

**OVlivNĚNÍ NUTRIČNÍ HODNOTY SVALOVINY KAPRA
OBECNĚHO (CYPRINUS CARPIO) A TOLSTOLOBIKA BÍLÉHO
(HYPOPHTHALMICH TY S MOLITRIX) CYANOBACTERIEMI**
*INTENFERENCE IN NUTRITIVE VALUE OF MUSCLE OF COMMON CARP(CYPRINUS
CARPIO) AND SILVER CARP(HYPOPHTHALMICH TY S MOLITRIX) BY
CYANOBACTERIA*

**PALÍKOVÁ M., MAREŠ J., PAŠKOVÁ V., KOPP R., ADAMOVS KÝ O.,
HILSCHEROVÁ K., BLÁHA L., NAVRÁTIL S.**

Abstract

The aim of this study was to find out whether and how the presence of water blooms of cyanobacteria affects the quality of fish meat, its biochemical composition including the spectrum of fatty acids and amino acids and the concentration of microcystin LR in muscles. Bioindicators of the oxidative stress were monitored in hepatopancreas. The common carp not consuming cyanobacteria and the silver carp eating but only to a certain degree digesting cyanobacteria were selected as experimental fish. Muscles of the silver carp showed marked changes such as a higher level of water and a lower level of lipids and proteins. Changes concerned also the spectrum of fatty acids in both species. The ratio of n-3/n-6 polyunsaturated fatty acids was lower. Microcystins were accumulated in muscles during exposition. The serious fall of microcystins in muscles was detected already within 14 days after removal into the water without microcystins. The calculated hazard index was about 0.4 in the silver carp and about 0.2 in the common carp. The significant modulation of lipid peroxidation was not found in hepatopancreas of the common carp and the silver carp. The activity of glutathione reductase had identical trend in both species – the significant induction in exposed fish. The activity of glutathione-S-transferase was increased in the silver carp. The modulation of glutathione was in the common carp and the silver carp different. There was found an induction of activity in carp tissue and rather a decrease in the silver carp.

ÚVOD

Rybí svalovina má z hlediska konzumu jednoznačně prokázanou vysokou dietetickou hodnotu. Ta je dána vyšším podílem jednodušších bílkovin, příznivým složením tuku, vysokým obsahem lipofilních vitamínů, jemností svalových vláken, praktickou absencí kolagenních vláken a relativně vysokým obsahem minerálních látek. Složení rybiho masa je výrazně ovlivněno druhem, věkem, pohlavím, technologií chovu, podmínkami životního prostředí, stresem, atd. Obsah vody je na úrovni 60-80%, stres její obsah zvyšuje. Vyšší obsah vody ovlivňuje senzoričké vlastnosti masa, možnost jeho zpracování i jeho údržnost. Za nejvýznamnější složku rybiho masa bývá považován tuk. Složení rybiho tuku je velmi specifické a je ovlivněno zejména druhem, teplotou prostředí a složením potravy. Vysoká biologická hodnota rybiho tuku je dána zejména obsahem některých nenasycených mastných kyselin řady n-3. Pro lidskou výživu je nejvyšší význam přikládán polyenovým mastným kyselinám - eikosapentaenové (EPA) a dokosahexaenové (DHA). Tyto kyseliny se významným způsobem uplatňují v prevenci kardiovaskulárních chorob. Pro hodnocení tuku se používá profilu mastných kyselin (FA), kde je hodnocen podíl nasycených FA, mononenasycených, obsah n-3 polynenasycených (PUFA), n-6 PUFA, množství EPA a DHA, a zejména poměr n-3/n-6 a EPA +DHA/n-6. (Mareš, 2003). Sinice vodního květu jsou dominantní složkou fytoplanktonu eutrofních vod a jejich metabolity mohou rybí organismus ovlivňovat (Malbrouck a Kestemont, 2006). Best a kol. (2003) zkoumali vliv cyanobakterií na kvalitu rybiích produktů: vystavení ryb buněčnému obsahu cyanobakterií vyvolalo osmoregulační imbalance, která může mít vliv na obsah vody ve tkáních ryb. Tadesse a kol. (2003) studoval vliv řasové a sinicové diety na obsah FA a poměr polynenasycených FA n-3/n-6 v rybiích tkáních.

V souvislosti se zvyšující se eutrofizací vod spojenou s rozvojem vodního květu sinic se do popředí zájmu dostává otázka vlivu cyanobakterií, resp. jejich toxických metabolitů, na

zdraví člověka. Jednou z diskutovaných možností kontaminace člověka toxickými metabolity sinic je konzumace ryb chovaných v prostředí s výskytem cyanobakterií a potažmo s cyanotoxiny, které jsou ryby schopny akumulovat ve svých tkáních. Několik až poplašných zpráv o toxicitě takovýchto ryb se objevilo i v médiích a jistě pozitivně nepřispívá k propagaci konzumace rybiho masa.

Na základě studií účinků microcystinů na pokusných zvířatech je v nynější době světovou zdravotnickou organizací WHO doporučován TDI (tolerovatelný denní přívod) microcystinů $0,04 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}/\text{den}$ (WHO, 1998). Je nutno dodat, že v České republice nejsou limity pro obsah microcystinů v potravinách zavedeny do legislativy.

Studiem bioakumulace a odbourávání cyanotoxinů v rybích tkáních se v poslední době zabývalo několik autorů (Magalhães a kol., 2001, 2003; Soares a kol., 2004; Xie a kol., 2005; Chen a kol., 2006; Smith a kol. 2006). Údaje však nejsou jednotné a liší se i v závislosti na druhu ryby, nicméně většina případů popisuje koncentrace microcystinů ve svalovině převyšující denní doporučený příjem.

Cílem naší studie bylo zjistit, zda a jakým způsobem ovlivňuje přítomnost vodního květu sinic kvalitu rybiho masa, a to jeho biochemické složení včetně spektra FA a aminokyselin (AA) a jaká je koncentrace microcystinu LR ve svalovině. Dále byly sledovány bioindikátory oxidativního stresu v hepatopankreatu. Jako pokusný druh byl vybrán kapr obecný, který sinice nepřijímá a netráví a tolstolobik bílý, který sinice přijímá, ale tráví pouze omezeně.

MATERIÁL A METODIKA

Ryby, schéma pokusu

K experimentům byla použita násada tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix*) (celková délka 300-390mm, hmotnost 230-500g) a plůdek kapra obecného (*Cyprinus carpio*) (celková délka 130-170mm, hmotnost 30-55g). Ryby byly umístěny do klecí po dobu 28 dnů (srpen) bez přikrmování. Pokusné klece byly umístěny v sádce s přirozeným výskytem vodních květů sinic (*Microcystis aeruginosa*, *M. ichthyoblabe*, *Anabaena* sp., *Anabaenopsis elenkinii*, *Aphanizomenon* sp., *Planktothrix agardhii*), kontrolní klece byly umístěny do sádky bez výskytu vodních květů sinic. Po ukončení expozice byla část ryb přechovávána po dobu 28 dnů v upravené vodovodní vodě. V průběhu experimentu byly v týdenních intervalech sledovány základní fyzikálně-chemické parametry vody a odebírány populace fytoplanktonu pro stanovení kvalitativního i kvantitativního zastoupení jednotlivých taxonů sinic a řas. V populacích sinic byly zjišťovány hladiny microcystinů. V týdenních intervalech byly odebírány vzorky svaloviny 10 ryb z obou sledovaných druhů, zchlazeny nebo zamrazeny a přepraveny do laboratoře k provedení požadovaných analýz. Pro stanovení ukazatelů oxidativního stresu byly odebírány vzorky hepatopankreatu.

Složení svaloviny

Pro vyhodnocení experimentu byly použity standardní ukazatele chemického složení svaloviny (sušina, obsah proteinů, tuků a popelovin), spektrum aminokyselin (AA) a mastných kyselin (FA). Obsah lipidů byl stanoven metodou dle Soxhleta s 12h extrakcí diethyleterem. Spektrum FA bylo stanoveno na plynovém chromatografu HP 4890D po extrakci směsí methanolu a chloroformu (FOLSCH a kol., 1957). Vzorky pro stanovení AA byly hydrolyzovány oxidativně kyselou hydrolyzou HCl. Vlastní stanovení AA bylo provedeno na AAA 400 pomocí sodnocitrátových pufrů a ninhydrinovou detekcí (KRÁČMAR a kol., 1998).

Stanovení obsahu microcystinu LR

Stanovení obsahu microcystinu LR se provádělo ve čtrnáctidenních intervalech. Vzorky byly bezprostředně po odběru zamrazeny v suchém ledu a transportovány do laboratoře. Zde byly uchovávány v teplotě -80°C do doby zpracování. Ke stanovení obsahu microcystinu LR byla použita metoda ELISA vyvinutá v laboratořích RECETOX.

Ze zjištěných hodnot obsahu microcystinu LR (dále MC-LR) ve vzorcích a TDI pro MC-LR byl vypočítán hazard index pro dané tkáň podle vzorce $\text{HI} = I / \text{TDI}$, kde HI = hazard index, I = koncentrace microcystinu LR ve tkáni ($\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$) x hmotnost konzumované tkáň (300 g) a TDI stanovený WHO přepočítaný na 70 kg osobu (2800 ng). V případě, kdy $\text{HI} > 1$ existuje riziko zdravotního poškození. Čím vyšší je hodnota HI, tím vyšší je riziko.

Stanovení biomarkerů oxidativního stresu v hepatopankreatu

Stanovení hladiny koncentrace proteinů bylo provedeno metodou dle Lowryho (Lowry, 1951) s využitím Folin-Ciocalteu fenolové reagensie kolorimetricky na 96-jamkových mikrodestičkách. Citlivost metody je v rozsahu od 0,005 do 2 mg proteinů na ml (DUNN, 1992; PRICE, 1996). Kalibrační křivka byla provedena v rozsahu 0,05-1 mg/ml pro standardní BSA.

Stanovení redukovaného glutathionu (GSH) bylo provedeno kolorimetricky na mikrodestičkách (Ellman, 1959). Kalibrační křivka byla v rozsahu 0,0025-0,025 mg/ml pro redukovaný GSH.

Tkáňová lipidní peroxidace byla stanovena pomocí TBARS testu (thiobarbituric acid reactive substances) modifikovaného dle Livingstone a kol. a Uchiama a kol. (Livingstone a kol., 1990; Uchiama a Mihara, 1978). Metoda modifikovaná na mikrodeskové provedení využívá spektrofotometrické koncovky. Kalibrační křivka byla provedena v rozsahu 0,25-3 nmol MA v reakční směsi.

Stanovení enzymatické (katalytické) aktivity glutathion-S-transferázy (GST) bylo provedeno spektrofotometricky (HABIG, 1974). Metoda modifikovaná na mikrodeskové provedení využívá spektrofotometrické koncovky.

Stanovení enzymatické (katalytické) aktivity cytosolického enzymu glutathion peroxidázy (GPx) bylo stanoveno na základě měření míry úbytku NADPH v čase reakcí využívající redukovaného glutathionu jako kosubstrátu (Flohé, 1984). Metoda modifikovaná na mikrodeskové provedení využívá spektrofotometrické koncovky.

Stanovení enzymatické aktivity glutathion reduktázy (GR) bylo provedeno spektrofotometricky na mikrodestičkách (Carlberg, 1975).

Statistické vyhodnocení

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny s použitím programu STAT plus, programu Statistica 6.0 for Windows.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Obsah sušiny ve svalovině kapra kolísal v průběhu experimentu v rozpětí 19,71 – 23,48 % u kontrolní skupiny a 19,16 – 22,80 % u skupiny vystavené sinicovému vodnímu květu bez statistiky významného vlivu působení sinic a bez významného rozdílu mezi termíny odběru. Nejvyšších hodnot bylo dosaženo v prvním týdnu po přelovení obou skupin ryb do čisté vody, tedy po ukončení expozice. Statisticky významné rozdíly vlivu působení sinic nebyly zjištěny rovněž v obsahu tuku a dusíkatých látek stanovených ve svalovině kapra. Obsah tuku kolísal v průběhu sledování v rozpětí 3,15 – 5,23 % (kontrolní skupina), resp. 3,47 – 5,05 % (experimentální skupina), obsah dusíkatých látek pak 16,36 – 19,39 %, resp. 14,96 – 18,09 %.

Obsah sušiny ve svalovině tolstolobika byl působením sinicového vodního květu ovlivněn statisticky vysoce významným způsobem ($p < 0,01$), u exponovaných ryb došlo ke zvýšení obsahu vody ve svalovině ve srovnání se skupinou kontrolní. Obdobným způsobem byl přítomností sinic ovlivněn i obsah tuku ($p < 0,01$), kdy s výjimkou prvního odběru byly hodnoty zjištěné u pokusné skupiny ve srovnání se skupinou kontrolní vždy nižší. Obsah proteinu byl expozicí ve vodním květu sinic snižena na statisticky významné úrovni ($p < 0,05$).

Přítomnost sinic ve vodním prostředí měla statisticky významný vliv na zastoupení jednotlivých analyzovaných mastných kyselin ve svalovině kapra (Tab. 1). Při vzájemném porovnání dynamiky změn však byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi exponovanou a kontrolní skupinou v obou fázích experimentu pouze u poměru sumy mastných kyselin řady n-3 a n-6. U vzájemného poměru mastných kyselin řady n-3 a n-6 došlo ve svalovině kapra u kontrolní skupiny k rovnoměrnému zvýšení z rovnovážné hodnoty na počátku experimentu na hodnotu 1,72. Tato hodnota byla dosažena po čtyřech týdnech expozice ryb v prostředí se sinicemi a ve srovnání s pokusnou skupinou (0,768) dosáhl rozdíl statisticky významné úrovně ($p < 0,05$). Ve fázi vyplavování došlo ke snížení u obou skupin ryb (na hodnoty 1,46 a 0,65). Statisticky významná úroveň rozdílů byla s výjimkou odběru v 6. týdnu zachována.

Tab. 1. Zastoupení jednotlivých analyzovaných mastných kyselin ve svalovině kapra

FA	významnost	FA	významnost	FA	významnost
C 14:0	**	C 18:3n3	*	C 22:6n3	**
C 16:0		C 20:1n9	**	SFA	
C 16:1		C 20:4n6	*	MUFA	*
C 18:0	**	C 20:5n3	**	PUFA	**
C 18:1n9	*	C 22:4n6	**	n-6	**
C 18:2n6	**	C 22:5n6	**	n-3	**
C 18:3n6	*	C 22:5n3	**	n-3/n-6	**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Působení sinic na organismus tolstolobika bílého se rovněž projevilo rozdíly ve složení spektra mastných kyselin (Tab.2). Při porovnání dynamiky změn mezi oběma skupinami však byly zjištěny rozdíly na statisticky významné úrovni ($p < 0,05$) pouze u poměru sumy mastných kyselin řady n-3/n-6. Tento rozdíl odrážel zejména změny množství mastných kyselin řady n-6, kde při obdobném průběhu došlo k výraznějšímu poklesu u ryb vystavených působení vodního květu sinic.

Tab 2. Zastoupení jednotlivých analyzovaných mastných kyselin ve svalovině tolstolobika

FA	významnost	FA	významnost	FA	významnost
C 14:0	**	C 18:3n3		C 22:6n3	
C 16:0		C 20:1n9	*	SFA	**
C 16:1	**	C 20:4n6	*	MUFA	**
C 18:0	**	C 20:5n3		PUFA	*
C 18:1n9	*	C 22:4n6	**	n-6	**
C 18:2n6	**	C 22:5n6	**	n-3	
C 18:3n6	*	C 22:5n3		n-3/n-6	**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Při porovnání spektra analyzovaných aminokyselin nebyl ve svalovině kapra zjištěn statisticky významný vliv působení vodního květu sinic na zastoupení jednotlivých aminokyselin. Kolísání v zastoupení jednotlivých aminokyselin bylo srovnatelné u pokusné i

kontrolní skupiny ryb. Statisticky významný ($p < 0,05$) rozdíl mezi experimentální a kontrolní skupinou byl zachycen pouze v obsahu argininu po prvním týdnu expozice ryb (41,22, resp. 39,41 g.kg⁻¹ sušiny svaloviny)

U tolstolobika bílého se působení sinic projevilo ve změně obsahu threoninu, glyciny a kyseliny glutamové. Expozice ryb v prostředí s obsahem sinic způsobilo statisticky významné zvýšení obsahu uvedených aminokyselin ($p < 0,05$). Při porovnání dynamiky vývoje hodnot v průběhu expozice a následného vyplavování však rozdíly mezi skupinami ryb v termínech odběrů statisticky významných rozdílů nedosáhly.

Tab. 3. Rozpětí hodnot esenciálních aminokyselin ve svalovině ryb (g.kg⁻¹ sušiny svaloviny).

EAA	Kapr obecný		Tolstolobik bílý	
	Kontrola	Expozice	Kontrola	Expozice
Cys	4,73-8,18	5,30-8,18	5,48-8,39	7,18-8,64
Met	16,6-26,7	18,3-26,3	19,6-29,1	20,2-28,3
Thr	38,8-48,7	39,2-48,6	37,7-52,6	42,9-56,2
Val	38,8-43,8	38,6-42,6	42,2-47,1	41,4-47,6
Ile	30,7-33,4	29,8-33,8	32,9-36,3	34,5-36,9
Leu	59,0-66,2	59,8-66,6	67,6-74,0	70,4-73,7
Phe	0,48-1,32	0,75-1,51	0,83-1,67	0,92-2,17
His	11,6-15,3	11,8-13,7	11,2-15,7	8,95-14,8
Lys	67,7-77,6	49,8-73,6	71,3-89,1	69,9-82,3
Arg	26,1-39,4	23,1-41,2	22,5-42,7	25,9-43,2

Koncentrace microcystinu LR ve vodě jsou uvedeny v tabulce č. 4. Koncentrace microcystinu LR ve svalovině uvádí tabulka č. 5.

Tab. 4. Koncentrace microcystinu - LR ve vodě.

Koncentrace microcystinu - LR		Vstup	14. den	28. den
Expozice	biomasa (µg.g ⁻¹ DW)	243,5	382,3	133,4
	IC –intracelulární (µg.l ⁻¹)	6,9	4,6	3,6
	EC –extracelulární (µg.l ⁻¹)	0,5	1,0	0,1
	IC + EC (µg.l⁻¹)	7,4	5,6	3,7
Kontrola	IC + EC (µg.l⁻¹)	<LOD*	0,14	0,23

*LOD.....limit detekce

Tab. 5. Koncentrace microcystinu LR v hepatopankreatu (průměr ± SD v ng.g⁻¹ tkáně, HI = hazard index, * statisticky významný rozdíl $p < 0,05$ oproti vstupním hodnotám)

		Vstup	14. den	28. den	42. den	56. den
kapr obecný	expozice	1,2 ± 0,3	1,6 ± 0,8	0,7 ± 0,3	0,8 ± 0,1*	0,8 ± 0,5
	HI	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1
	kontrola	1,2 ± 0,3	0	0	0	0
tolstolobik bílý	expozice	0,9 ± 0,3	3,9 ± 3,6*	1,5 ± 0,2*	0,3 ± 0,2*	0,5 ± 0,2*
	HI	0,1	0,4	0,2	0,03	0,05
	kontrola	0,9 ± 0,3	0	0	0	0

Z tabulek je patrné, že při vstupu ryb do experimentu byla ve svalovině zjištěna relativně vyšší koncentrace microcystinu LR. Ryby získané pro experiment byly tedy již před jeho započatím vystaveny přítomnosti sinic produkujících toxin. Budeme-li uvažovat o kontrolních rybách umístěných do prostředí bez vodního květu sinic jako o vyplavovací fázi,

je evidentní, že ze svaloviny došlo k vyplavení microcystinů již v prvních 14 dnech až na nulové hodnoty.

U ryb, které byly umístěny do sádky s přítomností vodního květu sinic, došlo v průběhu prvních dvou týdnů k nárůstu koncentrací microcystinu LR ve svalovině. Během třetího a čtvrtého týdne pobytu ryb v expoziční nádrži došlo opět ke snížení koncentrací MC-LR. To mohlo být způsobeno adaptací ryb na vyšší obsah toxinu a schopností jejich organismu účinněji odbourávat microcystin LR. Nejsou však schopny v prostředí obsahujícím určité koncentrace MC-LR zcela tento toxin odbourat a ten stále v určitém množství persistuje v organismu. Rovněž tento pokles může ale být způsoben změnou obsahu (pokles) microcystinu LR v nádrži (viz tab. č. 4), který do určité míry koreluje s jeho koncentrací v rybích tkáních v daném čase.

Ve vyplavovací fázi zjišťujeme snížení (tolstolobik) nebo udržování (kapr) určité hladiny MC-LR na stejných (nízkých) hodnotách až do konce pokusu.

Naše výsledky vypočteného HI ukazují, že pro svalovinu nebyl ani v jednom případě překročen limit daný světovou zdravotnickou organizací WHO. V tomto smyslu jsme na tom zatím lépe, než uvádějí jiné studie, ale je potřeba vzít v úvahu fakt, že expoziční sádka odpovídala svou koncentrací microcystinů pitné vodě nebo rekreačním nádržím, koncentrace toxinů byla tedy relativně nízká (Maršálek a Bláha, 2001). Na základě těchto informací a především z hodnot zjištěných z vod určených k chovu ryb vyplývá, že ryby z některých nádrží s masivním rozvojem vodního květu sinic by zřejmě mohly představovat zdravotní riziko pro lidského konzumenta, avšak během jejich „sádkování“ ve vodě bez přítomnosti cyanobakterií dojde pravděpodobně i zde relativně rychle k vyplavování microcystinů z tkání.

V rámci posuzování biochemických indikátorů stresu byl zjištěn u tolstolobika statisticky významný nárůst aktivity enzymu GR a GST ve čtvrtém a osmém týdnu oproti kontrole ze stejného týdne, modulace aktivity enzymu GPx byla nevýznamná při porovnání expozičních s kontrolou ve stejném týdnu. Hladina GSH se od vstupu v kontrolních vzorcích postupně snižovala. Při porovnání expozičních s kontrolami byl pozorován nevýznamný nárůst, pouze ve druhém týdnu byl zjištěn významný pokles oproti kontrole. Ve vyplavovací fázi byly aktivity GR, GST a GSH na nižší úrovni. Lipidní peroxidace — parametr poškození — nebyl statisticky významně zvýšený, což svědčí o potenciálu antioxidantního a detoxifikačního systému vyrovnat se s expoziční sinicové biomase. Množství proteinu ve vzorcích kolísalo mezi 6-10 mg/ml.

Ve vzorcích kapra je významná indukce sledovaných aktivit GR a GSH zejména ve 4. týdnu a také v 8. týdnu v případě GR. Je možné pozorovat shodu v trendu parametrů GR a GST, které se v druhé fázi pokusu pohybovaly shodně na vyšší hladině. Hladina lipidních peroxidů je relativně stálá, což svědčí o dostatečnosti antioxidantního a detoxifikačního systému. Množství proteinu ve vzorcích se pohybovalo mezi 7 – 11 mg/ml.

ZÁVĚR

Vlivem pobytu ryb v prostředí s cyanobakteriemi došlo k některým změnám ve složení svaloviny, zejména u tolstolobika, což souvisí s odlišným způsobem výživy obou sledovaných druhů ryb. Chemické složení svaloviny bylo ovlivněno u tolstolobika, kde došlo ke zvýšení obsahu vody a snížení obsahu tuku a proteinů. U obou sledovaných druhů došlo ke statisticky významným změnám ve spektru mastných kyselin, což se statisticky odrazilo zejména v poměru n-3/n-6. (snížení u pokusných skupin). Zatímco u kapra vycházely zachycené rozdíly z dynamiky změn obou řad, u tolstolobika se na poklesu poměru podílela pouze řada n-6. Spektrum aminokyselin bylo ovlivněno pouze nepatrně, více u tolstolobika.

Rybí organismus je schopen akumulovat MC-LR ve svých tkáních, což potvrzuje nejen řada již provedených studií, ale rovněž naše experimentální výsledky. Nicméně jej dokáže ze svých tkání rovněž odbourat. Vytvoří-li se podmínky pro vyplavení toxického

microcystinu, tj. v prostředí bez cyanobakterií a jejich toxinů, lze podstatný pokles koncentrací zaznamenat již do 14 dnů. Maximální vypočtený průměrný hazard index u svaloviny byl 0,4 u tolstolobika a 0,2 u kapra. U tolstolobika v jednom individuálním případě byl HI 1,2.

Při porovnání biochemických parametrů obou druhů byl zjištěn shodný trend aktivit glutathion reduktázy (významná indukce u exponovaných ryb) v rámci celého experimentu. Podobný výsledek byl zjištěn i u parametru poškození – lipidní peroxidace: ve tkáni kapra i tolstolobika nedošlo (vyjma 6. týdne u kapra v případě stimulované lipidní peroxidace) k významné modulaci. Aktivita GST byla výrazně vyšší ve tkáni tolstolobika, také zde byly zjištěny významnější modulace aktivit u exponovaných ryb. Modulace hladiny glutathionu byla u kapra a tolstolobika odlišná: ve tkáni kapra byla zjištěna indukce aktivity, naopak u tolstolobika šlo spíše o pokles. Tyto rozdíly mohou být způsobeny rozdílností testovaných druhů ryb, zejména pokud jde o metabolismus a mechanismus detoxifikace.

Souhrn

Cílem naší studie bylo zjistit, zda a jakým způsobem ovlivňuje přítomnost vodního květu *sinic* kvalitu rybiho masa, a to jeho biochemické složení včetně spektra MK a AMK a jaká je koncentrace microcystinu LR ve svalovině. Součástí detekce poškození organismu cyanotoxiny bylo i sledování bioindikátorů oxidativního stresu v hepatopankreatu. Jako pokusný druh byl vybrán kapr obecný, který *sinice* nepřijímá a netráví a tolstolobik bílý, který *sinice* přijímá, ale tráví pouze omezeně. Chemické složení svaloviny bylo ovlivněno u tolstolobika, kde došlo ke zvýšení obsahu vody a snížení obsahu tuku a proteinů. U obou sledovaných druhů došlo ke statisticky významným změnám ve spektru mastných kyselin, což se statisticky odrazilo zejména v poměru $n-3/n-6$ (snížení u pokusných skupin). Během expozice došlo k akumulaci určitého množství microcystinů ve svalovině, po přemístění do vody bez microcystinů došlo k podstatnému poklesu koncentrací již do 14 dnů. Hazard index se pohyboval okolo 0,4 u tolstolobika a 0,2 u kapra. V hepatopankreatu kapra i tolstolobika nedošlo k významné modulaci lipidní peroxidace. U obou druhů byl zjištěn shodný trend aktivit glutathion reduktázy (významná indukce u exponovaných ryb), u tolstolobika byla zaznamenána dále zvýšení aktivity GST. Modulace hladiny glutathionu byla u kapra a tolstolobika odlišná: ve tkáni kapra byla zjištěna indukce aktivity, naopak u tolstolobika šlo spíše o pokles.

Poděkování

Předložená práce vznikla díky finanční podpoře z Výzkumného záměru Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky MSM 62 15712402 s názvem „Veterinární aspekty bezpečnosti a kvality potravin“.

LITERATURA

- Best, J.H., Eddy, F.B., Codd, G.A., 2003. Effects of *Microcystis* cells, cell extracts and lipopolysaccharide on drinking and liver function in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. *Aquat.Toxicol.* 64, 419-426.
- Carlberg, I., Mannervik, B., 1975. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *Journal of Biology and Chemistry* 250:14. 5475-5480
- Dunn, M. J., 1992. Protein determination of total protein concentration. Harris, E. L. V., Angal, S., [Eds], *Protein Purification Methods*, Oxford: IRL Press.
- Ellman, G.L., 1959. Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.* 82, 70-77.
- Flohé, L., Gunzler, W. A., 1984. Assays of Glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology* 105, 114-120.
- Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H., 1957. A simple methods for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J.Biol.Chem.* 226, 497-509.
- Habig, W.M., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974. Glutathion-S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249, 7130-7139.
- Chen, J., Xie, P., Zhang, D.W., Ke, Z.X., Yang, H., 2006. In situ studies on the bioaccumulation of microcystins in the phytoplanktivorous silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) stocked in Lake Taihu with dense toxic *Microcystis* blooms. *Aquaculture.* 261, 1026 – 1038.
- Kráčmar S., Gajdůšek S., Kuchtík J., Zeman L., Horák F., Doupovcová G., Matějková R., Kráčmarová E., 1998. Changes in amino acid composition of ewe's milk during the first month of lactation. *Czech J. Anim. Sci.* 43, 369 – 374.

- Livingstone, D.R., Garcia- Martinez, P., Michel, K., Narbonne, J. F., O'Hara, S., Ribera, D., Wiston, G., 1990. Oxyradical production as a pollution-mediated mechanism of toxicity in the common mussel *Mytilus edulis* and other molluscs. *Functional Ecology*. 4, 415-424.
- Lowry, O.H., Rosebrough, A.L., Farr, A.L., Randall, R. J., 1951. Protein measurements with Folin-Phenol reagents. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- Magalhães, V.F., Soares, R.,M., Azevedo, S.M.F.O., 2001. Microcystin contamination in fish from the Jacarapaguã Lagoon (RJ, Brazil). *Ecological implication and human health risk. Toxicol.* 39, 1077 – 1108.
- Magalhães, V.F., a kol., 2003. Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ). *Toxicol.* 42, 289 – 295.
- Malbrouck, C.H., Kestemont, P., 2006. Effects of microcystins on fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25, 72 – 86.
- Mareš, J., 2003. Složení rybiho masa a některé zdravotní aspekty jeho konzumace. *Maso*. 5, 21-25.
- Maršálek, B., Bláha, L., 2001. Dissolved microcystins in raw and treated drinking water in the Czech Republic. In Chorus, I. a kol. *Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences*. Berlin: Springer-Verlag, 212 - 217.
- Price, N. C., 1996. *Proteins*, Labfax, Oxford: Academic Press.
- Smith, J.L., Haney, J.F., 2006. Foodweb transfer, accumulation and depuration of microcystins, a cyanobacterial toxin in pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*). *Toxicol.* 48, p. 580 – 589.
- Soares, R.A., Magalhães, V.F., Averezo, S.M.F.O., 2004. Accumulation and depuration of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) in *Tilapia rendalli* (Cichlidae) under laboratory conditions. *Aquatic Toxicology*. 70, 1 - 10.
- Tadesse, Z., Boberg, M., Sonesten, L., Ahlgren, G., 2003. Effects of algal diets and temperature on the growth and fatty acid content of the cichlids fish *Oreochromis niloticus* L. – A laboratory study. *Aquatic Ecology*. 37, 169-182.
- Uchiama, M., Mihara, M., 1978. Determination of malonyldialdehyd precursor in tissue by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.* 86, 271-278.
- WHO. 1998. *Guidelines for drinking water quality*. World Health Organisation, Geneva.
- Xie, L., Xie, P., Guo, L., Li, L., Miyabara, Y., Park, H-D., 2005. Organ distribution and bioaccumulation of microcystins in freshwater fish at different trophic levels from the eutrophic lake Chaohu, China. *Environmental Toxicology*. 20, 293 – 300.

Adresy autorů:

Miroslava Palíková¹, Jan Mareš², Veronika Pašková³, Radovan Kopp², Ondřej Adamovský³, Klára Hilscherová³, Luděk Bláha³, Stanislav Navrátil¹

¹Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Ústav veterinární ekologie a ochrany životního prostředí, Palackého 1-3, Brno, Česká republika

²Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Zemědělská 1, Brno, Česká republika

³Centrum pro cyanobakterie a jejich toxiny (Botanický ústav AV ČR & Masarykova univerzita), Kamenice 3, Brno, Česká republika