

# Toxicita

- Vodní prostředí je ekologický systém mimořádně ohrožovaný působením a kumulací řady cizorodých látek
- Do ekosystémů povrchových vod přicházejí nejen látky kontaminující, ale i látky používané v rybářství a vodním hospodářství
- Ekotoxická je jednou ze základních charakteristik chemických látek, přípravků a odpadů. Hodnocení této vlastnosti je u nás i v EU dáno legislativně.
- Zákon č.147/1996 Sb. O rostlinolékařské péči
- Zákon č.125/1997 Sb. O odpadech
- Zákon č.157/1998 Sb. O chemických látkách a chemických přípravcích ve znění vyhlášky č. 352/1999 Sb.

# Toxicita

- Hlavní pozornost je třeba věnovat látkám těžko rozložitelným a toxickým a rovněž látkám a přípravkům doporučeným v rybářství a vodním hospodářství k aplikaci do vodního prostředí
- Toxicita látek (přípravků, odpadních vod a odpadů) je stanovována pomocí testů toxicity.
- Testy toxicity mají nezastupitelnou úlohu nejen při hodnocení nových chemických látek zaváděných do praxe, ale i při hledání a usvědčování původců havárií ve vodách
- Testy toxicity na vodních organizmech se mohou provádět v podstatě na třech úrovních:
  - **na úrovni buněk a tkání**
  - **na úrovni organismů**
  - **na úrovni společenstev (biocenóz)**

# Toxicita

- **Postup při klasických testech toxicity:**
- Nejdříve se provádí tzv. **limitní test**, při kterém se zjišťuje reakce testovacích organismů na koncentraci **100 mg.l<sup>-1</sup>** testovaného vzorku.
- Jestliže v daném testu neuhyne žádný z testovaných organismů další testy se nevyžadují, v opačném případě nastupuje **předběžný test**.
- Předběžný test se provádí s malým počtem organismů (3 ks ryb, 10 ks dafnií) v každé koncentraci a nasazuje se na široké rozmezí testované látky (0,01-100 mg.l<sup>-1</sup>).

# Toxicita

- Na základě výsledků předběžného testu se volí užší rozsah koncentrací pro tzv. základní test, z jehož výsledků se potom vypočítává hodnota LC,EC,IC. Nasazuje se min. 7 ryb nebo 20 ks dafnií do každé koncentrace.
- Součástí každého testu je kontrola, která se provádí za stejných podmínek a se stejnými organizmy jako pokus.
- Jako ředící voda se používá voda známých fyzikálně-chemických vlastností.
- Správnost postupu a citlivost použitých organismů je nutné kontrolovat za využití standardu (většinou dichroman draselný).
- Vnější kontrola – ASLAB, akreditace (ČSN EN 45 000) – ČIA

# Toxicita

- Nutnost dodržovat zákony (č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání a vyhláška Mze ČR č. 311/1997 Sb. o chovu a využití pokusných zvířat)
- Hodnocení chemických látek a přípravků se provádí dle nařízení vlády č. 25/1998 a podle vyhlášky Mze ČR č.84/1997
- Testované látky a přípravky se označují z hlediska rizik

## R větami

- **R50: vysoce toxické pro vodní organizmy**

$$LC (EC, IC)_{50} \leq 1 \text{ mg.l}^{-1}$$

- **R51: toxické pro vodní organizmy**

$$1 \text{ mg.l}^{-1} < LC (EC, IC)_{50} \leq 10 \text{ mg.l}^{-1}$$

- **R52: škodlivé pro vodní organizmy**

$$10 \text{ mg.l}^{-1} < LC (EC, IC)_{50} \leq 100 \text{ mg.l}^{-1}$$

- Rozhodující je zjištěná hodnota pro nejcitlivější druh organismu

# Toxicita

- Základní pojmy v toxikologii:
- **LC50** – koncentrace testovaného vzorku, která vyvolá úhyn 50% testovaných organismů (ryb) (24hLC50, 48hLC50, 96hLC50)
- **EC50** – koncentrace testovaného vzorku, která způsobí úhyn nebo imobilizaci 50% testovaných organismů (dafnií) (24hEC50, 48hEC50)
- **IC50** – koncentrace testovaného vzorku, která způsobí 50% inhibici růstu testovaného organismu ve srovnání s kontrolou (okřehek) (72hIC50, 168hIC50)
- **LOEC** – (lowest observed effect concentration) nejnižší koncentrace testovaného vzorku, při které jsou pozorovány účinky na testovaný organismus
- **NOEC** - (no observed effect concentration) nejvyšší koncentrace testovaného vzorku, při které nejsou pozorovány účinky na testovaný organismus

# Toxicita

- Testy na **buněčných strukturách** jsou využívány především pro teoretické objasnění účinku toxické látky
- Výhodou je vysoká citlivost, nízké finanční a časové nároky
- Nevýhodou je nemožnost suplovat enzymaticko-imunitní systém živého organismu
- Primární buněčné kultury se získávají z jednotlivých tkání ryb (nestandardní, nízká reprodukovatelnost), v současnosti se využívají stabilní buněčné linie (snadné rozpěstování, uchování v hibernovaném stavu, reprodukovatelné)

# Toxicita

- Nejznámější stabilní buněčné linie používané v testech toxicity:
  - RTG-1 (fibroblasty gonád pstruha duhového)
  - R-1 (fibroblatické buňky jater pstruha duhového)
  - PLHC-1 (jaterní buňky *Poeciliopsis lucida*)
  - EPC (epithelioma papillosum cyprini)
- Vyhodnocení testů buď přímo posouzením celkového počtu uhynulých buněk a rozsahu cytopatických efektů (časově náročné, subjektivní chyba)
- Nebo nepřímo pomocí fyziologických reakcí buněk hodnocených na základě barevných reakcí (časová nenáročnost, možnost standardizace a miniaturizace)



# Toxicita

- Tyto testy jsou používány pro hodnocení toxicity chemických látek, odpadních vod a tuhých průmyslových odpadů
- Výsledky testů na buněčných strukturách jsou v řadě případů shodné s testy na živých organizmech
- Většina testů se provádí na **úrovni organismů** i přes určité potíže s reprodukovatelností a s rizikem při interpretaci získaných výsledků na přírodní podmínky
- Tyto testy jsou používány pro hodnocení akutní a chronické toxicity chemických látek a přípravků, odpadních vod, tuhých průmyslových odpadů, sedimentů, diagnostice otrav ryb, sledování hodnot reziduí ve vodě

# Toxicita

- Výběr organismů je prováděn tak, aby byly postiženy všechny trofické úrovně ve vodním prostředí (bakterie, řasy, planktonní organizmy a ryby)
- Odpověď jednotlivých organismů na toxin není jednotná, nikdy by se neměly dělat závěry z testování pouze na jednom organismu
- Zapojením většího počtu testovacích organismů roste informace o zkoumaném vzorku a zvyšuje se výpovědní hodnota metody

# Toxicita

- Rozeznáváme tři generace biotestů na vodních organizmech:
  - 1. generace – tzv. klasické (standardní, konvenční) biotesty
  - 2. generace – mikrobiotesty (alternativní testy toxicity)
  - 3. generace – biosenzory nebo biosondy
- V ČR jsou doporučovány 3 konvenční testy metodicky identické s evropskými ISO a OECD normami:
  - 48 až 96 hodinový akutní test toxicity na rybách (*Poecilia reticulata*, *Brachydanio rerio* a další druhy ryb)
  - 24 až 48 hodinový imobilizační test na perloočkách (*Daphnia magna*)
  - 72 hodinový růstově inhibiční test na řasách (*Raphidocelis subcapitata*, *Scenedesmus subspicatus* a *S. quadricauda*)

# Toxicita

- Ekonomicky náročné, nutné zdravé a homogenní kultury
- Mikrobiotesty jsou vhodná alternativa – miniaturizace, zkrácení doby inkubace (24 hodin až několik minut), možnost udržovat organizmy dlouhodobě (klidová stadia, lyofilizované, imobilizované)
- 3. generace testů ve vývoji, předpoklad uplatnění zejména v on-line monitorovacích systémech a screeningových testech toxicity
- **Testy toxicity na bakteriích** – v ČR zatím nejsou v normách zahrnuty pouze v oblasti čistírenství je využíván test na inhibici spotřeby kyslíku a inhibici nitrifikace organismů aktivovaného kalu

# Toxicita

- Nejpoužívanější test v ekotoxikologii je BBTT (Microtox)- bakteriální bioluminizační test toxicity
- Test využívá lyofilizovaných kultur světélkující mořské bakterie *Photobacterium phosphoreum*
- Další bakteriální biotesty: (Toxi-Chromotest, Toxi-Chromopad) využívají kmen *Escherichia coli*, který je citlivý k pesticidům, mykotoxinům a těžkým kovům
- POLYTOXKIT – využívá směs bakterií z aktivačních nádrží a pomocí kyslíkové elektrody se měří úbytek O<sub>2</sub> za přítomnosti toxikantu
- Některé testy využívají jako testovací organismus *Bacillus sp.*

# Toxicita

- **Testy toxicity na řasách** – náročné na preciznost a vybavení laboratoře, v současnosti odklon od klasických lahvových testů a rozvoj testů ve zkumavkách a serologických destičkách.
- Klasický test kultivace probíhá v E-baňkách 250 ml uzavřených zátkami propouštějící vzduch, objem suspenze je 70 ml, živné médium je ISO.
- Růst kultury *Raphidocelis subcapitata*, *Scenedesmus subspicatus* nebo *S. quadricauda* je měřen každých 24 hodin jako OD (optical density) při 750 nm nebo počítacem částic. Doporučuje se kontinuální míchání probubláváním nebo na třepačce.

# Toxicita

- Testy ve zkumavkách nejčastěji využívají 2,5 ml plastické zkumavky, míchání 1x denně a růst řas je determinován počítačem částic nebo nefelometricky.
- V současnosti jsou vyvíjeny další řasové testy ve zkumavkách.
- Testy v sérologických destičkách nejčastěji s jamkami 4 ml nebo 250  $\mu$ l, kdy růst je měřen počítačem částic nebo čtecím zařízením pro SD při 750 nm popř. s fluorescenčním nástavcem.
- Algaltoxkit – nová forma testu, kdy řasy jsou imobilizovány do speciální matrice ve které mohou setrvávat několik měsíců bez ztráty životaschopnosti. Matrice je v 10 cm polystyrénových kyvetách, test odpovídá směrnici OECD č. 201.

# Toxicita

- V poslední době se stále častěji využívají i fyziologické a biochemické řasové testy toxicity, které sice ignorují vliv polutantů na růst řas, ale zato nejsou ovlivněny trofickými poměry testovaného vzorku.
- Nejvíce se prosazují testy založené na fixaci CO<sub>2</sub> a na iniciaci variabilní fluorescence chlorofylu.
- **Testy toxicity na vodních bezobratlých** – velmi různorodý soubor organismů s rozdílnou citlivostí k různým látkám.
- Nejvýznamnějšími testovacími organizmy jsou buchanky, nitěnky a perloočky, které patří mezi nejcitlivější vodní organizmy k většině cizorodých látek.



# Toxicita

- Využívá se 24 (48) hodinový imobilizační test na perloočkách, kdy se hodnotí procentuální zastoupení dafnií neschopných pohybu a 14denní reprodukční test, kdy se stanovuje vliv látky na mortalitu a reprodukční schopnost dafnií.
- V současnosti jsou ve světě i u nás používány testy druhé generace využívající klidová stadia bezobratlých
- Testovací organizmus je vylíhnut z klidových stadií (cyst, efií) během 20-24 hodin, pak proběhne 24 hodinový akutní test při teplotě 25 °C, kritériem hodnocení je mortalita.
- Testy jsou k dispozici v kompletním komerčním balení.

# Toxicita

- V současnosti jsou nejvíce využívány tyto testy toxicity:
- Thamnotoxkit F - využívá jako testovací organismus nižšího korýše *Thamnocephalus platyurus*. Tento test lze využívat jako alternativu ke konvenčnímu testu s perloočkami.
- Rotoxkit F - využívá jako testovací organismus vířníka *Brachionus calyciflorus*. Zajímavý test pro ČR, protože testovaný vířník je běžnou součástí našich ekosystémů.
- Daphtoxkit – pracuje s klidovými stadii perloočky *Daphnia magna* (v roce 1996 těsně před dokončením).

# Toxicita

- **Testy toxicity na rybách** – prvořadá pozornost vodní toxikologie.
- Direktivy EHS a OECD (metodika v ČR je v podstatě shodná) uvádí jako testovací organizmy 8 druhů ryb mezi nimi *Brachydanio rerio*, *Poecilia reticulata*, pstruh duhový a kapr obecný.
- Srovnávací testy jednotlivých druhů akvarijních ryb a pstruha duhového zjistily vyšší citlivost k polutantům u *B. rerio* ve srovnání s *P. reticulata*. Také samice *P. reticulata* jsou citlivější k polutantům ve srovnání se samci téhož druhu.

# Toxicita

- V porovnání s akvarijními rybami vyplynula výrazně vyšší citlivost Pd k polutantům. Z toho důvodu není možné nahradit velmi citlivé, ale náročné testy na Pd testy na akvarijních rybách.
- Akutní testy toxicity jsou prováděny po dobu 24 až 96 hodin ve statických, semistatických nebo průtočných podmínkách. Stanovení hodnoty LC50 se provádí pomocí probitové analýzy.
- Prolongovaný test toxicity (směrnice OECD č. 204) - jde o 14denní semistatický nebo průtočný test (výsledek 14dLC50).
- V posledním období je tento test vyžadován i u nás, především u výrobků exportovaných do států západní Evropy.

# Toxicita

- Za účelem zvýšení citlivosti se začaly k testům toxicity využívat raná vývojová stadia ryb tzv. embryolarvální testy (směrnice OECD č. 201)
- Pro sledování dlouhodobého působení toxických látek jsou zaváděny chronické testy toxicity, kdy výsledkem je hodnota nejvyšší přípustné koncentrace (NPK)
- Výsledky z posledních let ukazují, že nejvyšší vypovídací schopnost o vlivu toxikantů na ryby mají:
  - histopatologická vyšetření tkání ryb
  - stanovení reziduí v tkáních ryb
  - imunotoxikologická odezva ryb

# Toxicita

- Histopatologické vyšetření tkání je zaměřeno především na játra, ledviny, slezinu, žábra a mozek ryb. Změny na orgánech nejsou specifické pro individuální typ kontaminace, ale poskytnou informaci o působení celého komplexu polutantů.
- Imunitní odezva ryb na působení toxikantů byla doposud sledována velmi sporadicky a vliv těchto látek na mechanismy imunitní odpovědi ryb je velmi málo znám.
- Mezi užívané metody posouzení úrovně nespecifické imunitní odpovědi ryb patří stanovení počtu leukocytů a leukogramu, měření fagocytární aktivity, stanovení celkového množství imunoglobulinů v séru, stanovení lysozymu v séru a řada dalších.

# Toxicita

- **Testy na úrovni biocenóz** – výhodou je, že toxický účinek sledujeme v přírodě samotné, nevýhodou, že změny ve složení biocenóz nemusí být vyvolány přímým účinkem sledovaného polutantu.
- Testy se využívají především při sledování vlivu látek a přípravků aplikovaných do vodního prostředí (farmaka, dezinfekční prostředky, medikovaná krmiva aj.) a rovněž k sledování úbytku reziduí těchto látek.
- Druhou formou testů na úrovni biocenóz je sledování dlouhodobě znečišťovaných lokalit (např. těžkými kovy).

# Toxicita

- V těchto případech je prováděno průběžné chemické a biologické monitorování jednotlivých složek ekosystému (sedimenty dna, zoobentos, nárosty a ryby).
- K opakované kontrole obsahu polutantů jsou určeny tzv. indikátorové druhy, většinou jde o druhy nejrozšířenější.
- Biologický monitoring se v současné době začíná více využívat, jeho výhodou je schopnost vypovídat o vlivu polutantů v celém komplexu, se všemi synergistickými a antagonistickými vlivy.



# Toxicita

- U ryb existuje široké rozmezí fyziologických hodnot hematologických a biochemických ukazatelů a většinou nelze prakticky odlišit, zda se jedná o změny fyziologické nebo o změny vyvolané působením různých polutantů.
- Proto jsou hledány takové „biomarkery“, které by intenzivně odrážely vliv znečišťujících látek a přitom by výrazně nepodléhaly fyziologickému kolísání.
- Začínají se využívat tyto biomarkery:
  - Stanovení hladiny methemoglobinu v krvi ryb
  - Stanovení kolagenu v páteři ryb
  - Test mikrojadér (MNT)
  - Hodnocení ukazatelů nespecifické odolnosti ryb
  - Sledování biomarkerů oxidativního stresu u ryb
  - Cytochromy P450

# Toxické látky ve vodách

- Kovy a jejich soli
- Ve stopových množstvích jsou přirozeného původu
- Hlavním zdrojem znečištění vod jsou průmyslové odpadní vody a atmosférické srážky
- Mechanismus toxického působení kovů je různý, nejčastěji působí jako enzymové jedy.
- Toxicita jednoduchých iontů je výraznější než komplexních sloučenin.
- Způsobují především poškození pohlavních orgánů a raných vývojových stadií ryb.
- Mají značnou schopnost akumulace v sedimentech, vodní flóře a fauně.

# MĚĎ

- Měď se v přírodních vodách zpravidla nevyskytuje
- V přírodě je vázána na různé rudy a minerály, jako jsou její sulfidy (chalkopyrit  $\text{CuFeS}_2$ , chalkosin  $\text{Cu}_2\text{S}$ ) a zásadité uhličitany (malachit a azurit).
- Rozpouštění je podporováno zvýšeným množstvím dusičnanů ve vodě. V bezkyslíkatém prostředí k rozpouštění mědi nedochází. Vzrůst pH k hodnotě 8 při fotosyntéze působí prudký pokles rozpustnosti mědi.
- Ve vodě s vyšší koncentrací organických látek vytváří měď nerozpustné komplexní sloučeniny, ve vodě s vyšším pH málo rozpustné hydroxidy, ve vodě s vysokou alkalitou vytváří málo rozpustný  $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2$ .
- Větší koncentrace iontů  $\text{Cu}^{2+}$  se může vyskytnout jen v kyseljším prostředí.

# MĚĎ

- Měď je velmi toxická vůči rybám i jiným vodním živočichům - toxický účinek na ryby se projevuje již při koncentraci kolem  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$  Cu (lososovité ryby a juvenilní stádia všech druhů jsou pak vůči mědi výrazně citlivější).
- Nejvyšší přípustná koncentrace mědi ve vodě vzhledem k bezpečnosti pro ryby je  $0,001-0,01 \text{ mg.l}^{-1}$  v závislosti na fyzikálně chemických vlastnostech vody.
- Dle zákona č. 61/2003 je max. přípustná hodnota znečištění povrchových vod mědí  $30 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$ .
- Hodnota  $\text{LC}_{50}$   $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  pro kapra
  - Rybníční voda  $8,1 \text{ mg.l}^{-1}$
  - Studniční voda  $1,5 \text{ mg.l}^{-1}$
- Měď se kumuluje v žábřácích ryb (diagnostika otrav)

# ZINEK

- Otravy zinkem nejčastěji v chovech lososovitých ryb
- Letální koncentrace se pohybují kolem  $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$  u lososovitých a  $1-10 \text{ mg.l}^{-1}$  u kaprovitých ryb.
- Toxicita zinku je podobně jako u mědi výrazně ovlivněna fyzikálně chemickými vlastnostmi vody.
- K zabránění otrav je nutno vyloučit především v chovech lososovitých ryb pozinkované nářadí, nádoby a pro vedení přírodní vody pozinkované potrubí.
- Při koupelích v NaCl v pozinkovaných nádobách se uvolňuje toxický  $\text{ZnCl}_2$ .
- Dle zákona č. 61/2003 je max. přípustná hodnota znečištění povrchových vod zinkem  $200 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$ .

# RTUŤ

- Přírodní vody obsahují jen stopová množství rtuti. Koncentrace v našich řekách kolísá v rozmezí 0,01- 0,2  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . V mořské vodě jen 0,0004-0,002  $\mu\text{g.l}^{-1}$ .
- Rtuť přechází z vody do sedimentů dna, kde se hromadí nejčastěji ve formě sulfidu.
- Ve vodách dochází k chemickým přeměnám jednotlivých forem rtuti. Účinkem bakterií a mikroskopických hub dochází k biomethylaci na toxičtější formy (methylrtuť, dimethylrtuť).
- Tyto látky se ve zvýšené míře kumulují ve vodních organizmech. Asi 90% rtuti obsažené v rybách je methylováno a je tudíž toxické. Poločas vylučování methylrtuti z organismu ryb je 2,5 roku.

# RTUŤ

Obsah celkové rtuti v základních složkách ekosystému řeky Berounky.

Vzorek	Jednotka	Rtuť
voda	$\mu\text{g.l}^{-1}$	0,03 – 0,16
sedimenty dna	$\text{mg.kg}^{-1}$ sušiny	0,18 – 3,66
makrovegetace	$\text{mg.kg}^{-1}$	0,005 – 0,062
vláknité řasy	$\text{mg.kg}^{-1}$	0,005 – 0,024
larvy jepic	$\text{mg.kg}^{-1}$	0,02 – 0,06
larvy chrostíků	$\text{mg.kg}^{-1}$	0,02 – 0,06
pijavky	$\text{mg.kg}^{-1}$	0,03 – 0,09
ryby ostatní	$\text{mg.kg}^{-1}$ svaloviny	0,10 – 0,30
parma	$\text{mg.kg}^{-1}$ svaloviny	0,30 – 0,50
ryby dravé	$\text{mg.kg}^{-1}$ svaloviny	nad 0,50

# RTUŤ

- Rtuť se do ryb dostává přes trávicí ústrojí, kůži a žábra.
- Rtuť se kumuluje prakticky ve všech orgánech a tkáních, ve vyšších koncentracích poškozuje některé tkáně a má škodlivý vliv na reprodukci.
- Dle zákona č. 61/2003 je max. přípustná hodnota znečištění povrchových vod rtutí  $0,1 \mu\text{g.l}^{-1}$ .
- Intoxikace lidí po požití kontaminovaných ryb je nejčastěji popisována z Japonska.
- Největší epidemií byla tzv. Minamata nemoc; otravu sloučeninami rtuti vyvolaly ryby z řeky Minamata; do roku 1974 onemocnělo více než 700 lidí a 41 zemřelo.
- Postižen je nervový systém, dostavují se duševní poruchy, třes rukou, poruchy vidění atd.



# RTUŤ

- Ryby obsahovaly 5 až 20 mg methylrtuti v 1 kg ryby. Bylo vypočítáno, že příjem 1,5 mg methylrtuti za den představuje pro člověka letální dávku.
- Průměrný obsah v mořských rybách je obvykle pod 0,1 a téměř vždy pod 0,15 mg.kg<sup>-1</sup> Hg, ve sladkovodních rybách pod 0,2 mg.kg<sup>-1</sup>.
- Komise expertů FAO/WHO pro cizorodé látky doporučila týdenní ještě tolerovaný příjem rtuti na osobu 0,3 mg a z tohoto množství maximálně 0,2 mg methylrtuti.
- V ČR platí pro nedravé sladkovodní ryby max. přípustná koncentrace rtuti 0,1 mg.kg<sup>-1</sup> svaloviny, pro ryby dravé 0,5 mg.kg<sup>-1</sup>.
- U mořských ryb byly v posledních letech zjištěny nadlimitní hodnoty obsahu rtuti výjimečně. Vždy se jednalo o tuňáky.

# KADMIUM

- V povrchových vodách v rozpuštěné formě nejčastěji ve formě jednoduchého iontu a různých komplexních organických sloučeninách.
- Koncentrace kadmia v nekontaminovaných říčních a jezerních vodách se pohybuje v rozmezí 0,07-0,8  $\mu\text{g.l}^{-1}$ .
- Kadmium se kumuluje v sedimentech v hodnotách 0,04-0,8  $\text{mg.kg}^{-1}$ , v kontaminovaných vodách může být obsah kadmia až o několik řádů vyšší.
- Letální koncentrace kadmia pro ryby se pohybují v rozmezí 2-20  $\text{mg.l}^{-1}$ . Vyšší koncentrace Ca a Mg snižují toxicitu.
- Již mnohem nižší koncentrace způsobují nižší líhnivost a mají negativní vliv na dospívání larev ryb.
- Nejvyšší přípustná koncentrace kadmia ve vodě pro lososovité ryby je 0,2  $\mu\text{g.l}^{-1}$ , pro kaprovité 1  $\mu\text{g.l}^{-1}$ .

# KADMIUM

- Vodní organizmy kadmium silně kumulují, při koncentraci kadmia v jednotkách  $\mu\text{g.l}^{-1}$ , byly v tělech korýšů (krevety) a měkkýšů (ústřice, slávky) zjištěny hodnoty kadmia až  $100 \text{ mg.kg}^{-1}$ .
- Organismus obratlovců kumuluje kadmium ve vnitřních orgánech (ledviny, játra). Při intoxikaci kadmiem tedy dochází k selhání ledvin. Kadmium má i karcinogenní účinky, způsobuje dekalifikaci a ztenčování kostí.
- Závažnější intoxikace lidí kadmiem po požití ryb nebyly dosud zaznamenány.
- V roce 1962 došlo v Japonsku k hromadné otravě z kadmiem silně kontaminované rýže. Byla způsobena vyplavováním rudných skládek vodou do rýžových polí. Obsah kadmia v rýži dosahoval 1 až  $3 \text{ mg.kg}^{-1}$ .

# KADMIUM

- Japonská epidemie byla nazvána "itai-itai" ("ouchi-ouchi") podle bolestivých příznaků v končetinách a páteři. Onemocnění mělo chronický průběh, během 30 let zemřelo na následky otravy kadmíem asi 100 lidí.
- Komise expertů FAO/WHO stanovila ještě tolerovatelný týdenní příjem kadmia 400 až 500 mikrogramů na osobu.
- V ČR platí pro sladkovodní ryby max. přípustná koncentrace kadmia  $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$  svaloviny.
- Dle zákona č. 61/2003 je max. přípustná hodnota znečištění povrchových vod kadmíem  $1 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$ .

# ARSÉN

- Přírodní vody obsahují jen stopy arsenu, sladkovodní ekosystémy  $0,15$  až  $0,45 \mu\text{g.l}^{-1}$ , mořské  $0,1$  až  $2 \mu\text{g.l}^{-1}$ .
- Arsén se vyskytuje ve vodě obvykle v oxidačním stupni V (méně toxické arseničnany), ale i v nestálém oxidačním stupni III (toxičtější arsenitany).
- Podobně jako rtuť se mohou biologickou činností tvořit organické methylderiváty arzenu. Kumulační schopnost arsenu v sedimentech a vodních organizmech je rovněž značná.
- Letální koncentrace pro pstruha obecného se pohybují v rozmezí  $20-25 \text{ mg.l}^{-1}$ , pro kapra  $25-30 \text{ mg.l}^{-1}$  a pro candáta kolem hodnoty  $2,9 \text{ mg.l}^{-1} \text{ As}_2\text{O}_3$ .

# ARSÉN

- V organismu vodních živočichů dochází k transformaci arsenu na organické sloučeniny pro lidský organizmus téměř netoxické.
- Ve světě bylo zaznamenáno několik chronických intoxikací arsenem z pitné vody, kdy již dávka 10 mg arsenu denně způsobuje kožní problémy, zhoršení zraku, hematologické a neurologické změny.
- V ČR platí pro sladkovodní ryby nejvyšší přípustná koncentrace arsenu  $1 \text{ mg.kg}^{-1}$  svaloviny.
- Dle zákona č. 61/2003 je max. přípustná hodnota znečištění povrchových vod arsenem  $20 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$ .

# HLINÍK

- Poškození a otravy ryb hliníkem jsou v poslední době časté příčiny úhynu ryb.
- V Norsku, Švédsku, Skotsku, Kanadě a ve východních státech USA uhynuly v krátké době tisíce ryb. Většina z nich na otravu hliníkem, který byl kyselými dešti vyplaven z půdy a dostal se do vody.
- Koncentrace toxičtějších rozpustných forem hliníku se ve vodě zvyšuje se stoupajícím pH (nad 9) a klesajícím pH (pod 5,5).
- Nelze jednoznačně stanovit letální a přípustné koncentrace pro ryby díky závislosti toxicity hliníku na hodnotě pH.
- Koncentrace  $0,52 \text{ mg.l}^{-1}$  hliníku při pH 7 výrazně snižovala růst pstruha duhového.

# HLINÍK

- Koncentrace hliníku do  $0,3 \text{ mg.l}^{-1}$  ve vodě upravené čiřením síranem hlinitým způsobila do 10-14 dnů totální úhyn plůdku marény a peledě.
- Za bezpečnou koncentraci hliníku pro ryby lze považovat hodnotu  $0,05 \text{ mg.l}^{-1}$  ve vodě s pH 7.
- Dle zákona č. 61/2003 je max. přípustná hodnota znečištění povrchových vod hliníkem  $1,5 \text{ mg.l}^{-1}$ .
- V poslední době je k omezení eutrofního charakteru vodních ekosystémů doporučována „bezpečná“ metoda srážení sinic a poutání fosforu v sedimentech za využití solí hliníku (síran hlinitý, polyaluminiumchlorid PAX 18)
- Aplikace na Máchově jezeře (2005) zvýšila koncentraci Al ve vodě z  $0,05$  před aplikací na  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$  po aplikaci.



# CHROM

- Otravy zinkem nejčastěji v chovech lososovitých ryb
- Ve vodách v oxidačním stupni III a VI, akutní toxicita  $\text{Cr}^{\text{VI}}$  leží v rozmezí  $5\text{-}30 \text{ mg.l}^{-1}$ ,  $\text{LC}_{50}$  pro ryby  $35\text{-}75 \text{ mg.l}^{-1}$ .
- akutní toxicita  $\text{Cr}^{\text{III}}$  se pohybuje okolo  $1 \text{ mg.l}^{-1}$ ,  $\text{LC}_{50}$  pro ryby  $2\text{-}7,5 \text{ mg.l}^{-1}$ .
- Toxicita chromu je podobně jako u Cu a Zn výrazně ovlivněna fyzikálně chemickými vlastnostmi vody, zejména hodnotou pH a koncentrací Ca a Mg. Nižší pH a vyšší Ca+Mg toxicita chromu pro vodní organizmy se snižuje.
- Chronická otrava ryb chromem je doprovázena nahromaděním oranžové tekutiny v dutině tělní.
- Dle zákona č. 61/2003 je max. přípustná hodnota znečištění povrchových vod chromem  $50 \mu\text{g.l}^{-1}$ .

# OLOVO

- Ve vodním prostředí v sedimentech dna o 4 řády vyšší koncentrace než ve vodě.
- Toxicita olova je výrazně ovlivněna fyzikálně chemickými vlastnostmi vody, zejména hodnotou pH, alkalitou a koncentrací Ca a Mg. Vyšší hodnoty snižují toxicitu olova pro vodní organizmy.
- Letální koncentrace olova v různých typech vod kolísají v rozmezí 0,1-10 mg.l<sup>-1</sup>. Při intoxikaci ryb dochází k poškození erytrocytů a leukocytů a nervové soustavy.
- Činností mikroorganismů může tvořit organické methylderiváty hromadící se ve vodních organizmech.
- Nejvyšší přípustná koncentrace olova ve vodě pro lososovité ryby je 4 µg.l<sup>-1</sup>.
- Dle zákona č. 61/2003 je max. přípustná hodnota znečištění povrchových vod olovem 15 µg.l<sup>-1</sup>.

# FENOLY

- Do vod z průmyslových OV, typické nervové jedy zasahující centrální nervovou soustavu.
- Jednosytné fenoly (fenol 2-20 mg.l<sup>-1</sup>, kresol 2-20 mg.l<sup>-1</sup>, naftol 2-4 mg.l<sup>-1</sup>, xylenol 2-20 mg.l<sup>-1</sup>)
- Vícesytné (pyrokatechol 2-20 mg.l<sup>-1</sup>, resorcin 10-50 mg.l<sup>-1</sup>, hydrochinon 0,2 mg.l<sup>-1</sup>, pyrogalol 10-50 mg.l<sup>-1</sup>, floroglucin 400-600 mg.l<sup>-1</sup>) číselné údaje - akutní toxicita pro ryby
- Chlorfenoly – vznikající chlorací fenolů, silně zapáchají
- Koncentrace 0,1 mg.l<sup>-1</sup> fenolů a 0,02 mg.l<sup>-1</sup> chlorfenolů ve vodě již vyvolávají organoleptické změny rybího masa
- Dle zákona č. 61/2003 je max. přípustná hodnota znečištění povrchových vod jednosytnými fenoly 5 μg.l<sup>-1</sup>.

## Polychlorované bifenyly PCB

- Velmi stabilní organochlorové sloučeniny, výroba PCB v ČR zastavena v roce 1984, prodej v roce 1989.
- Lze předpokládat postupné uvolňování PCB s rezervoárů ještě po desetiletí díky kontaminaci v minulosti
- V ČR několik ekologických havárií např. (únik Deloru 103 do Divoké Orlice, únik topného oleje Delotherm DH do řeky Skalice)
- PCB pro ryby jedovaté v rybářství nevýznamné z hlediska chovu, ale z hlediska hygienické kvality rybího masa
- PCB obsahují všechny složky vodního ekosystému, dochází k bioakumulaci PCB v potravním řetězci, především v tukové tkáni.
- Akumulační koeficient PCB ve svalovině ryb je  $10^3$ - $10^5$

## Polychlorované bifenyly PCB

- Existuje 209 různým způsobem chlorovaných bifenyly
- Karcinogenní především č. 77, 126 a 169
- 7 nejběžnějších kongenerů bylo vybráno jako indikátorové (č. 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180)
- Ryby jsou významné indikátory zatížení ekosystému PCB, především úhoř, tolstolobik, parma
- NPK sumy indikátorových kongenerů PCB v rybách jako poživatinách  $2 \text{ mg.kg}^{-1}$  jedlého podílu.
- Dle zákona č. 61/2003 je max. přípustná hodnota znečištění povrchových vod sumou polychlorovaných bifenyly  $0,012 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$ . (suma indikátorových kongenerů)

## Tenzidy (dříve saponáty)

- Povrchově aktivní látky, detergenty (k praní a čištění) = tenzid + jiná složka, snižují povrchové napětí vody, při vyšší tvrdosti vody toxicita klesá
- negativně ovlivňují samočisticí pochody, detergenty s obsahem polyfosfátů přispívají k zvyšování eutrofizace
- poškozují především respirační epitel žaber, dochází k hydrataci a zvětšování buněk, snižují odolnost ryb k infekcím poškozováním ochranné slizové vrstvy.
- Subletální množství tenzidů vede k poškození jiker a mlíčí
- Některé tenzidy (např. nonylfenol) mají xenoestrogenní účinky (vyvolávají feminizace samců)
- Dle zákona č. 61/2003 je max. přípustná hodnota znečištění povrchových vod tenzidy  $0,6 \text{ mg.l}^{-1}$ .

# Akutní toxicita anioaktivních tenzidů pro ryby

<b>Přípravek</b>	<b>Organismus</b>	<b>LC<sub>50</sub></b>
Helavin T 12	Kapr obecný	46,2 mg.l <sup>-1</sup>
	Pstruh duhový	4,2 mg.l <sup>-1</sup>
Dubaral SP	Kapr obecný	18,3 mg.l <sup>-1</sup>
	Pstruh duhový	3,7 mg.l <sup>-1</sup>
Slovafol 905	Kapr obecný	3,0 mg.l <sup>-1</sup>
	Pstruh duhový	1,8 mg.l <sup>-1</sup>
Slovafol 922, 930	Kapr obecný	>1 000 mg.l <sup>-1</sup>
	Pstruh duhový	>1 000 mg.l <sup>-1</sup>

# Akutní toxicita pracích prostředků pro *Poecilia reticulata* (LC<sub>50</sub>/120 h, mg.l<sup>-1</sup>)

Omo	96
Biomat	55
Azur speciál	52
Radion	129
Persil	144



# Pesticidy

- Významné místo v pořadí příčin úhynů ryb
- Jsou většinou silně jedovaté. První příznaky otravy se u většiny preparátů objevují v rozmezí 0,1-1,0 mg.l<sup>-1</sup>. Kromě akutních otrav se projevuje u řady preparátů kumulační efekt reziduí ve tkáních organismů, při čemž se kumulace stupňuje v postupných člancích potravního řetězce o 1-2 řády.
- Nejvyšší akumulací koeficient je u chlorovaných insekticidů na bázi DDT (až 10<sup>4</sup>) rezidua zhoršují kvalitu rybího masa
- Při aplikaci herbicidů nebo algicidů do vodního prostředí může docházet k výrazným úbytkům hodnot rozpuštěného kyslíku.

# Pesticidy

- S pesticidy se do vod dostává mimo účinné látky i celá řada vedlejších komponent, které bývají často pro ryby toxičtější.
- V rybářství a vodním hospodářství se využívají některé pesticidy především k likvidaci vodních rostlin (Gramoxone, Reglone, Roundup Biaktiv), k antiparazitálnímu ošetření ryb a likvidaci řas a sinic (Mildstream, Kuprikol 50)
- Ve většině případů pesticidní přípravky rybářství poškozují
- Nejvýznamější jsou v tomto směru pesticidy na bázi chlorovaných uhlovodíků, organických sloučenin fosforu, karbamátů a thiokarbamátů, derivátů karboxylových kyselin, substituované močoviny, triazinů a diazinů a sloučenin kovů.

# Pesticidy

48hLC <sub>50</sub> (EC <sub>50</sub> ) mg.l <sup>-1</sup>	kapr	pstruh	poecilia	daphnia	cyclops	tubificidae
Soldep (trichlorfon 25%)	545	1,6	102	0,2- 1,5.10 <sup>3</sup>	0,1-0,3	81
Zeazin MIX (atrazin 20%, promethryn 30%)	39	12,5	13	36	3,4	331
MCPA tech. (kyselina 2methyl 4chlorfenoxyoctová)	284	331	140	176	85	3,4
Kuprikol 50 (oxychlorid mědi 47,5%)	74	0,8	129	0,014	500	0,6
Mikal M (fosetyl-AL 44%, mancozeb 26%)	102	21,2	27,1	8,2	6,3	1,9
Mildstream (diquat 10%)	11010	568	2720	11	66	295

## Poškození a otravy ryb ropnými produkty

- Mezi ropné látky patří produkty zpracování ropy (benzín, nafta, petrolej a minerální oleje)
- Ve vodě všeobecně málo rozpustné, toxicita pro ryby velmi rozdílná,  $LC_{50}$  v rozmezí  $0,5-200 \text{ mg.l}^{-1}$ , lehčí frakce (petrolej, benzin) toxičtější než těžké frakce (oleje)
- Povlékají tenkou vrstvou hladinu vody v podobě emulze, pohybují v celé vrstvě vody a nakonec se usazují na dně společně se sedimenty.
- Jen velmi pomalu podléhají přirozené oxidaci. Surová nafta obsahuje frakce rozpustné ve vodě, které jsou pro ryby jedovaté.
- Ropné produkty ničí trdliště ryb, brání přirozené aeraci, vyvolávají deficit kyslíku a narušují normální biologické procesy na biotopu.

## Poškození a otravy ryb ropnými produkty

- Již 0,02-0,1 mg.l<sup>-1</sup> ropných látek dává masu ryb specifický zápach neodstranitelný při jakémkoli dalším zpracování. Poločas vylučování těchto látek z těla ryb 400-700 dnů.
- Nejvyšší přípustné koncentrace u různých ropných produktů se pohybují v rozmezí 0,001-0,05 mg.l<sup>-1</sup>
- Dle zákona č. 61/2003 je přítomnost ropných látek ve vodách kaprových a lososových charakterizována takto:
- Nesmí tvořit na povrchu vody viditelný film
- Nepříznivě ovlivňovat chuť a vůni ryb
- Mít nepříznivý vliv na ryby

# Intoxikace chemickými cizorodými látkami

- WHO stanovila pro cizorodé látky kontaminující aditivní hodnoty ADI (acceptable daily intake - přijatelný denní příjem). ADI je pro příslušné látky udávána v mg na 1 kg tělesné hmotnosti a znamená dávku, kterou lze přijímat během celého života. Je stanovena s použitím faktoru bezpečnosti 100, ale pro zdraví je tím lépe, čím méně je ADI čerpána z příslušného limitu.
- Pro hlavní současné cizorodé chemické látky jsou hodnoty ADI následující:

• Cd	0,95 - 1,10 mikrogramů
• Hg	0,0007 mg
• <b>Pb</b>	<b>0,007 mg</b>
• NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5,0 mg
• PCB	1,0 mikrogram.
- Lze říci, že při naší nízké spotřebě ryb nejsou tyto významným zdrojem chemických cizorodých látek pro spotřebitele.