemyselných podnikov.

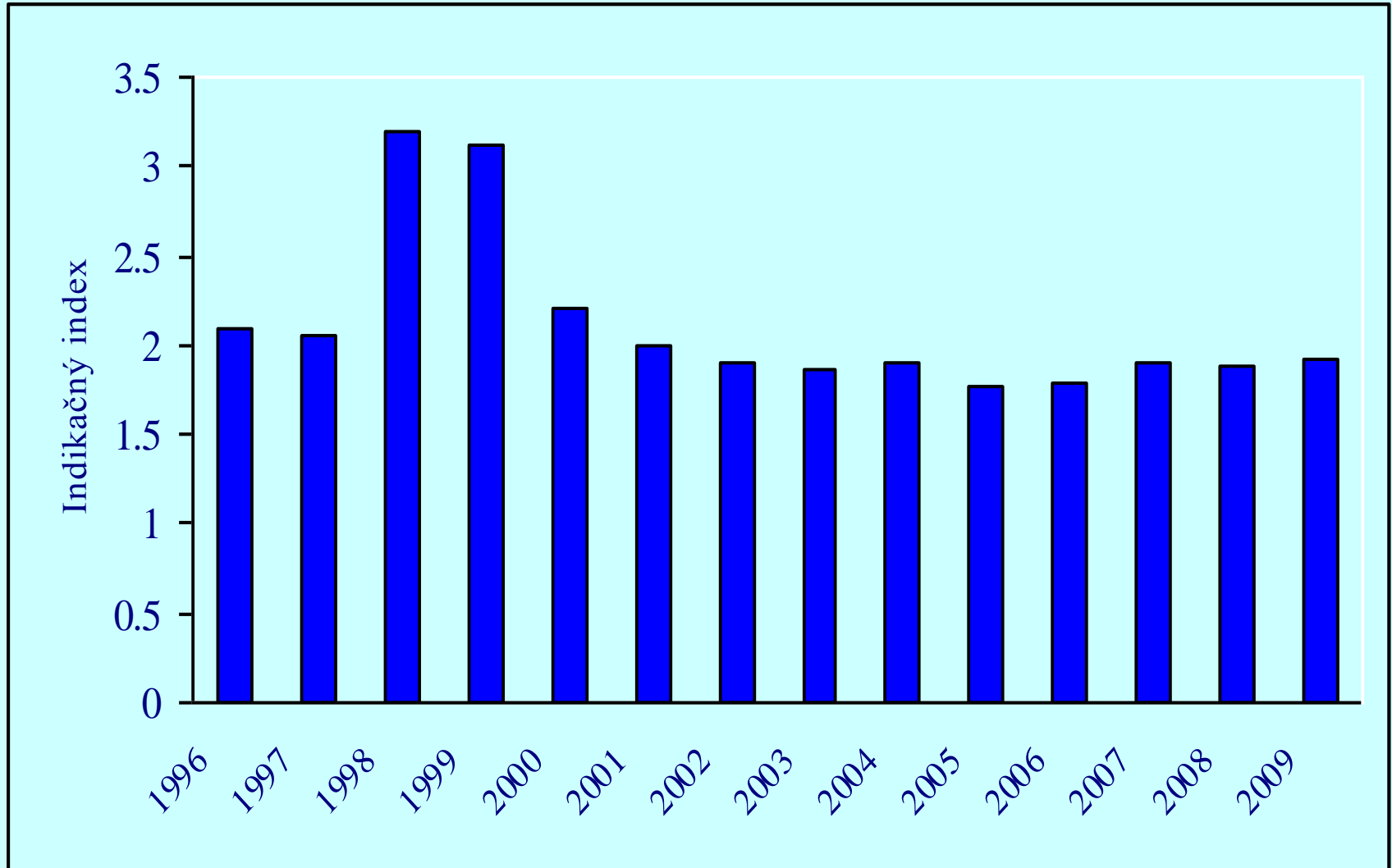


Frekvencia abortívnosti peľu *Robinia pseudoacacia* L.na vybratých lokalitách Slovenska v r.2009

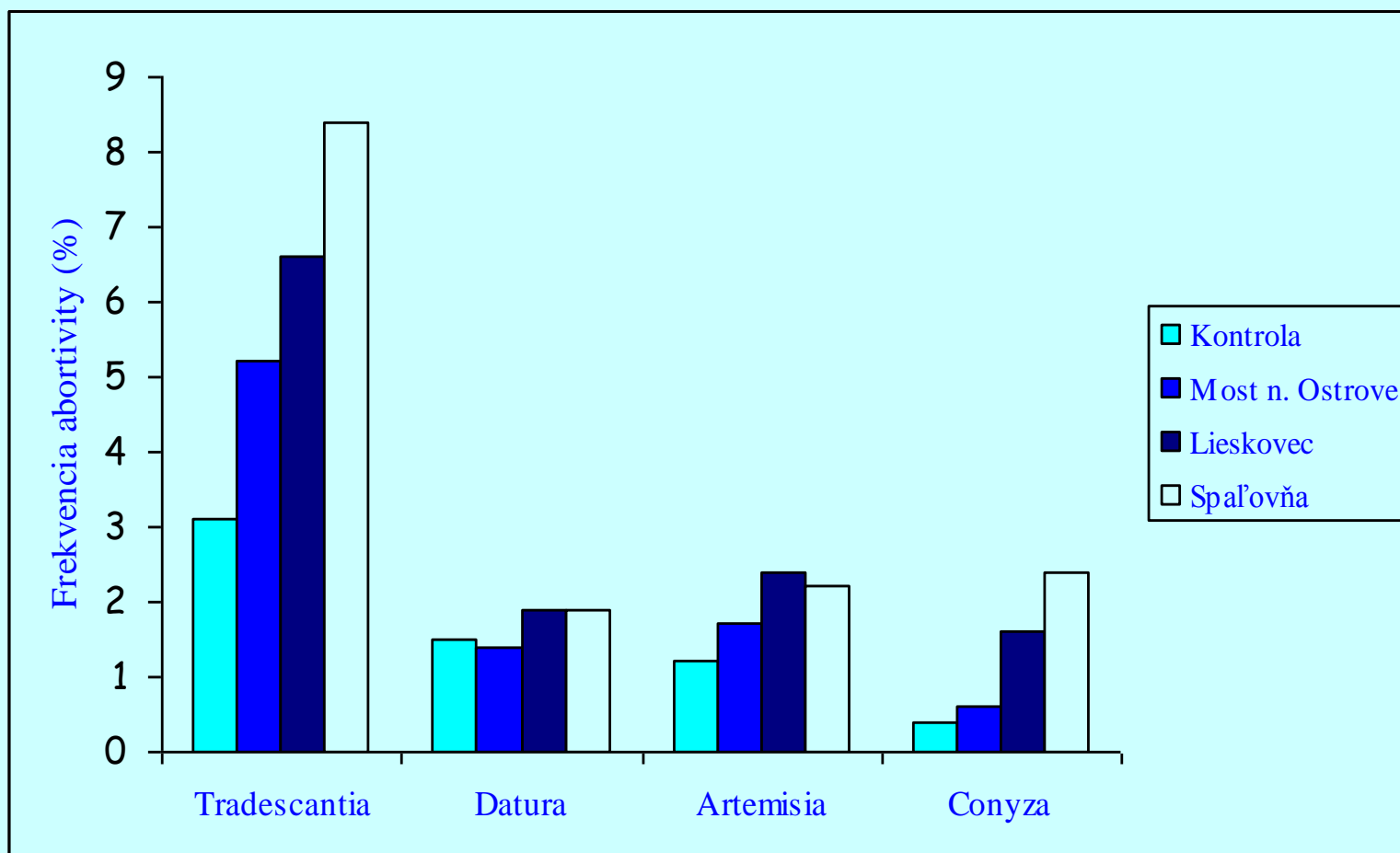


1 Moravský Ján, 2 Malacky, 3 Devín, 4 Bratislava—Slovnaft, 5 Bratislava—Mlynská Dolina, 6 Malé Karpaty Rača, 7 Žiar nad Hronom, 8 Javorníky Pov. Chlmec, 9 Prievidza, 10 Ružomberok, 11 Veľký Krtíš, 12 Prešov

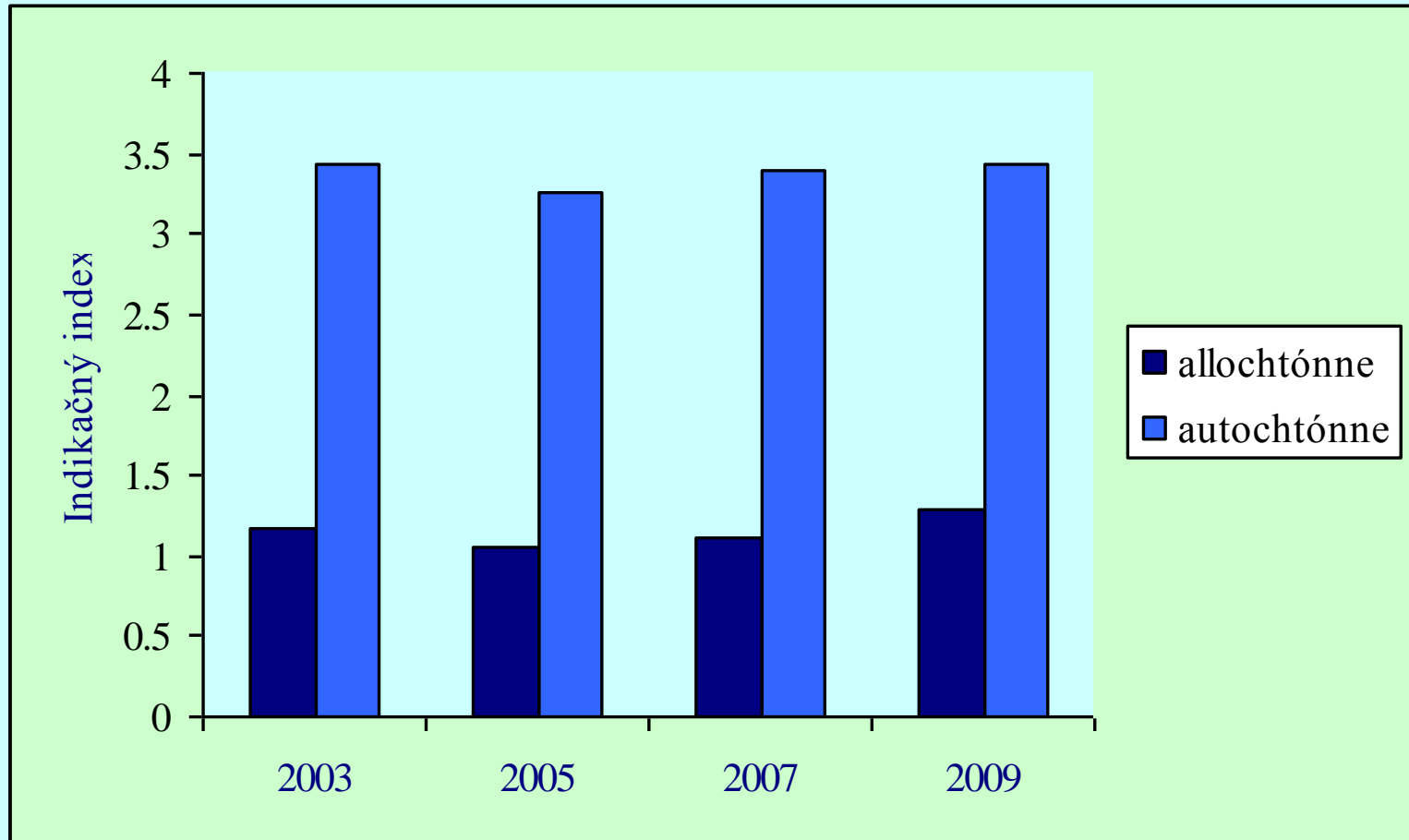
Priebeh ročného referenčného indexu v lokalite Spaľovňa Bratislava



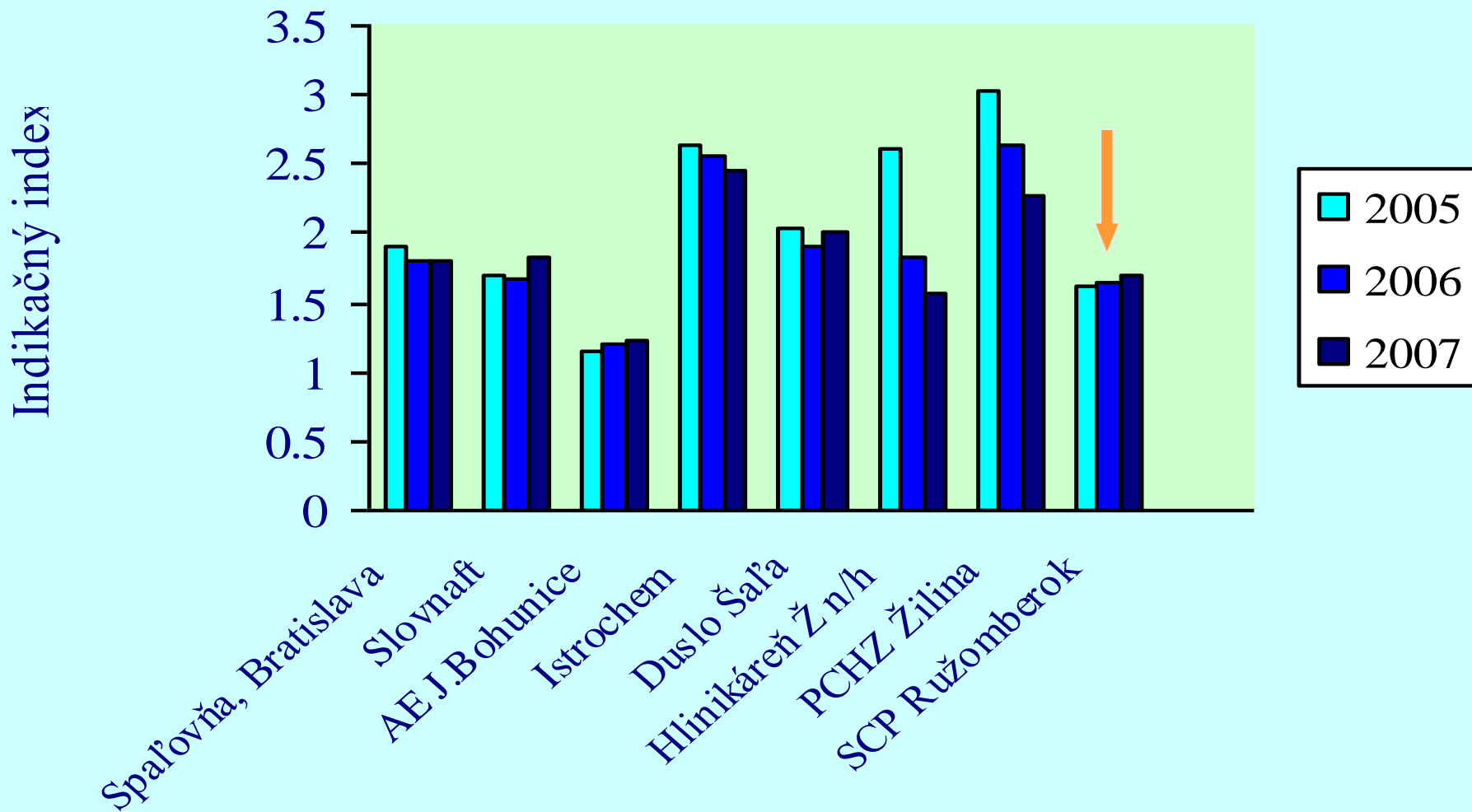
Frekvencia abortivity mikrospór alochtónnych- nepôvodných druhov, okolie Slovnaft, Bratislava



Indikačný index detegovaný na pôvodných a invázných nepôvodných taxónoch



Indikačný index ekogenotoxickej deteriorizácie v okolí priemyslových komplexov na Slovensku

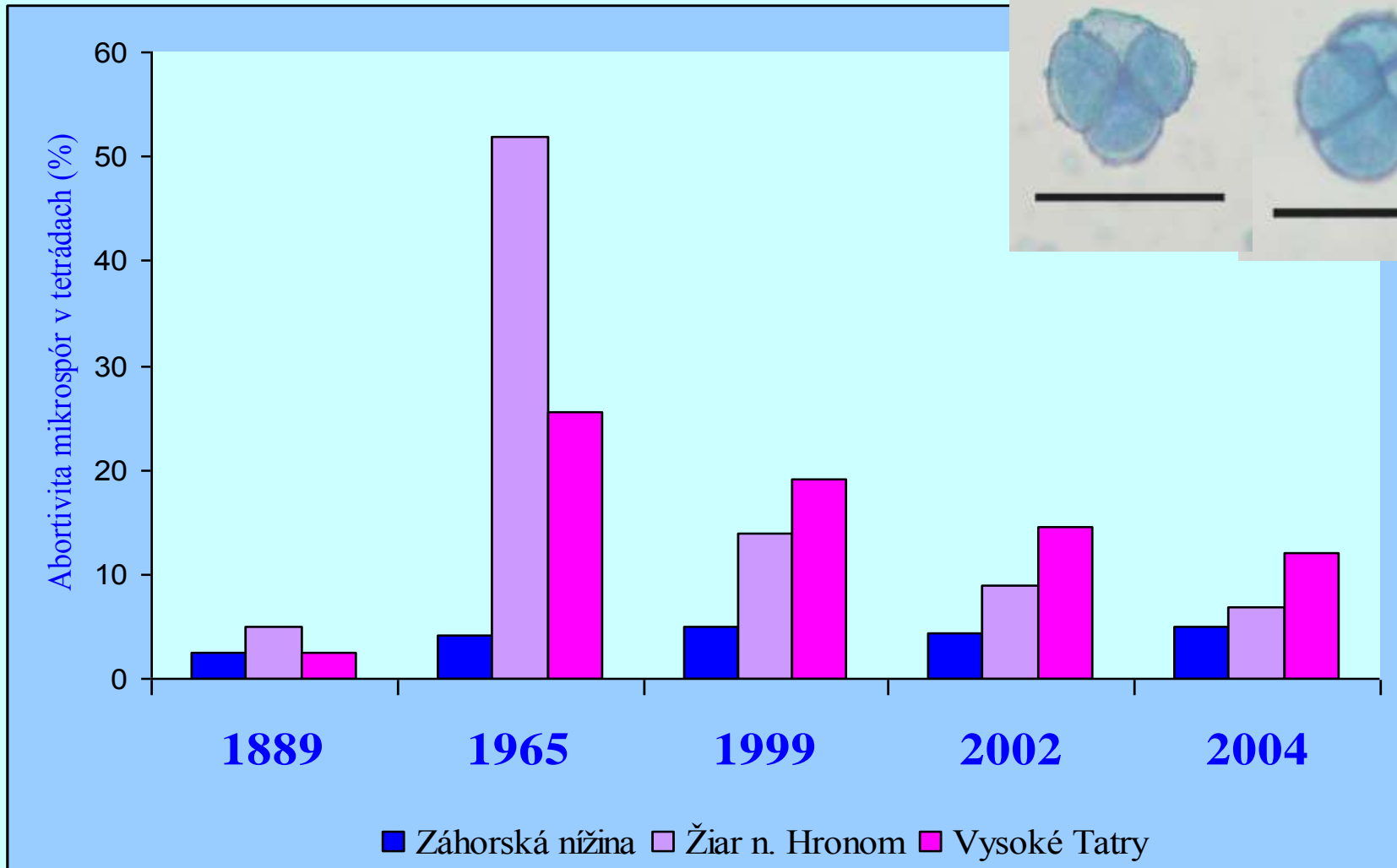


Frekvencia chromozómových aberácií v periférnych lymfocytoch detí žijúcich v okolí SCP Ružomberok

Skupina	Počet	%AB.C
Roveň	2500	2.20
Klačno	2500	2.72
Lisková	2500	4.16
Kontrola	2500	1.88

Frekvencia abortivity v tetrádach *Calluna vulgaris*

Retrospektívny monitoring ekogenotoxicity



Závery

- metodika dovoľuje na jednom mieste v rôznom čase sledovať a porovnať senzitivitu populácie, jednotlivých indivíduí, až po ich bunkovú úroveň
- dovoľuje detekovať paralelne mutácie na všetkých štruktúrnych a funkčných úrovniach genetického aparátu bunky génomej, chromozómovej, genómovej
- efektívnosť metodiky je v permanentnom monitoringu kontaminovaných a neznečistených lokalít

Závery

- umožňuje detekovať lokálne, regionálne, globálne zmeny vo flóre ale i v životnom prostredí
- nevyhnutnosť, prísne dodržiavať stanovenú metodiku odberu a hodnotenia, metodiku monitoringu
 - poznať parametre, indikátory, množstvo DNA v jadre, počet chromozómových cyklov, stupeň inhibície rastu ai.
- **detekovať evolučné zmeny a taxonomické dôsledky ekogenotoxickej deteriorizácie genómov**

Závery

- Finančná nenáročnosť
- Operatívnosť a výhodnosť pri dlhodobom monitoringu i haváriách
- Rýchla a presná signalizácia kritických zmien v prostredí
- Kontinuálna indikácia a monitoring dynamiky stavov v ŽP
- Detekcia adaptovaných a tolerantných genotypov a ich využitie vo fytoimediačných stratégiách, v minimalizovaní negatívnych dopadov

Ďakujem za pozornosť

