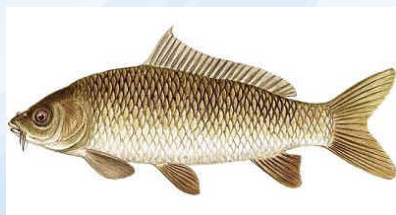




Centrum pro výzkum  
toxických látek  
v prostředí

# Testy ekotoxicity s rybami



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace tohoto předmětu je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

# Testy toxicity na rybích modelech

- Akutní testy toxicity
- Prolongované testy toxicity
- Chronické testy toxicity
- Testy toxicity na rybích embryích a potěru
  - Embryonální testy
  - Embryolarvální testy
- Testy ovlivnění růstu na nedospělých rybách
- Testy bioakumulace



# Chemické látky a chemické přípravky – hodnocení vlastností nebezpečných pro životní prostředí

- Zák. č. 356/2003 Sb. O chemických látkách a chemických přípravcích
- Metody pro zkoušení vlastností látek a přípravků uvedeny v části I. přílohy č.2 Vyhlášky MŽP č. 222/2004 Sb., kterou s u chemických látek a přípravků stanoví základní metody pro zkoušení fyzikálně-chemických vlastností, výbušných vlastností a vlastností nebezpečných pro životní prostředí
- - akutní toxicita pro ryby
- - bioakumulace – průtoková zkouška na rybách
- - růstu na nedospělých rybách
- - toxicity na rybích embryích a potěru – krátkodobá zkouška



# Akutní testy

ČSN EN ISO 7346-1 (75 7761) Jakost vod – Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae) – Část 1: Statická metoda

ČSN EN ISO 7346-2 (75 7761) Jakost vod – Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae) – Část 2: Obnovovací metoda

ČSN EN ISO 7346-3 (75 7761) Jakost vod – Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae) – Část 3: Průtočná metoda

OECD 203: Test akutní toxicity na rybách – výsledkem je koncentrace, která vyvolá 50% úhyn ryb (96h LC50)



# Používané druhy

*Brachydanio rerio*, *Danio rerio* (danio pruhovaný, zebříčka pruhovaná)



*Pimephales promelas* (střevle potoční)



*Poecilia reticulata* (živorodka duhová, paví očko)



*Cyprinus carpio* (kapr obecný)



*Oncorhynchus mykiss* (pstruh duhový)



# Chov ryb pro testy



# Střevle potoční (*Pimephales promelas*)



- malá, malé nároky na prostor
- mimotělní vývoj
- široké rozmezí teplot i slanosti
- snadná kultivace v laboratoři
- krátká generační doba
- testy relativně levné



# Danio pruhovaný (*Brachydanio rerio*)



- Čeleď: Cyprinidae - kaprovití

Původ: Asie

Velikost: do 4 cm

Teplota: 20 - 26 °C

pH: 6,5 - 7,5

Tvrdost vody: 5 - 12 °dKH

Potrava: všežravec (vločkové krmivo, nitěnky, dafnie)

Rozmnožování: Samečci jsou vybarvenější a oproti samičkám drobnější.

Rozmnožují se ve větší, hodně zarostlé nádrži s nízkou hladinou vody, při teplotě okolo 25 °C. Na vytírací nádrž by mělo dopadat denní světlo.

Nejdříve do nádrže umístíme samičku a až po několika dnech přidáme samce. Pokud jsme byli úspěšní, samička naklade na rostliny až 500 jiker. Potěr se líhne po dvou dnech a soběstačný je po dalším dni.

- Známý genom, dobře charakterizovaný druh
- Tisíce mutantních druhů
- Dobře popsáný model vývoje obratlovců
- Modely pro některá lidská onemocnění a poruchy



## *halančik japonský (Oryzias latipes):*



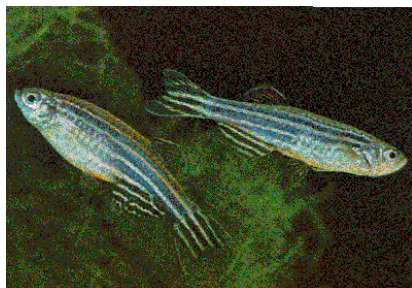
- Zcela průhledná vajíčka
- Dostupné křížené /transgenní /mutantní druhy
- Známý genom
- X-Y určení pohlaví
- Sensitivní odpověď na xenobiotika



# Test akutní toxicity na rybách

Účel: Test slouží ke stanovení vlivu látek a odpadních vod na chování a přežívání ryb.

Princip: Test spočívá ve sledování chování a přežívání ryb v odstupňovaných koncentracích testované látky po dobu 48 až 96 hodin



*Brachydanio rerio* (2,5-3,5 měsíců, 2,5-3,5 cm, 21-25°C)

*Poecilia reticulata* (1,5-2,5 cm, 3-3,5 měsíce, 21-25°C)

*Cyprinus carpio* (2,5-3,5 cm, 20-24°C)

*Oncorhynchus mykiss* (4,5-5,5 cm, 13-17°C)

Další druhy: *Oryzias latipes* (halančík japonský), *Lepomis macrochirus* (slunečnice modrá), *Leuciscus idus* (jelec jesen)

Při nákupu nutná **aklimatizace 10-14 dní**, standardní krmení, chov jako při testu  
Do testu – buď jen jedno pohlaví nebo vyrovnaný počet pohlaví





## Testovací ryby



- Ryby by měly být zdravé a bez zjevných malformací
- Použitý druh by měl být zvolen podle praktických kritérií, jako je jejich dostupnost po celý rok, snadný chov, vhodnost pro zkoušení, relativní citlivost k chemickým látkám a jakékoliv další významné ekonomické a biologické faktory.

Doporučený druh	Doporučený rozsah T (°C)	Doporučená délka ryb (cm)
<i>Brachydanio rerio</i> , Danio pruhovaný	20-24	3,0 ± 0,5
<i>Onchorhynchus mykiss</i> , Pstruh duhový	12-17	6,0 ± 2,0
<i>Cyprinus carpio</i> , Kapr obecný	20-24	6,0 ± 2,0
<i>Poecilia reticulata</i> , Živorodka duhová	20 - 24	3,0 ± 1,0



# Chov

- Ryby by měly pocházet pokud možno z jednoho chovu a měly by být stejné délky a stejného stáří. Musí být chovány nejméně 12 dní v následujících podmínkách:
- voda - přírodní voda získána z nekontaminovaného zdroje stálé kvality
  - pitná voda, upravená voda (čistota p.a.; kvalitní destilovaná, deionizovaná s vodivostí menší než 5  $\mu\text{S/cm}$ )
  - pH od 6,0 do 8,5; tvrdost 10 - 250  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  (vztaženo na  $\text{CaCO}_3$ )
- osvětlení - 12-16 h denně
- koncentrace rozpuštěného kyslíku - 80% hodnoty nasycení vzdušným kyslíkem
- krmení - třikrát týdně nebo jednou za den; vysazení krmení 24 h před začátkem





Centrum pro výzkum  
toxických látek