



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

**Biološki odsjek**

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET



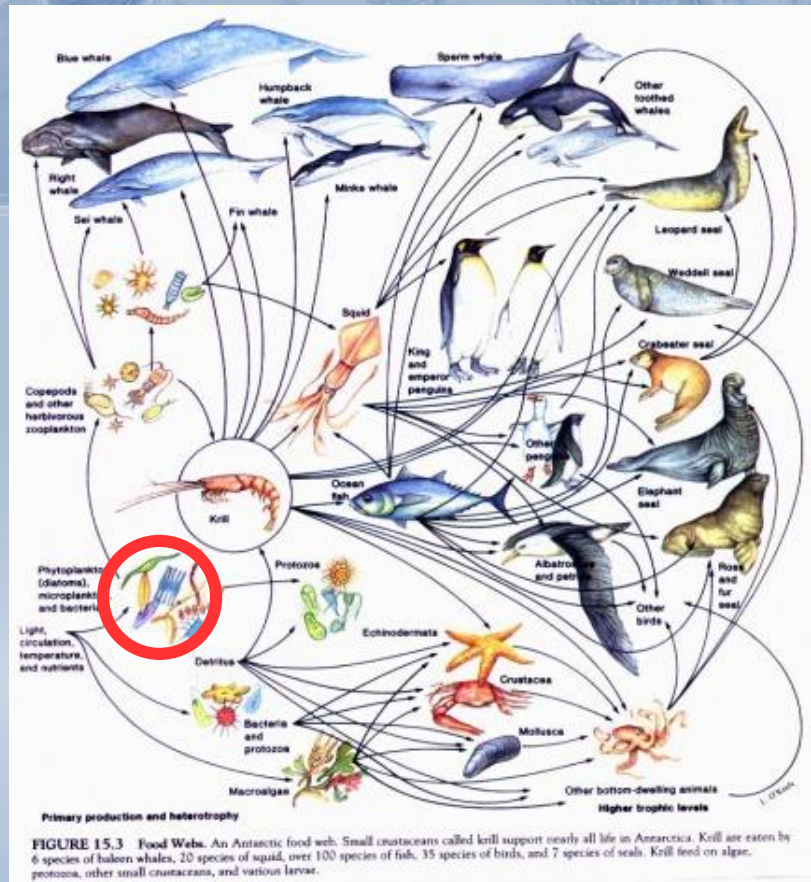
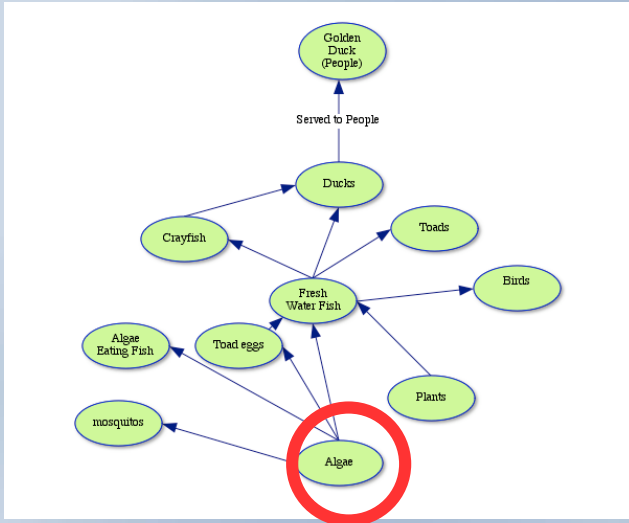
Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

# **NOVA METODA U EKOTOKSIKOLOGIJI: PROCJENA UZGOJA ALGI PRIMJENOM CLORELLA TESTA**

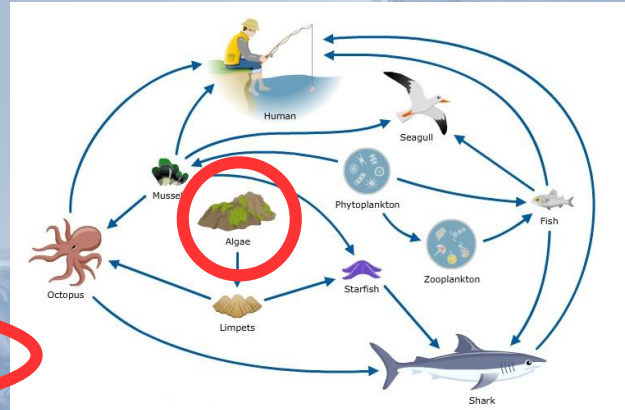
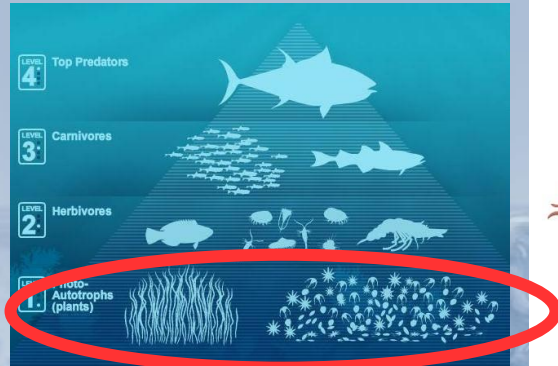
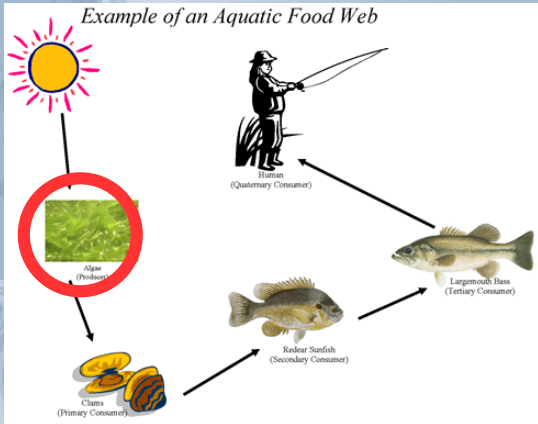
Martina Ivšić, Goran Kovačević

**Vukovar, 2016.**

# Alge – baza prehrambenog lanca/mreže/piramide



**FIGURE 15.3** Food Web. An Antarctic food web. Small crustaceans called krill support nearly all life in Antarctica. Krill are eaten by 6 species of baleen whales, 20 species of squid, over 100 species of fish, 35 species of birds, and 7 species of seals. Krill feed on algae, protozoa, other small crustaceans, and various larvae.



## PRODUKTI

Vitamini  
( A, B1, B2, B6, niacin, C)  
JOD  
KALIJ  
ŽELJEZO  
KALCIJ  
MAGNEZIJ  
NEZASIĆENE MASNE KISELINE  
OMEGA-3 MASNE KISELINE

## EKOTOKSIKOLOGIJA

- akumulacija u ekosustavima
- okolišni čimbenici
- spriječiti negativne posljedice za žive organizme

## CHLORELLA TEST



# CHLORELLA TEST

## SLOBODNOŽIVUĆE VRSTE

- *Chlorella kessleri* A
- *Chlorella vulgaris* CV

## APOSIMBIOTSKE VRSTE

- *Mychonastes homosphaera* CZ10
- *Desmodesmus subspicatus* CZ43

## KLIMA KOMORA

- 24°C
- Fluorescentno osvjetljenje

## HRANJIVA PODLOGA

- 2 g agara
- 100 mg  $\text{KNO}_3$
- 1 mL  $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$
- 1 mL  $\text{K}_2\text{HPO}_4$
- 0.1 mL FeCl
- 100 mL  $\text{dH}_2\text{O}$

Ekvivalent vodene otopine toksikanta

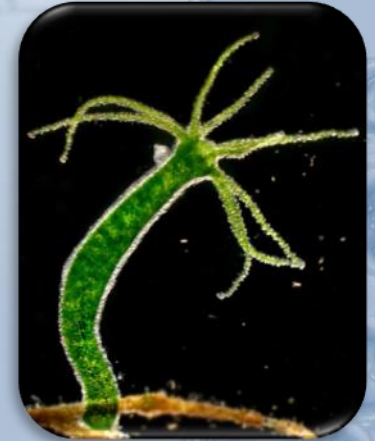
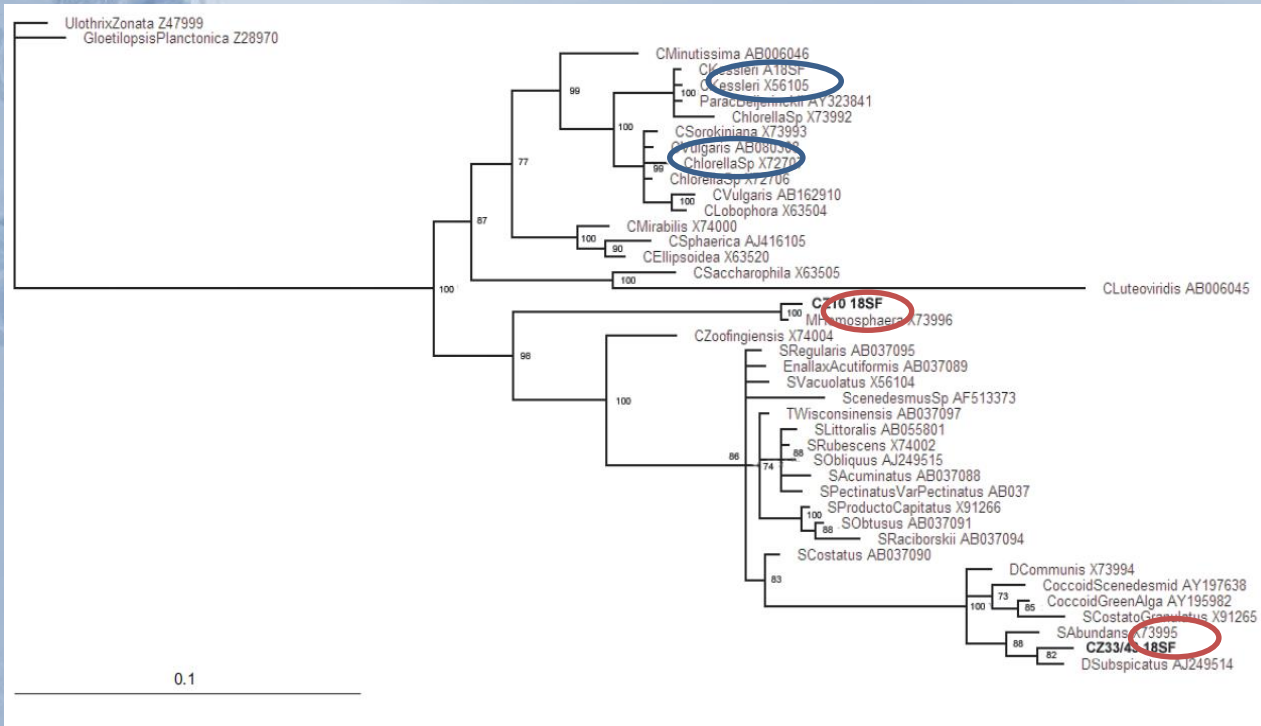
# SIMBIOZA

- *σύν* zajedno, *βίωσις* život
- dugotrajan tijesan suživot između dviju ili više različitih vrsta organizama

OBLIK SIMBIOZE	ODNOS SIMBIONATA
Mutualizam	+/+
Parazitizam	+/-
Kompeticija	-/-
Komenzalizam	0/+
Amenzalizam	0/-

ENDOSIMBIOZA

# HIDRA I ALGE



*Hydra viridissima*



*Hydra oligactis*

# CHLORELLA TEST

## SLOBODNOŽIVUĆE VRSTE

- *Chlorella kessleri* A
- *Chlorella vulgaris* CV

## APOSIMBIOTSKE VRSTE

- *Mychonastes homosphaera* CZ10
- *Desmodesmus subspicatus* CZ43

## HRANJIVA PODLOGA

- 2 g agara
- 100 mg  $\text{KNO}_3$
- 1 mL  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$
- 1 mL  $\text{K}_2\text{HPO}_4$
- 0.1 mL FeCl
- 100 mL  $\text{dH}_2\text{O}$

Vodena otopina kompleksa željeza i dekstrana  
100 mg Fe/mL dekstrana

- Trajanje pokusa: 21 dan
- Dvije serije
- 6 epruveta



- 1 mg Fe/L  $\text{H}_2\text{O}$
- 400 mg Fe/L  $\text{H}_2\text{O}$
- 1400 mg Fe/L  $\text{H}_2\text{O}$

površina i promjer stanice  
površina i promjer jezgre  
površine kloroplasta

## KLIMA KOMORA

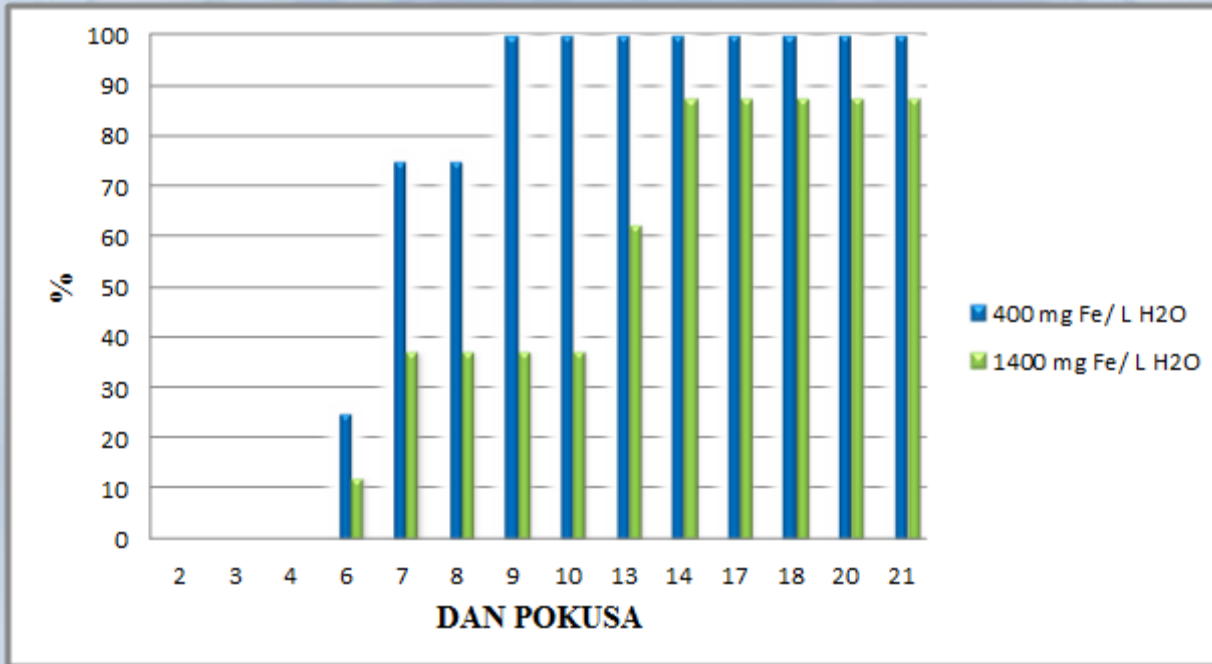
- 24°C
- Fluorescentno osvjetljenje



KONTROLA

# A – *Chlorella kessleri*

1400 mg Fe/L H<sub>2</sub>O

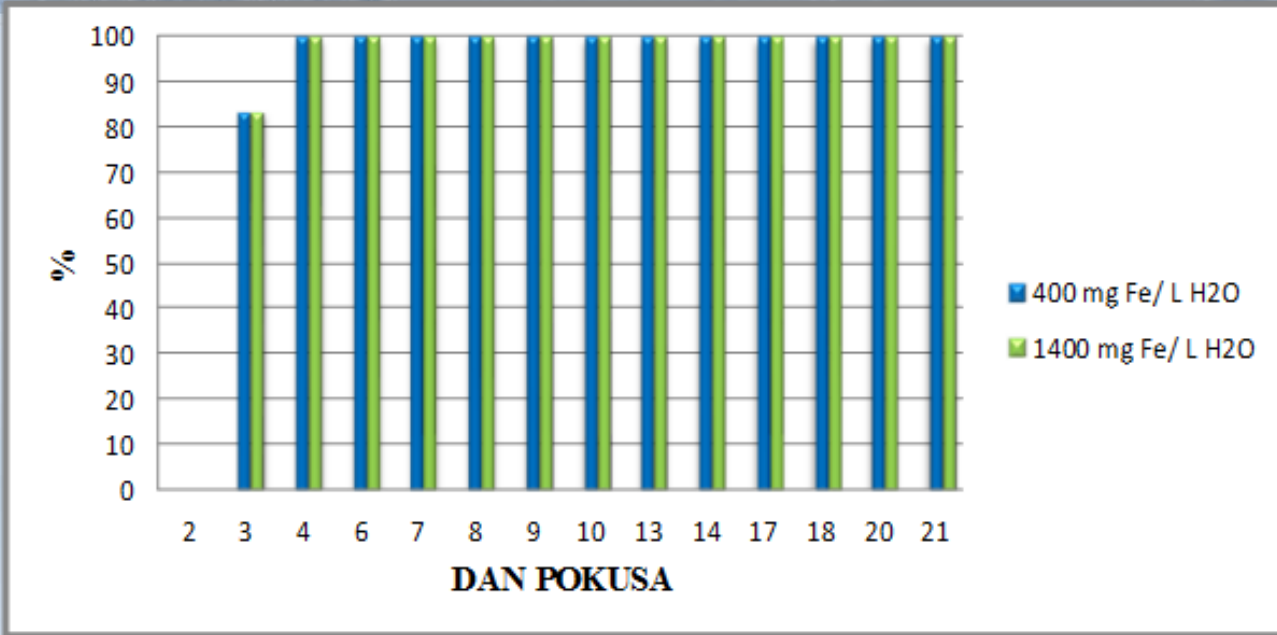




KONTROLA

# CV - *Chlorella vulgaris*

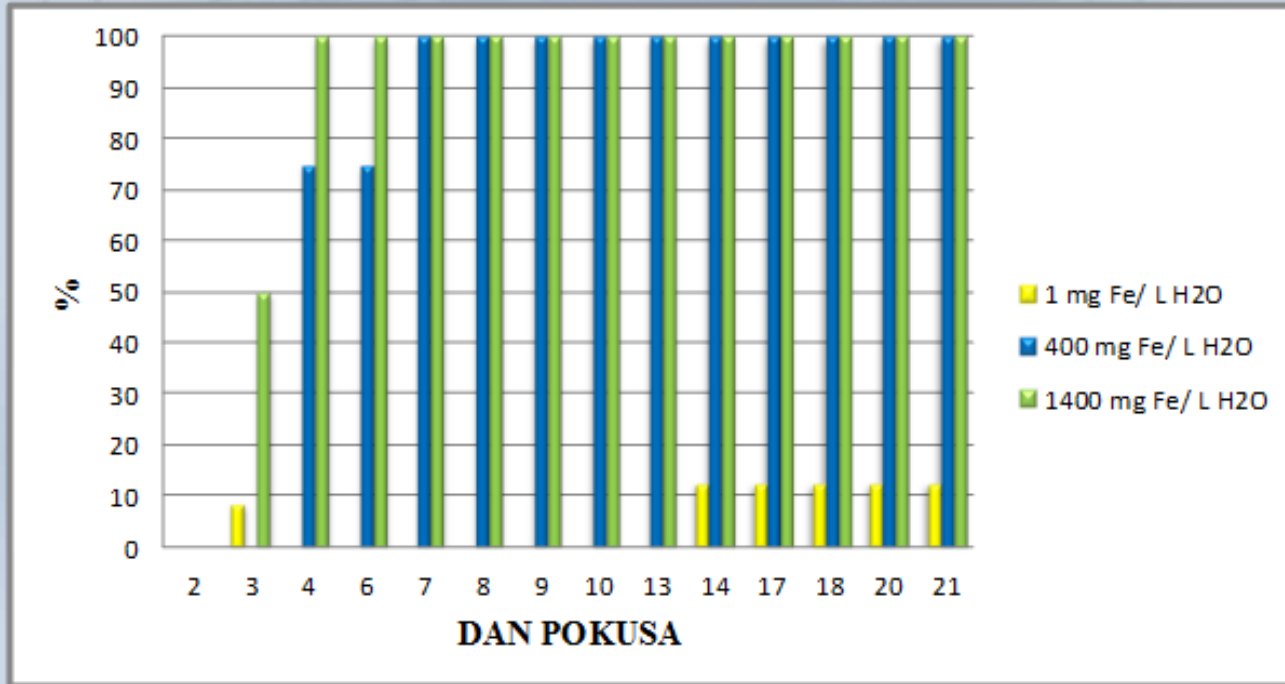
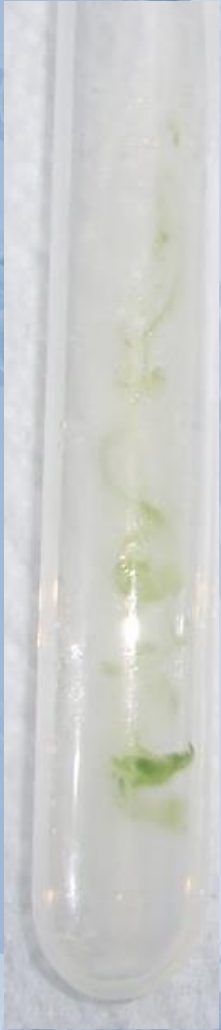
1400 mg Fe/L H<sub>2</sub>O



KONTROLA

CZ10 – *Mychonastes homosphaera*

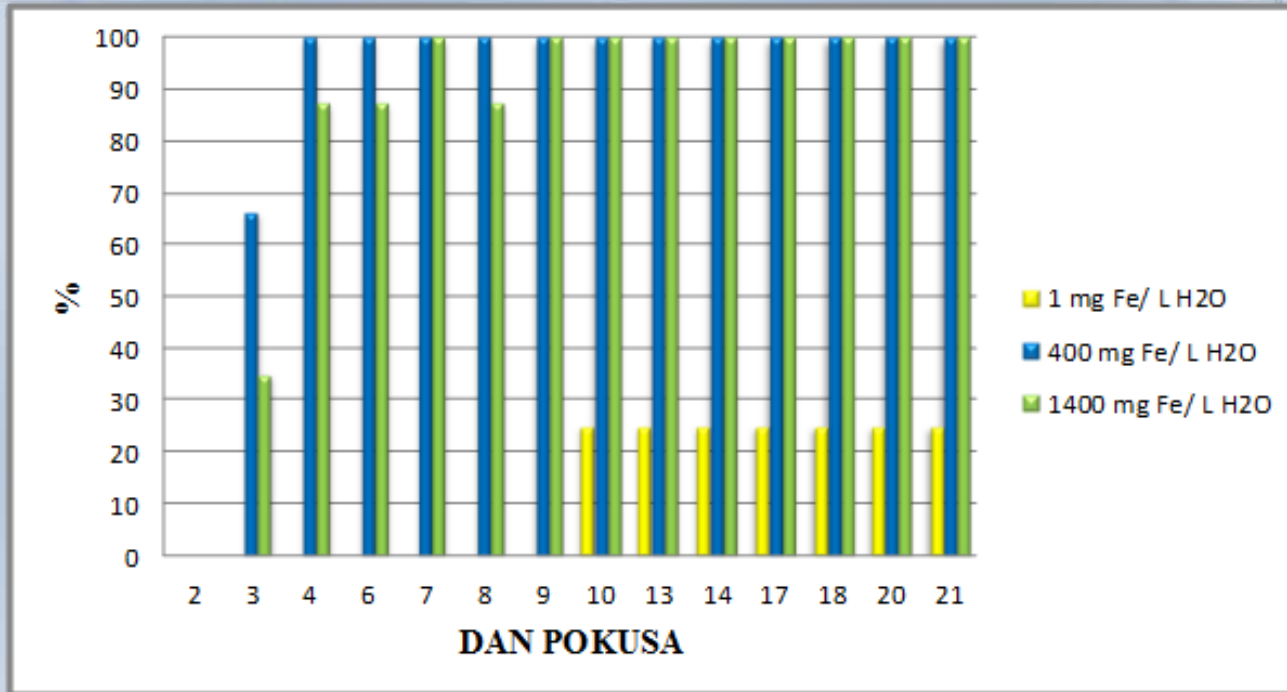
1400 mg Fe/L H<sub>2</sub>O



# CZ43 – *Desmodemus subspicatus*

KONTROLA

1400 mg Fe/L H<sub>2</sub>O



## SUŠENJE

	A	CV	CZ10	CZ43
KONTROLA	-	-	-	-
1 mg Fe/L H <sub>2</sub> O	-	-	+	+
400 mg Fe/L H <sub>2</sub> O	+	+	+	+
1400 mg Fe/L H <sub>2</sub> O	+	+	+	+

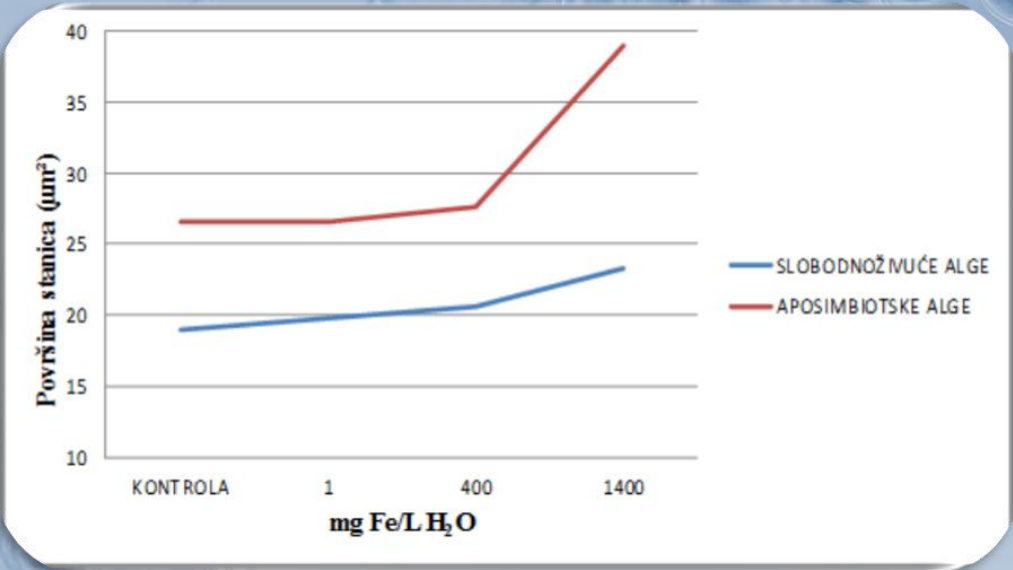




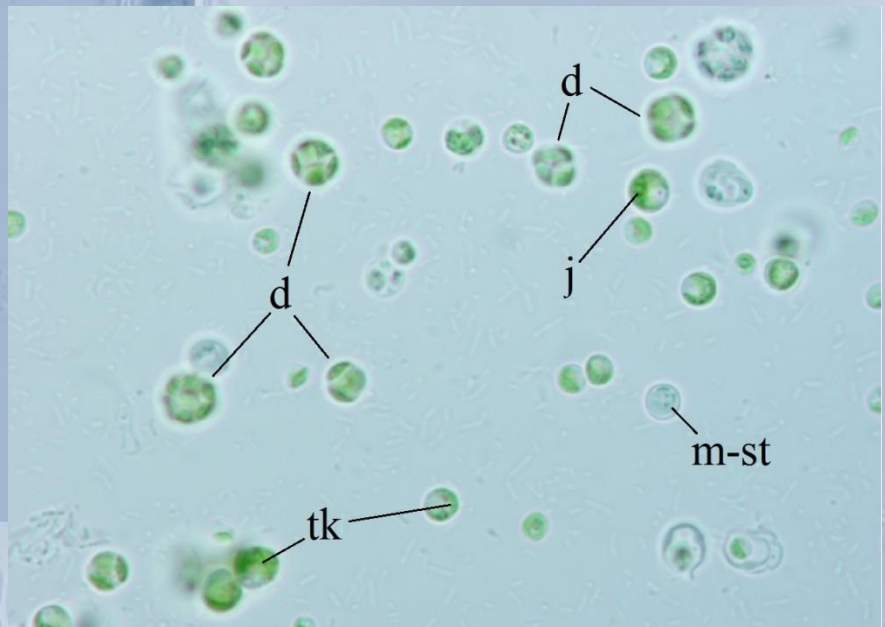
**MJEHURIĆI**

	A	CV	CZ10	CZ43
KONTROLA	-	-	-	-
1 mg Fe/L H <sub>2</sub> O	+	-	-	-
400 mg Fe/L H <sub>2</sub> O	+	+	+	-
1400 mg Fe/L H <sub>2</sub> O	-	+	+	-

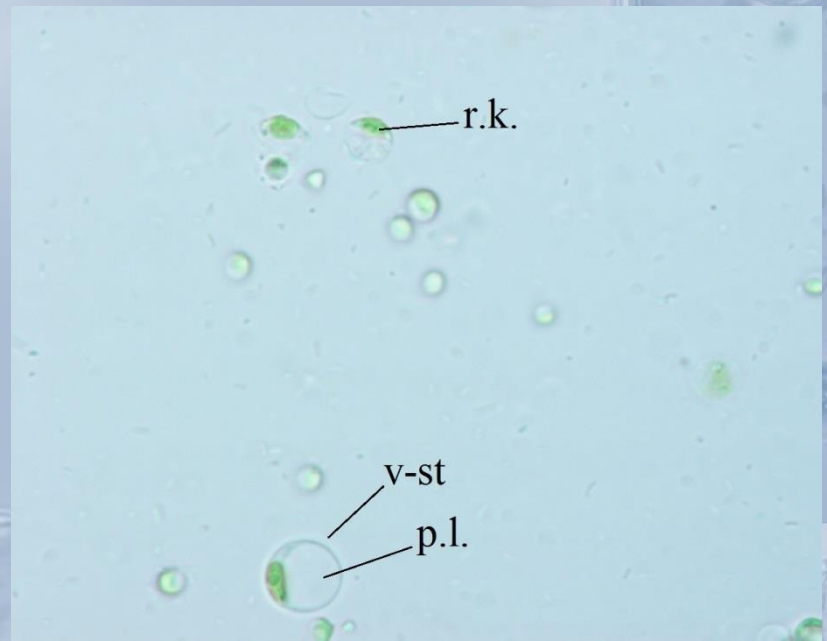




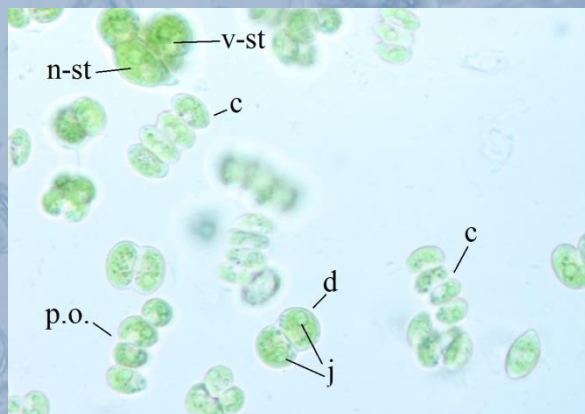
Željezo dovodi do oksidacijskog stresa: gubitak fluidnosti, opadanje vrijednosti membranskog potencijala, povećanje permeabilnosti prema ionima, moguće rupturu stanica.



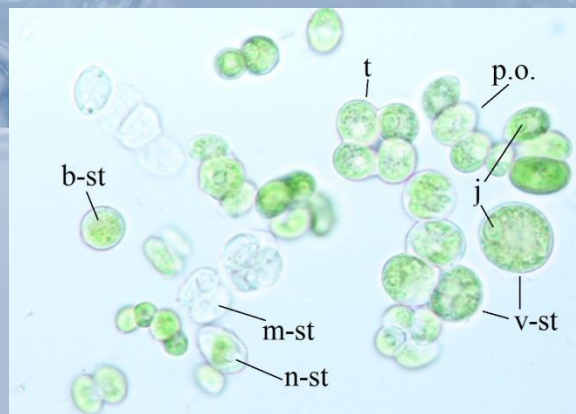
KONTROLA



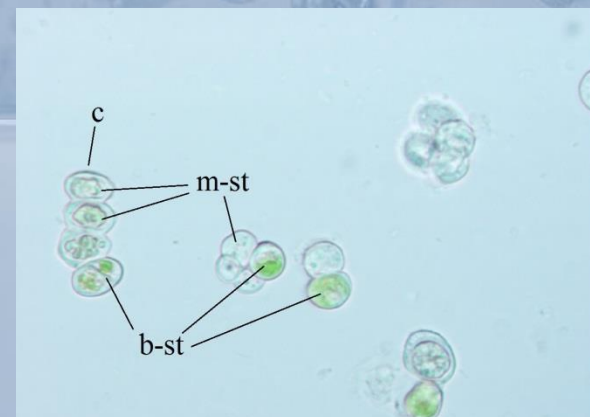
CZ10 – 1400 mg Fe/L vode



KONTROLA



CZ43– 1400 mg Fe/L vode



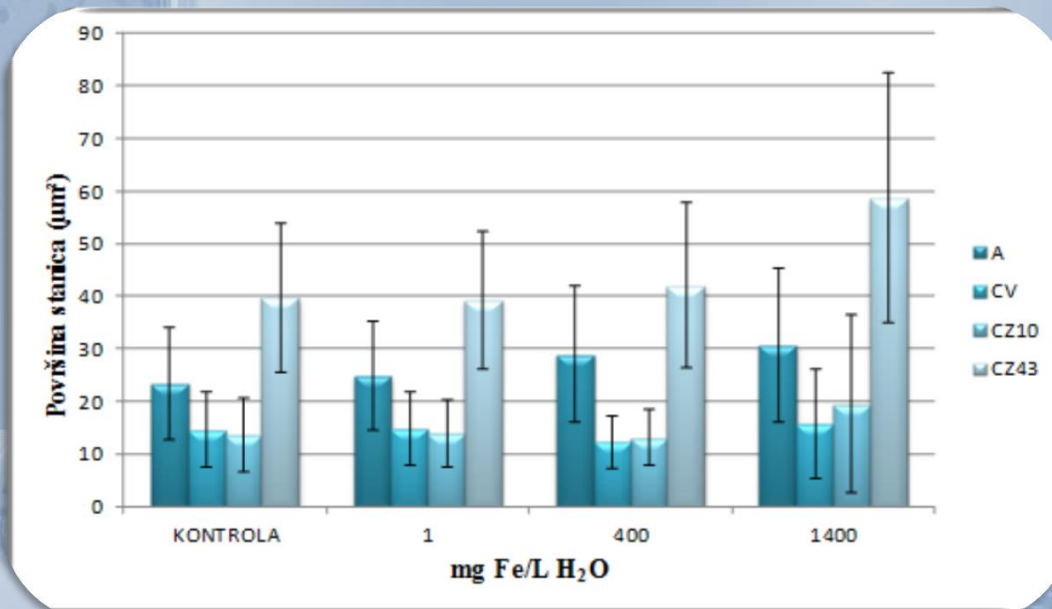
**CZ43 – *Desmodesmus subspicatus***

	TETRADE	CENOBIJ	PRIJELAZNI OBLICI
KONTROLA	+	++	+
1 mg Fe/L H <sub>2</sub> O	+	++	++
400 mg Fe/L H <sub>2</sub> O	++	+	+++
1400 mg Fe/L H <sub>2</sub> O	++	+	+++



Smanjenje promjera i površine stanica  
Pri koncentraciji od 1 mg Fe/ L vode.

A- *Chlorella kessleri* 1 mg Fe/ L vode



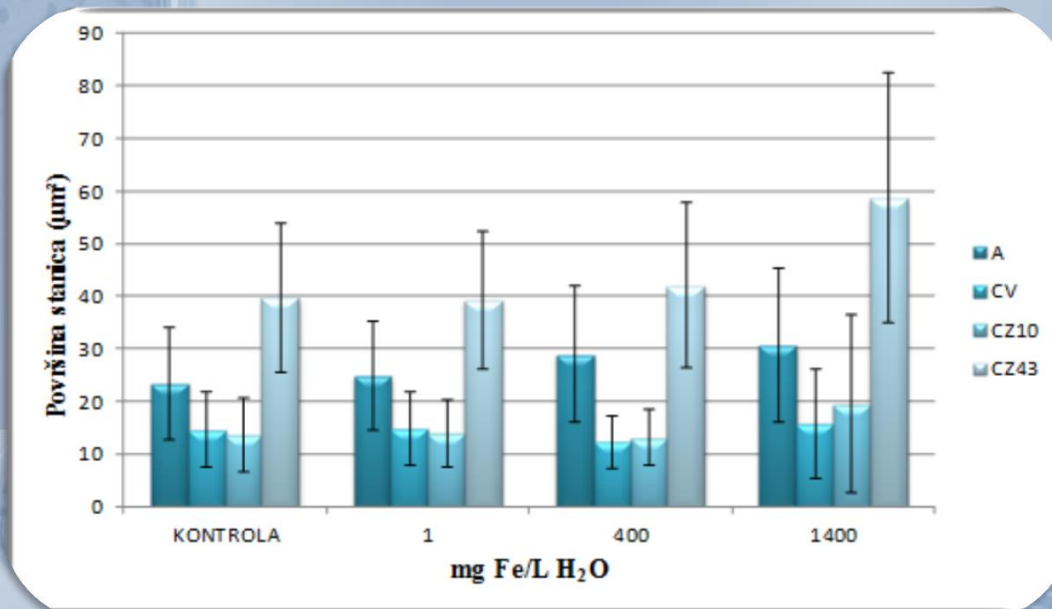




Smanjenje promjera i površine stanica  
Pri koncentraciji od 1 mg Fe/ L vode.

**Bolji rast kulture!**

A- *Chlorella kessleri* 1 mg Fe/ L vode



## MIKROSKOPSKA OPAŽANJA - MORFOMETRIJA

- Sve vrste istraživanih algi pokazale su inhibiciju rasta, povećanje veličine stanice, smanjenje intenziteta zelene boje kloroplasta pri visokoj koncentraciji željeza što dovodi do povećane smrtnosti stanica.

## MAKROSKOPSKA OPAŽANJA

– promjena intenziteta zelene boje/ sušenje/ mjehurići

- Izloženost kultura algi visokim koncentracijama željeza očituje se u obliku bijelih točkastih nakupina odumrlih stanica.

## CHLORELLA TEST- usporedba iste vrste pri različitim koncentracijama toksikanta.

- Povišenjem koncentracije željeza povećala se učestalost dioba stanica algi slobodnoživućih vrsta, ali te su diobe bile nedovršene ili deformirane.
- Povišenje koncentracije željeza dovodi do velikih deformacija oblika stanica i cenobija kod vrste *Desmodesmus subspicatus*

## - usporedba različitih vrsta pri istim koncentracijama toksikanta

- Aposimbotske vrste algi pokazuju višu osjetljivost na toksičnost željeza od slobodnoživućih vrsta
- Vrsta *Mychonastes homosphaera* bolje je prilagođena od vrste *Desmodesmus subspicatus* na nepovoljne uvjete u okolišu.

# CHLORELLA TEST

Lako utvrđivanje rasta/inhibicije rasta različitih vrsta mikroalga u zavisnosti s različitim koncentracijama toksikanata.

Brz, jednostavan, indikativan, jeftin i primjenjiv test toksičnosti u ekotoksikološkim istraživanjima preliminarnog učinka toksikanata i u uzgoju zelenih algi.

**HVALA NA PAŽNJI!**