

# Praćenje i procjena utjecaja zagađenja u tlu

---

Đurić, Antea

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:181:186423>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-26**



**ODJEL ZA  
BIOLOGIJU**  
Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

[Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Antea Đurić

**Praćenje i procjena utjecaja zagađenja u tlu**

Završni rad

Mentor:

doc. dr. sc. Sandra Ečimović

Osijek, srpanj 2018.

**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**

**Odjel za biologiju**

**Preddiplomski sveučilišni studij Biologija**

**Znanstveno područje: Prirodne znanosti**

**Znanstveno polje: Biologija**

## **PRAĆENJE I PROCJENA UTJECAJA ZAGAĐENJA U TLU**

**Antea Đurić**

MONITORING AND RISK ASSESSMENT OF SOIL POLLUTION

**Rad je izrađen na:** Zavod za zoologiju, Odjel za biologiju

**Mentor:** doc. dr. sc. Sandra Ečimović

### **Kratak sažetak završnog rada:**

Zagađenje tla raznim anorganskim i organskim spojevima predstavlja ozbiljan ekološki problem s kojim se suočava današnja populacija. Zbog stalnog unosa štetnih tvari u tlo postoji širok spektar izvora onečišćenja te širok spektar metoda i pristupa pri procjeni i praćenju onečišćenja tla. Provedena su mnoga istraživanja na različitim organizmima putem kojih se pokušava dobiti realnija slika o stanju tla. Gujavice su vrlo važni organizmi u ekosustavu tla s obzirom na njihovu ulogu u formiranju tla i raspadu organske tvari, a također se smatraju i izvrsnim indikatorima onečišćenja tla. Upotrebom biomarkera u biomonitoringu tla dobiva se uvid na koji su način organizmi pogođeni različitim zagađivačima prisutnim u okolišu, te predstavljaju odgovor na izloženost organizama ksenobioticima stoga su vrlo korisni pri procjeni utjecaja zagađenja.

**Broj stranica:** 20

**Broj slika:** 4

**Broj tablica:** 1

**Broj literaturnih navoda:** 23

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** okoliš, tlo, zagađivala, biomarkeri

**Rad je pohranjen:** na mrežnim stranicama Odjela za biologiju te u Nacionalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Nacionalne i Sveučilišne knjižnice u Zagrebu.

**BASIC DOCUMENTATION CARD****Bachelor thesis****Josip Juraj Strossmayer University of Osijek****Department of Biology****Undergraduate university study programme in Biology****Scientific Area:** Natural sciences**Scientific Field:** Biology**MONITORING AND RISK ASSESSMENT OF SOIL POLLUTION****Antea Đurić****Thesis performed at:** Subdepartment of Zoology, Department of Biology**Supervisor:** doc. dr. sc. Sandra Ećimović**Short abstract:**

Pollution of the soil with inorganic or organic compounds is a serious ecological problem that is facing our population. Due to constant influx of harmful material into the soil there are many different sources of pollution as well as many different methods and approaches to estimate and track soil pollution. Research has been done on many different organisms that may help get us a better idea about the condition of the soil. Earthworms are very important organisms in the ecosystem of the soil because of their role in soil formation and decomposition of organic matter, thus, they are considered great indicators of soil pollution. Use of biomarkers in biomonitoring of the soil indicates how different pollutants in the environment affect organisms and show how xenobiotics affect them so they are very useful in estimating the level of soil pollution.

Number of pages: 20

Number of figures: 4

Number of references: 23

**Original in:** Croatian**Key words:** environment, soil, pollutants, biomarkers**Thesis deposited:** on the Department of Biology website and the Croatian Digital Theses Repository of the National and University Library in Zagreb.

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	4
1.1. Tlo i onečišćenje tla .....	4
1.2. Izvori onečišćenja tla .....	5
2. METODE PRAĆENJA ZAGAĐENJA U TLU.....	9
2.1. Kemijske metode .....	9
2.2. Biološke metode .....	10
2.2.1. Bioindikatori.....	10
2.2.2. Biomarkeri .....	12
2.2.2.1. Acetilkinesteraza .....	12
2.2.2.2. Biotransformacijski enzimi .....	13
2.2.2.3. Antioksidacijski enzimi.....	14
3. ZAKLJUČAK.....	16
4. LITERATURA .....	17

## 1. UVOD

Tlo je rastresiti sloj na površini Zemlje, smješten između litosfere i atmosfere, nastao od matične stijene pod utjecajem čimbenika pedogeneze djelovanjem procesa pedogeneze. Tlo nastaje pod utjecajem mnogobrojnih čimbenika od kojih su najbitniji: matični supstrat, temperatura, voda, vjetar, kemijski agensi, biljke, životinje i sam čovjek. Različite značajke tla važne su za njegovu plodnost, odnosno sposobnost da osigura biljkama ključni proces a to je proizvodnja organske tvari (Sofilić, 2014).

Tlo je stanište mnogih biljnih i životinjskih organizama i temelj biološke raznolikosti, izvor vode i hrane, glavni medij kruženja elemenata u prirodi, a s obzirom da je u izravnom kontaktu s biosferom također je i akumulator različitih onečišćujućih tvari koje u njega dospijevaju iz atmosfere ili pod utjecajem čovjeka. Nagla industrijalizacija, urbanizacija i porast ljudske populacije i ljudske aktivnost utjecali su na proces onečišćenja i oštećenja tla. Velik broj zagađivala nakuplja se i zadržava u tlu, te na taj način mogu imati negativan utjecaj na organizme koji žive u tlu ili su usko vezani uz tlo, a posljedično tome i na hranidbene lance. Različita zagađivala procjeđivanjem kroz tlo mogu vrlo lako dospjeti i do podzemnih voda. Zagađenje tla predstavlja širok ekološki problem (Sofilić, 2014).

### 1.1. Tlo i onečišćenje tla

Tlo je rastresiti sloj Zemljine površine nastao kombiniranim djelovanjem pedogenetskih činitelja kao što su klima, reljef, vrijeme, organizmi, matični supstrat i pedogenetskih procesa koji obuhvaćaju trošenje primarnih minerala, utjecaj sinteze i razgradnje organske tvari, stvaranje sekundarnih minerala (Lončarić, 2014). Tlo se sastoji od organske tvari, vode, zraka i minerala, a udio tih komponenti utječe na fizikalna svojstva tla, uključujući teksturu, poroznost, boju tla i strukturu. Slika 1. prikazuje mehanički sastav tla odnosno kvantitativni odnos pojedinih sastavnica tla. Kemijska svojstva tla definirana su njegovim kemijskim sastavom, pH, sorpcijom i salinitetom. Tlo je prirodni sustav sastavljen od krute, tekuće i plinovite faze, određen je fizikalnim, kemijskim i biološkim svojstvima te je prirodni izvor vode i hrane, a također i medij filtracije i kruženja elemenata u prirodi.



Slika 1. Tlo je trofazni sustav sastavljen od krute, tekuće i plinovite komponente (Web 1)

Onečišćenje tla značajno se povećalo u posljednjem desetljeću kao posljedica prekomjerne upotrebe pesticida i herbicida u poljoprivredi, industrijske aktivnosti i nekontroliranog odlaganja urbanog otpada. Takva pojava povezana je sa stupnjem industrijalizacije pojedinih zemalja. Onečišćenje tla uzrokuje smanjenje plodnosti tla, promjenu strukture tla, poremećaj ravnoteže između flore i faune, zagađenje podzemne vode te je konstantna prijetnja živim organizmima (Lionetto i sur., 2002). Također se narušavaju važne ekološke funkcije tla kao što su raspad organske tvari, mineralizacija nutrijenata i sinteza humusne tvari. Stoga se javila potreba za iznalaženje metoda za procjenu i praćenje posljedica utjecaja takvih spojeva na ekosustave tla.

## 1.2. Izvori onečišćenja tla

Pojava onečišćenog tla posljedica je modernizacije i industrijalizacije društva pa se izvori onečišćenja tla nalaze u poljoprivredi, prometu, industriji, urbanim područjima, odlaganju otpada (Slika 2.) (Sofilić, 2014). Mnogi različiti poljoprivredni procesi doprinose onečišćenju tla, a gnojiva i pesticidi, kojima je uloga suzbijanje štetnih tvari, imaju i određene prednosti i nedostatke povezane s njihovom uporabom. Oba tipa kemijskih sredstava imaju tendenciju povećanja prinosa, i time značajno doprinose procesima proizvodnje hrane. S druge strane, mogu prouzročiti onečišćenje vode kada erozija nosi

kemikalije zajedno s erodiranim tlima nakon oborina. Prekomjerno korištenje umjetnih goriva, za razliku od prirodnih, iscrpljuje organsku tvar tla te se gubi sposobnost zadržavanja vode, uklanja mikroorganizme koji stvaraju humus i pomažu truljenju tvari, a ispiranje gnojiva s obradivih površina uzrokuje onečišćenje vodenih tokova (McCauley i sur., 2005).

Neki od glavnih zagađivača koji stvaraju zabrinutost zbog svoje uloge u onečišćenju tla, pogotovo s obzirom na njihovu perzistentnost u okolišu, su policiklički aromatski ugljikovodici (engl. *polycyclic aromatic hydrocarbons*, PAHs). To su organski spojevi koji nastaju nepotpunim izgaranjem fosilnih goriva i drugih organskih spojeva ili kao posljedica ljudske aktivnosti te vezanjem na čestice prelaze iz atmosfere u tlo. Iako se nalaze u niskim koncentracijama, zbog kancerogenog djelovanja i vrlo dugog zadržavanja u okolišu, posvećuje im se sve više pažnje. Postoji nekoliko skala kancerogenosti (Tablica 1.) čija se procjena aktivnosti temelji na postotku životinja i ljudi kod kojih je došlo do pojave tumora. Koncentracija policikličkih aromatskih ugljikovodika u tlu smanjuje se djelovanjem mikroorganizama. Njihovim djelovanjem dolazi do transformacije u jednostavne organske spojeve, ugljikov dioksid (CO<sub>2</sub>) i vodu (H<sub>2</sub>O) (Lugonić i sur., 2015).

PAU	NAS (ref. 4)	Lee (ref. 3)	IAQ (ref. 5)	IARC (ref. 6)
benzo(a)piren (BaP)	+++	++	+++	(+)
fluoranten (Flu)	-	-	-	-
piren (Pir)	-	-	-	-
antanren (Ant)	-	-	+	-
benzo(b)fluoranten (BbF)	++	++	+++	±
benzo(k)fluoranten (BkF)	-	++	+++	±
benzo(j)fluoranten (BjF)	++	++	+++	±
benzo(ghi)perilen (BghiP)	-	+	-	-
koronen (Kor)	-	-/+	-	-
benzo(b)kriken (BbKk)	-	-	-	-

- nije kancerogen  
+ elakto kancerogen  
++ (+++) vrlo kancerogen  
(+) vjerojatno kancerogen  
± moguće kancerogen

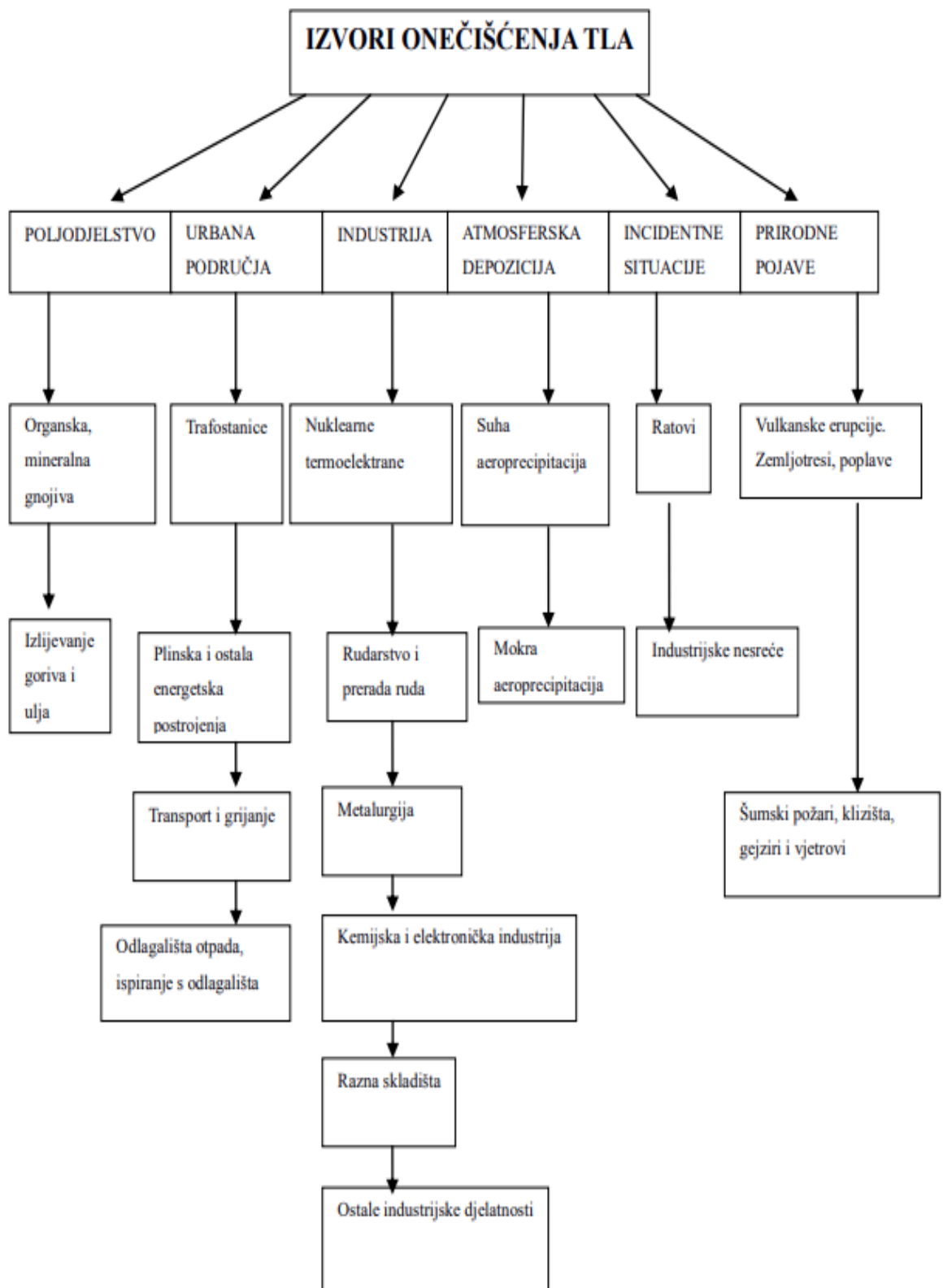
Tablica 1. Skala kancerogenosti pojedinih policikličkih aromatskih ugljikovodika. Preuzeto i prilagođeno prema (Šišović, 1995)

Iz zraka za tlo opasnost predstavljaju kisele kiše, oborine čija pH vrijednost iznosi u prosjeku 4 do 4,5. Znanstvenici su otkrili da je izgaranje fosilnih goriva glavni uzrok



nastanka kiselih kiša (Web 2). Pri procesima izgaranja nastaju sumporov dioksid ( $\text{SO}_2$ ), dušikovi oksidi i drugi kemijski spojevi. Ekološki učinci kiselih kiša najjasnije se odražavaju u vodenim ekosustavima, kao što su potoci, jezera i močvare gdje mogu biti štetni za ribu i druge vodene organizme. Dok prolazi kroz tlo, kisela kiša može ispirati aluminij sa čestica glinenih tla i onda teći u potoke i jezera. Što je više kiseline koja ulazi u ekosustav, više se aluminija oslobađa. Aluminij koji se oslobađa ima štetan učinak na biljke, životinje i podzemnu vodu, također aluminij uklanja minerale i nutrijente iz tla koji su potrebni biljkama za rast. Oslobađanjem teških metala u tlo, podzemnu vodu pa i pitku vodu čovjek se izlaže pojačanom unošenju teških metala u organizam (Web 2).

Značajnu ulogu u zagađenju tla imaju metali i metaloidi, i to putem emisija iz brzo rastućih industrijskih područja, minskih polja, područja zbrinjavanja metalnog otpada, olovnog benzina i boje, pesticida, gnojiva, kanalizacijskog mulja, navodnjavanja otpadnom vodom, ostacima izgaranja ugljena i prolijevanja petrokemikalija (Khan i sur., 2008). Teški metali predstavljaju skupine opasnih anorganskih kemijskih spojeva, a oni koji se mogu naći na zagađenim mjestima su olovo (Pb), krom (Cr), arsen (As), cink (Zn), kadmij (Cd), bakar (Cu), živa (Hg), te nikel (Ni). Tlo je glavni odvod teških metala koji su oslobođeni u okoliš kao posljedica ljudskih aktivnosti. Za razliku od organskih zagađivača koji se oksidiraju u ugljikov dioksid mikrobiološkom djelovanjem, većina metala ne prolazi mikrobiološku ili kemijsku degradaciju, a njihova ukupna koncentracija u tlima ostaje dugo vremena (Wuana i Okieimen, 2011). Teški metali prirodno nastaju u tlu procesom pedogeneze, a njihova količina mjeri se u tragovima i rijetko su toksični. Teški metali važni su jer su sposobni smanjiti proizvodnju usjeva, zbog rizika od bioakumulacije i biomagnifikacije u prehrambenom lancu. Postoji i rizik od onečišćenja površinskih i podzemnih voda. Sudbina i transport teških metala u tlu značajno ovise o kemijskom obliku i vrsti metala. Kad su u tlu, teški metali se u početku adsorbiraju brzim reakcijama, nakon čega slijede spore adsorpcijska reakcija, stoga se redistribuiraju u različite kemijske oblike s različitom bioraspoloživosti, mobilnosti i toksičnosti (Buekers i sur., 2007).

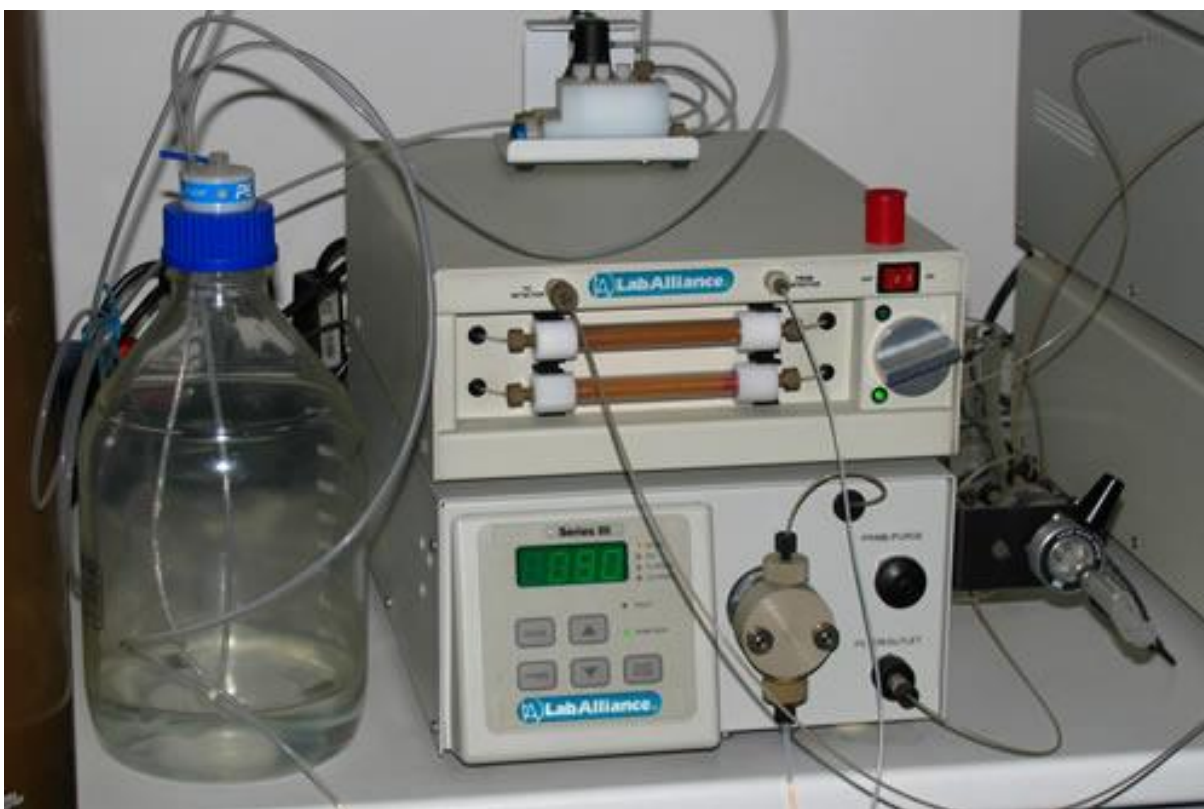


Slika 2. Izvori onečišćenja tla (Preuzeto i prilagođeno prema: Sofilić 2014)

## 2. METODE PRAĆENJA ZAGAĐENJA U TLU

### 2.1. Kemijske metode

Pri praćenju i procjeni zagađenja tla, vode ili zraka kemijskim metodama se mjeri koncentracija kemijskih ili toksičnih tvari prisutnih u tlu. Iako pružaju važne informacije, nedostatak im je što daju samo trenutčan uvid o koncentracijama pojedinih zagađivala prisutnih u tlu. Također je nedostatak visoka cijena i manjak instrumenata (Slika 3.), odnosno nizak prag osjetljivosti pojedinih instrumenata za provođenje analize, te kao najvažniji nedostatak je izostanak informacija o mogućem utjecaju na biološku komponentu. Ove metode obuhvaćaju mjerenja uz pomoć različitih instrumentalnih tehnika kao što su plinska kromatografija, masena spektrometrija, atomska adsorpcijska spektrofotometrija, fluorescentna spektroskopija i nuklearna magnetska rezonancija (NMR).



Slika 3. Kromatograf (Web 3)

## **2.2. Biološke metode**

Za razliku do kemijskih metoda kojima se mjere koncentracije različitih zagađivala u okolišu, biološkim analizama mjere se reakcije organizama na zagađenje, a različita raspoloživost kemijskih tvari u različitim medijima može dovesti do drukčijih reakcija organizma, bez obzira što su koncentracije u mediju iste. Također biološke metode daju informaciju nakon dužeg izlaganja organizma, a odgovor je najčešće proporcionalan količini zagađivala. Danas postoji velik broj različitih laboratorijskih testova kojima se mogu pratiti učinci i djelovanje zagađivala na stanice, tkiva, organe ili organizme u kontroliranim uvjetima.

### **2.2.1. Bioindikatori**

Bioindikatori se definiraju kao organizmi koji svojom prisutnošću ili odsutnošću te svojim ponašanjem pružaju informacije o uvjetima iz okoline. Prikladni su za dokazivanje prisutnosti i djelovanja toksičnih tvari u okolišu jer su osjetljiviji na štetne tvari od drugih organizama (Hamza-Chaffai, 2014).

Gujavice su važne komponente sustava tla, uglavnom zbog povoljnih utjecaja na strukturu i funkciju tla. Vrlo su važni organizmi u procesu stvaranja tla i raspada organske tvari, oni pridonose pedogenezi i profilu tla, utječu na fizička, kemijska i mikrobiološka svojstva tla i pridonose poboljšanju plodnosti tla formiranjem organske tvari u površinskom sloju tla (Rao i sur., 2003; Hackenberger i sur., 2015). Također, gujavice se smatraju izvrsnim biološkim pokazateljima onečišćenja tla i prikladni su organizmi za procjenu utjecaja ljudskih aktivnosti na tlo. U laboratorijskim testovima najčešće korištene vrste gujavica su *Eisenia fetida* (Slika 4.) i *Eisenia andrei*. (Weber, 2007).



Slika 4. Prikaz vrste kompostne gujavice (*Eisenia fetida*) (Web 4)

Uloga gujavica u raspadanju organske tvari i ciklusu hranjivih tvari povećala je interes njihove upotrebe kao indikatorskog organizma za biološki utjecaj zagađivača tla. Osim toga, manipulacija i rad s gujavicama relativno je jednostavna, a time je olakšano mjerenje različitih parametara životnog ciklusa, primjerice rast i reprodukcija, kao i nakupljanje i izlučivanje onečišćujućih tvari, te praćenje biokemijskih parametara. Dakle, gujavice su pogodni organizmi za ekotoksikološka istraživanja. Zbog posebne interakcije s tlom, značajno su pogođene različitim anorganskim i organskim zagađivačima prisutnim u tlu. Također zahvaljujući raznim mehanizmima mogu akumulirati i tolerirati visoke koncentracije metala poput kadmija, bakra, cinka i olova u kloragogenom tkivu. S obzirom da su gujavice izvor hrane za brojne životinje, osobito vodozemce, gmazove, ptice i sisavce, nakupljanje kemijskih onečišćenja kod gujavica doprinosi riziku prijenosa zagađivača na višu trofičku razinu (Lionetto i sur., 2002).

### **2.2.2. Biomarkeri**

Pojam biomarker ili biološki biljeg (engl. *biomarker*) označava mjerljiv biološki odgovor, specificiran na staničnoj ili molekularnoj razini, na izloženost organizma zagađivalu (Depledge, 1994; Kurelec, 1998). Biomarkeri koji odražavaju zdravstveno stanje organizama na nižim organizacijskim razinama (molekularni ili stanični) brzo reagiraju na stres, imaju visoku relevantnost i mogu se koristiti kao pokazatelji ranog upozorenja o promjenama u okolišu prije nego što se dogodi nepovratno oštećenje ekosustava. Oni koji odražavaju zdravlje na višim organizacijskim razinama (populacije, zajednice, ekosustavi) reagiraju puno sporije i imaju nižu toksikološku relevantnost, ali su ekološki važnija kategorija (Lopez-Barea, 1995). Za razliku od standardnih mjerenja koncentracija štetnih tvari u vodi, tlu ili zraku, prednost biomarkera je u tome što oni kvalitativno i kvantitativno ukazuju na status organizma čime dobiveni rezultati imaju veći biološki značaj. Biomarkeri daju pregled na koji su način organizmi pogođeni toksičnim tvarima prisutnim u okolišu, predstavljaju odgovor na učinak različitih zagađivala te se smatraju signalima ranog upozorenja i mogu se uspješno koristiti pri procjeni rizika od onečišćenja okoliša (Gastaldi i sur., 2007).

Upotreba biomarkera kod gujavica postaje sve važnija za procjenu i praćenje utjecaja zagađenja na organizme tla. Acetilkolinesteraza, katalaza i glutation-S-transferaza najčešće su korišteni molekularni biomarkeri zbog ključne uloge u sprječavanju toksičnog djelovanja kemikalija. Korištenje molekularnih biomarkera u praćenju stanja okoliša predstavlja važan alat za procjenu onečišćenja u različitim organizmima (Lionetto i sur., 2002).

#### **2.2.2.1. Acetilkolinesteraza**

Acetilkolinesteraza (AChE) ključan je enzim u živčanom sustavu, koji sudjeluje u prijenosu živčanih impulsa, a uloga mu je kataliziranje hidrolize neurotransmitera acetilkolina. AChE se snažno inhibira spojevima kao što su organofosforni pesticidi. Oni inhibiraju enzimsku aktivnost fosforiliranjem serinskog ostatka unutar aktivnog mjesta. Također, mogu nepovratno inhibirati AChE, što rezultira prekomjernim nakupljanjem

acetilkolina, što dovodi do hiperaktivnosti i na kraju oštećenja živčanog i mišićnog sustava. Acetilkolinesteraza predstavlja glavnu kolinesterazu gujavica (Lionetto i sur., 2002).

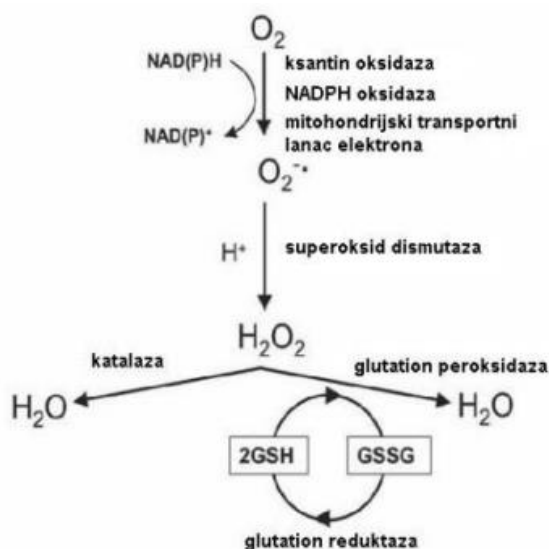
#### **2.2.2.2. Biotransformacijski enzimi**

Gujavice mogu biti izložene različitim zagađivalima kao što su npr. PAH-ovi i pesticidi za koje se zna da mogu djelovati (inducirati ili inhibirati) detoksikacijske enzime. U eukariota, proces detoksikacije organskih spojeva odvija se u dvije faze. Faza I obuhvaća enzimski sustav citokroma P450 i rezultira uvođenjem funkcionalne skupine, kao što je hidroksil ili sulfonil, u nepolarne spojeve. U nekim slučajevima metaboliti reakcije faze I su toksičniji od polaznog spoja. Enzimi faze II, kao što je glutation S-transferaza (GST), vežu duge polarne, u vodi topljive molekule na produkte metabolizma faze I kako bi pospješili izlučivanje i uklanjanje toksičnih tvari (Lionetto i sur., 2002).

Glutation transferaze (GST) čine skupinu multifunkcionalnih dimernih enzima, imaju važnu ulogu u ksenobiotičkom metabolizmu, pružaju zaštitu od oksidativnog stresa i prva su linija obrane organizma. GST neutralizira širok spektar egzogenih i endogenih metaboličkih supstrata kataliziranjem konjugacije reduciranog glutationa (GSH) sa spojevima koji sadrže elektrofilni centar formiranjem tioeterske veze između atoma sumpora GSH i supstrata (Hayes i sur., 2005). Konjugacija se odvija adicijom glutationa na dvostruku vezu, cijepanjem epoksidnog mosta ili supstitucijom halogena ili drugih odlazećih skupina. Konjugiranjem glutationa s elektrofilnim supstratima, molekule postaju manje reaktivne i više topljive u vodi, čime se olakšava njihovo izlučivanje iz stanica i organizma. Istraživanja su pokazala osjetljivost GST gujavica na metale i izloženost pesticidima. GST pripada biomarkerima faze II i imaju ulogu u održavanju homeostaze kao i u detoksikaciji i ekskreciji mnogih ksenobiotika (Modén i Mannervik, 2014).

### 2.2.2.3. Antioksidacijski enzimi

Poznato je da izlaganje bilo organskim ili anorganskim zagađivačima inducira oksidacijski stres u stanicama. Produkti metabolizma ksenobiotika su slobodni radikali, s druge strane izloženost metalima dovodi do stvaranja reaktivnih kisikovih vrsta (engl. *reactive oxygen species*, ROS) kao što je vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ), superoksid ( $O_2^{\cdot-}$ ) i hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ) radikala (Dazy i sur., 2009). Međutim, ROS nastaju i u živim organizmima kao produkt djelovanja staničnog metabolizma i okoliša (Birben i sur., 2012), a neke od glavnih puteva metabolizma spojeva kisika prikazuje Slika 5. U Kako bi se uklonile reaktivne kisikove vrste i izbjegla oksidacijska šteta na biološkim makromolekulama (lipidi, proteini ili DNA), stanice se štite enzimima i antioksidantima malih molekulskih masa, kao što je glutathion (Valavanidis i sur., 2006). Superoksid dismutaza, katalaza, glutathion peroksidaza i glutathion reduktaza važni su enzimski antioksidansi u odgovoru na oksidacijski stres: superoksid dismutaza metabolizira superoksidni anion ( $O_2^{\cdot-}$ ) u molekularni kisik i  $H_2O_2$ , koji se zatim deaktivira katalazom, čime se sprečava oksidacijsko oštećenje. Enzim glutathion reduktaza također igra važnu ulogu u staničnoj zaštiti reduciranjem glutathiona u oksidiranom obliku (GSSG) u GSH (reduciran i aktivan oblik). Izloženost organskim ili anorganskim zagađivačima može izazvati reakciju na stres u antioksidacijskim enzimima, što upućuje na njihovu moguću primjenu kao opće biomarkere za procjenu učinaka onečišćujućih tvari u ekosustavu tla u ranoj fazi i pri niskim koncentracijama. Primjerice, izloženost toluenu, etilbenzenu i ksilenu kod gujavice *Eisenia fetida* rezultirala je inhibicijom superoksid dismutaze i katalaze (Lionetto i sur., 2012).





Slika 5. Glavni putevi metabolizma spojeva kisika (Preuzeto i prilagođeno prema Atiken i Shaun, 2008)

### **3. ZAKLJUČAK**

Zbog stalnog oslobađanja štetnih tvari u okoliš, potrebno je detaljno poznavanje njihovog djelovanja na prisutne organizme upotrebom niza metoda koje se koriste za procjenu i praćenje zagađenja. Veliki broj metoda još je uvijek slabo istražen. Također, potrebno je više znanja usmjerenog na proučavanje toksičnosti kada na tlo djeluje kombinacija toksičnih tvari, jer su zagađivala u tlu prisutna najčešće, ne pojedinačno, nego u smjesama. Štoviše, kombinirana upotreba morfoloških, biokemijskih i genotoksičnih metoda u procjeni utjecaja toksičnih tvari na promatrane vrste pruža potpunije razumijevanje djelovanja onečišćenja na izloženim organizmima, osim što osigurava veću pouzdanost rezultata dobivenih u istraživanjima. Razumijevanje važnosti kombiniranog korištenja različitih metoda u procjeni zagađenja tla ima neizostavnu ulogu u ekotoksikološkim istraživanjima.

#### 4. LITERATURA

Aitken, R.J., Shaun, D.R. (2008). Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxid Med Cell Longev*, 15-24.

Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J* 5 pp. 9-19.

Buekers, J., Van Laer, L., Amery, F. (2007). Role of soil constituents in fixation of soluble Zn, Cu, Ni and Cd added to soils. *European Journal of Soil Science*, 58(6), pp. 1514-1524.

Dazy, M., Masfaraud, J.F., Féraud, J.F. (2009). Induction of oxidative stress biomarkers associated with heavy metal stress in *Fontinalis antipyretica* Hedw. *Chemosphere*, Volume 75, Issue 3, pp. 297-302.

Depledge, M.H. (1994). The rational basis to use of biomarkers as acotoxicological tools. In *Nondestructive Biomarkers in Vertebrates*, Fossi, M.C., Leonzio, C., Lewis publisher, USA pp. 271-295.

Gastaldi, L., Ranzato, E., Capri, F., Hankard, P., Pérès, G., Canesi, L., Viarengo, A. i Pons G. (2007). Application of a biomarker battery for the evaluation of the sublethal effects of pollutants in the earthworm *Eisenia andrei*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C, pp. 398–405.

Hackenberger, B.K., Velki, M., Lončarić, Ž., Hackenberger, D.K, Ečimović, S. (2015). Effect of different river flow rates on biomarker responses in common carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 112C, 153-160.

Hamza-Chaffai, A., (2014). Usefulness of bioindicators and biomarker in pollution biomonitoring. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*. 3, 19-26.

Hayes, J.D., Flanagan, J.U. i Jowsey, I.R., (2005). Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, pp. 51–88.

Khan, U.K., Zuberi, A., Nazir, S., Ullah, I., Jamil, Z., i Sarwar H. (2017). Synergistic effects of dietary nano selenium and vitamin C on growth, feeding, and physiological parameters of mahseer fish (*Tor putitora*). *Aqua R*, 70-75.

Kurelec, B. (1998). Biomarkers and the ecological risk assessment paradigm. *In: Modern aspects in monitoring of environmental pollution in the sea; Ed: E. Werner, G. Müller. Akademie gemeinnutziger Wissenschaften zu Erfurt.*

Lionetto, M.G., Calisi, A. i Schettino T. (2002). Earthworm Biomarkers as Tools for Soil Pollution Assessment, University of Salento - Dept. of Biological and Environmental Sciences and Technologies Italy, pp. 306-330.

Lončarić, Z. (2012). Plodnost tla i gnojidba, Zbornik radova 11. savjetovanja uzgajivača goveda u Republici Hrvatskoj.

Lopez-Barea, J. (1995). Biomarkers in Ecotoxicology: an Overview, Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Cordoba, Spain.

Lugonić, H., Rahmmani, Š., Mitrović, M. i Rešidović, N. (2015). Određivanje sadržaja PAH-ova i TPH-a u tlu na području posavskog kantona – Općina Odžak, Federalni zavod za agropedologiju.

McCauley, A., Jones, C. i Jacobsen, J. (2005). Basic Soil Properties, Management Module I, Montana State University, USA.

Modén, O. i Mannervik, B. (2014). *Advances in Cancer Research*, 199-244.

Rao, J.V., Pavan, Y.S., i Mad Avendra, S.S. (2003). Toxic effects of chlorpyrifos on morphology and acetylcholinesterase activity in the earthworm, *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 54, 3, 296-301.

Sofilić, T. (2014). Onečišćenje i zaštita tla, Sveučilište u Zagrebu, Metalurški fakultet.

Šišović, A. (1995). Raširenost policikličkih aromatskih ugljikovodika u okolišu i osobna izloženost ljudi, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb.

Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. i Scoullou, M. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, pp. 178-189.

Weber, G.B.C. (2007). The Role of Earthworms as Biological Indicators of Soil Contamination, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Faculty of Animal Husbandry and Biotechnology.

Wuana, R.A. i Okieimen, F.E. (2011). Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. ISRN Ecology, Volume 2011, 20 pages.

#### Web izvori

1.[http://www.pfos.unios.hr/upload/documents/OBsK\\_07%20Osnovne%20znacajke%20tla.pdf](http://www.pfos.unios.hr/upload/documents/OBsK_07%20Osnovne%20znacajke%20tla.pdf)

2.<https://www.epa.gov/acidrain/effects-acid-rain>

3.[https://www.google.hr/search?q=kromatograf&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjf8MXfxqrcAhWGCSwKHX6UDKkQ\\_AUICigB&biw=1366&bih=662#imgrc=vG\\_WKwOdPIJUWM](https://www.google.hr/search?q=kromatograf&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjf8MXfxqrcAhWGCSwKHX6UDKkQ_AUICigB&biw=1366&bih=662#imgrc=vG_WKwOdPIJUWM):

4.[https://www.google.hr/search?q=eisenia+fetida&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwivn8aryarcAhXByKQKHe\\_rAaAQ\\_AUICigB&biw=1366&bih=613#imgrc=tn\\_Z1tZFYMnYJM](https://www.google.hr/search?q=eisenia+fetida&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwivn8aryarcAhXByKQKHe_rAaAQ_AUICigB&biw=1366&bih=613#imgrc=tn_Z1tZFYMnYJM):