



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

Hodnocení ekologických rizik

04 – Hodnocení účinků

Mgr. Jana Vašíčková, Ph.D.

vasickova@recetox.muni.cz

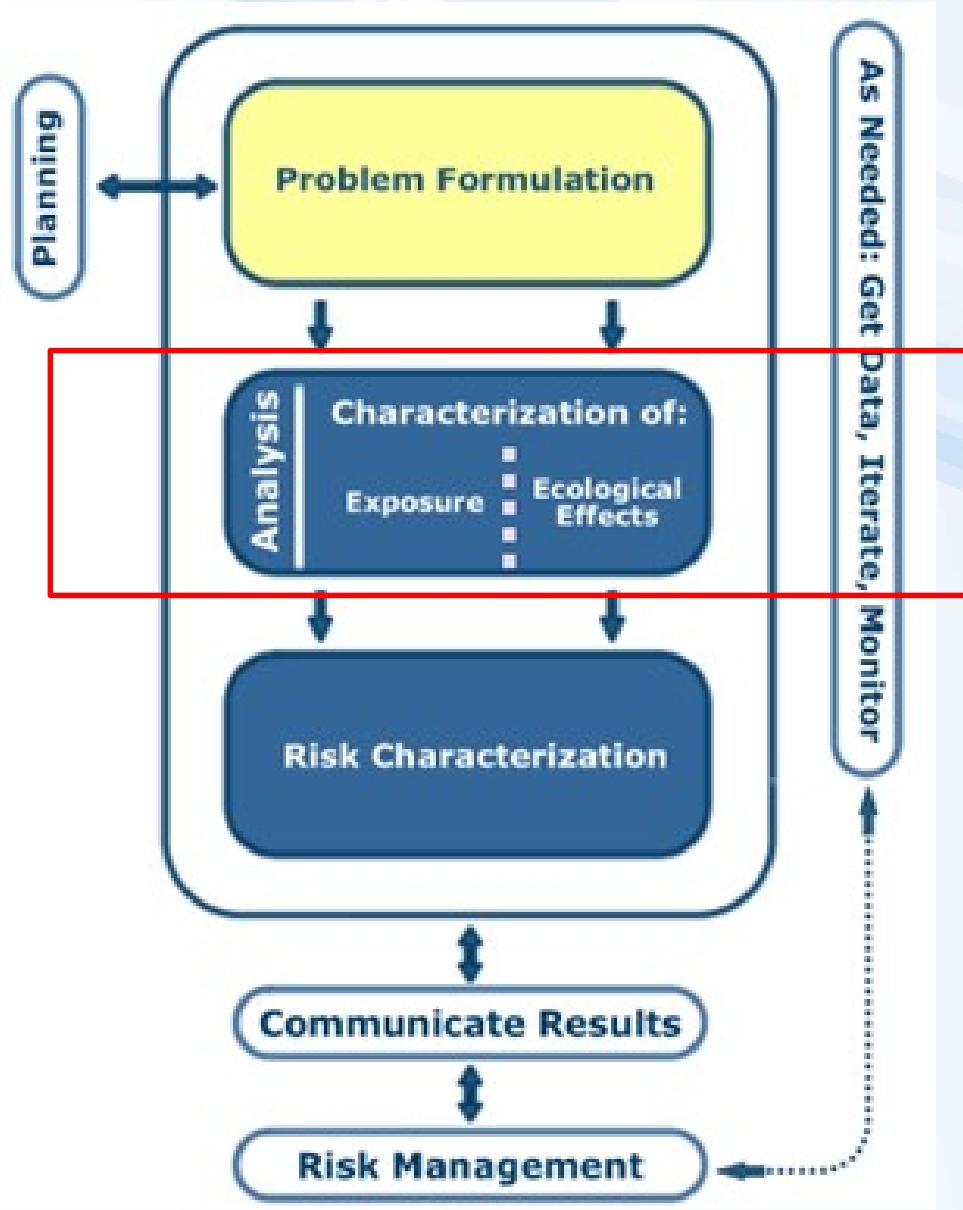
Osnova

Hodnocení účinků:

- Obecné zákonitosti
- Závislosti dávka - odpověď
- Testy toxicity - vodní, sedimentové a akvatické testy
- Hodnocení účinků - populace, ekosystémy



Hodnocení účinků

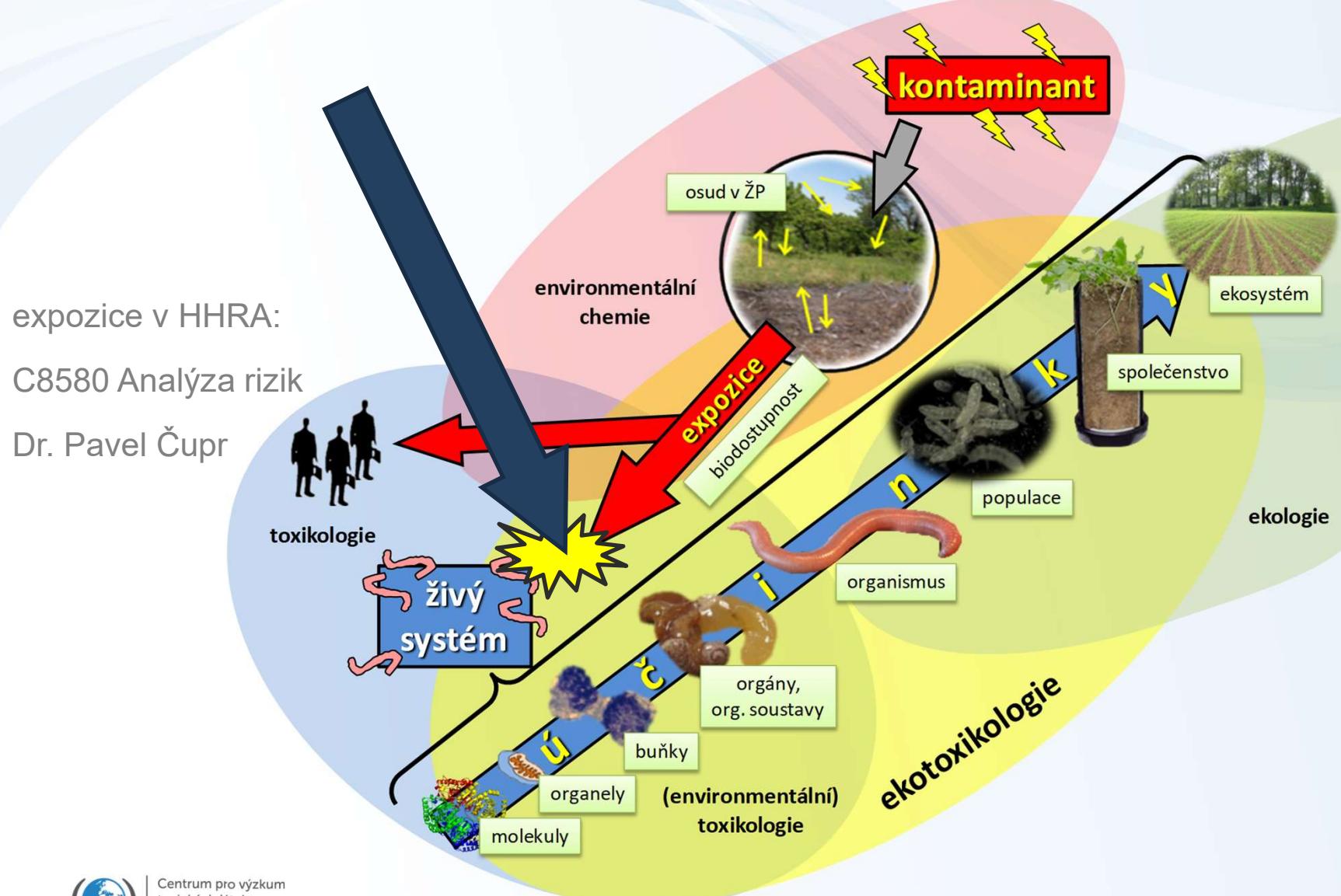


Fáze Analýzy rizik

- Analýza je proces, který zkoumá dvě hlavní složky rizika, expozice a účinků a jejich vztahy mezi sebou navzájem
- Cílem je poskytnout data nezbytné pro stanovení nebo předpovídání ekologické odezvy na stresory za podmínek expozice
- Produktem fáze analýzy jsou souhrnné profily, které popisují expozici a vztah mezi stresorem a odpovědí.
- Tyto profily tvoří základ pro odhad a popis rizika v charakterizaci rizik.
- Průběh fáze analýzy:
 - Selekce dat, která budou použita na základě jejich užitečnosti pro vyhodnocení hypotéz
 - Analýza expozice - zkoumání zdroje stresorů, distribuci stresorů v životním prostředí a míru společného výskytu nebo kontakt
 - **Analýza dopadu** - zkoumání vztahu stresor-odpověď, důkazy kauzality a vztah mezi měřenými efekty a hodnocenými endpointy



Expozice v ekotoxikologii a v EcoRA



Centrum pro výzkum
toxicických látek
v prostředí

Hodnocení účinků

- Hodnocením účinků se rozumí posouzení vlivu stresoru (a jeho různé míry působení, různé doby a časovaní) na živý organismus - receptor.
- Nezbytným zjištěním je jaký učinek má kontaminant na sledovaný receptor.
- Hodnocený biologický receptor = biologický systém, který bude využit jednak k identifikaci existujících nebo potenciálních účinků stresoru (fáze hodnocení účinků) a na kterém bude dokumentovaná nebezpečnost stresoru pro hodnocené zájmové území a jeho ekosystémy (fáze formulace problému nebo hodnocení účinků).
- Před vlastním posuzovaným účinku je nutné definovat (ve fázi formulace problému EcoRA) organismy (receptory), pro které bude hodnocení účinku provedeno.



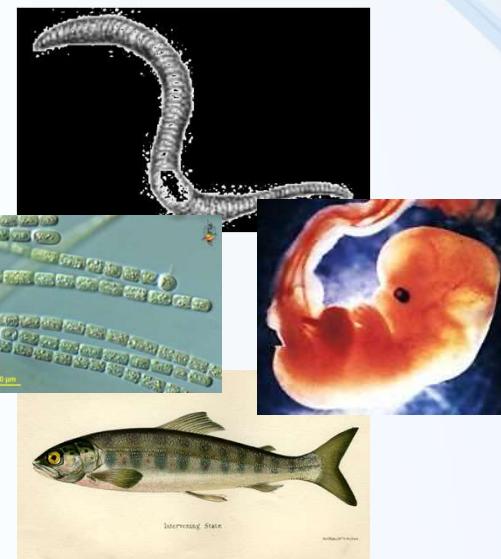
**Chemikálie v
prostředí**



**Hladiny, osud,
procesy**



Biodostupnost



“Expozice”

akutní

chronická

**Chemikálie v
organismu
*biomonitoring***



Toxikokinetika

***Biotransformace, bioaktivace,
metabolismus, vylučování ...***

Cílové místo

“Efekt”



Centrum pro výzkum
toxicit látok
v prostředí

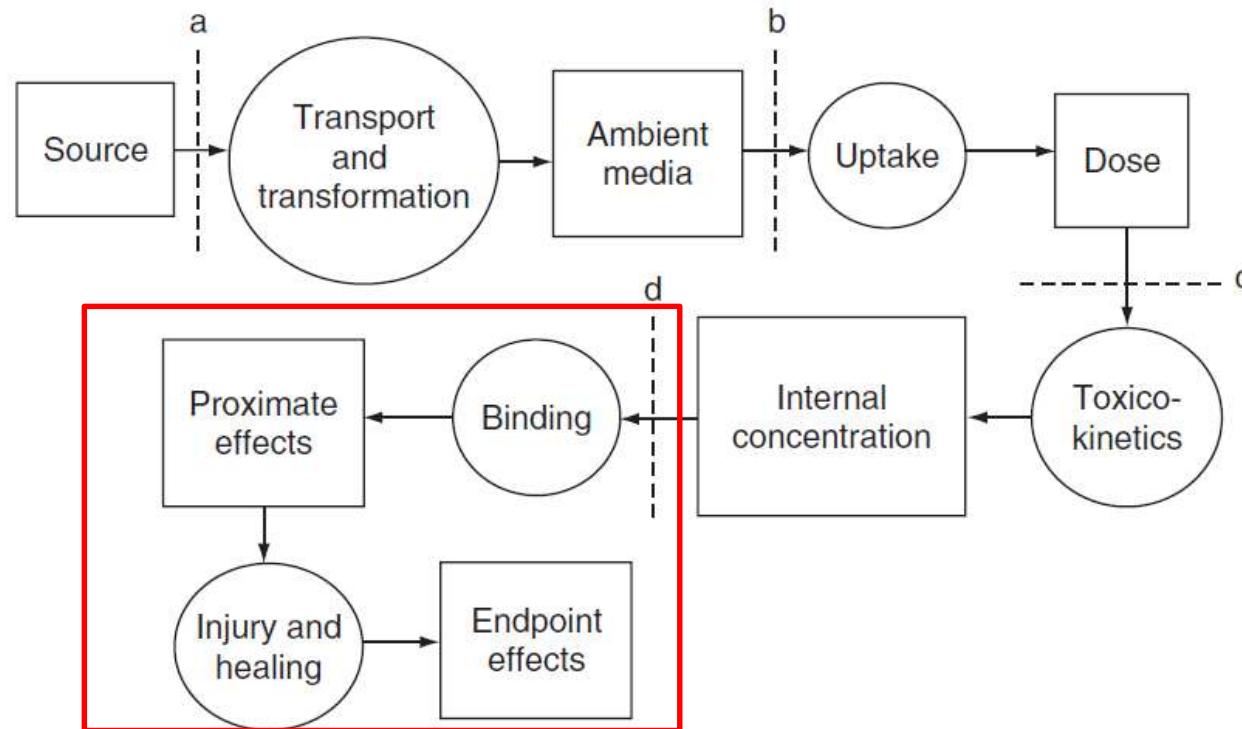


FIGURE 17.1 Generic conceptual model of toxicological risks to organisms, showing four points (*dashed lines [a-d]*) at which the causal chain may be divided into exposure and effects. The model is presented as alternating states (*rectangles*) and processes (*ovals*).



Základní kritéria pro výběr vhodných biologických receptorů

- Hodnoceným biologickým receptorem myslíme biologicky systém, který bude využit jednak k identifikaci existujících nebo potenciálních učinků stresoru a na kterém bude dokumentovaná nebezpečnost stresoru pro hodnocené zájmové území a jeho ekosystémy.
- Cílovym parametrem (endpointem) hodnocení je méně znak hodnoceného biologického systému, kteremu je podřízena metodika hodnocení, a který je jednoznačně parametrizován.
- Výběr indikátorových systémů pro dany environmentální problém musí probíhat podle **standardizovanych postupů** a musí byt obhajitelný především jako **reprezentativní** pro hodnocenou situaci.
- Citlivost a způsob zastoupení vybraných modelů musí při hodnocení vylučovat falešně negativní výsledky, vybraná sada biologických receptorů musí vést k interpretacím závažným pro zájmové území a v něm zahrnuté ekosystémy.
- Jeden typ modelového biologického receptoru může byt současně hodnocen vice cílovými parametry nebo tyto mohou byt členěny na primární a sekundární dle priority poskytované informace.



Hodnocení účinků

- Bude účinek téžé dávky u daného druhu stejný organismu vždy stejný?
- Liší se v citlivosti jednotlivé druhy mezi sebou?
- Jaký vliv na účinek mají další ekologické faktory?
- Typ účinku se liší jednak podle chemické látky, jednak podle sledovaného receptoru
 - nutno vybrat vhodný receptor
 - účinek kontaminantu odpovídajícím způsobem charakterizovat a kvantifikovat
- Hodnocení účinků kvantitativně spojuje koncentrace kontaminantů se škodlivými účinky v receptorech, dále podává informace o vztahu dávka odpověď.



Vztahy Dávka - Odpověď

Toxikant působí škodlivý efekt v biologickém systému

- po vstupu do prostředí dosahuje látka určitých **koncentrací** v prostředí
- toxický efekt je vyvolán **dávkou v těle** - působení koncentrace látky v těle po definovanou dobu
 - Osud jedu v organismu – toxikokinetika
 - Účinky jedu na organismus – toxikodynamika

Toxikologie – práce s dávkami v těle

mg/kg hmotnosti (mg/kg b.w. - *body weight*), mg/kg b.w./day

Ekotoxikologie –práce s koncentracemi v prostředí v prostředí měříme koncentrace ne dávky



Vztahy Dávka - Odpověď

Toxikant působí škodlivý efekt v biologickém systému

Příklady efektů?

- změna zdravotního stavu
- pokles příjmu potravy
- snížení reprodukční schopnosti
- mortalita

V experimentu se hodnotí POZOROVATELNÝ (měřitelný) PARAMETR =
ENDPOINT

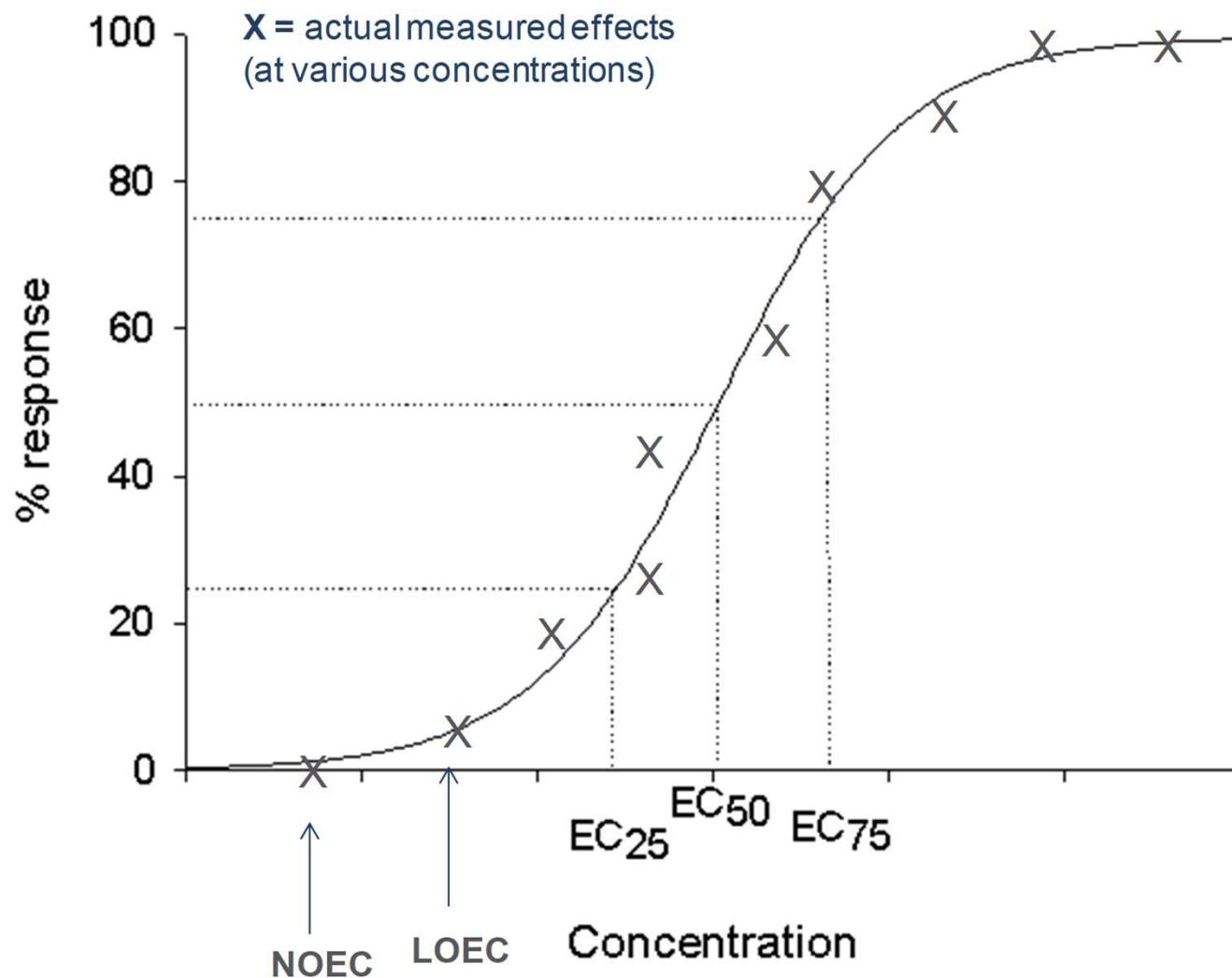
- *charakterizuje účinek a má k účinku jasný vztah*
- % přežívajících jedinců po působení dávky (efekt – mortalita)
- počty vajíček po působení dávky (efekt - reprodukční toxicita)

Endpoint může být „kvalitativní“ (nemusí být kvantifikovatelný):

- př. irritace na kůži ANO/NE
- kategorizace NEJHORŠÍ / LEPŠÍ / NEJLEPŠÍ



Concentration-Response Curve



Pro srovnání toxicity různých látek (vzorků) se užívají parametry odvozené z křivky dávka-odpověď

1) Parametry odvozené přímo z experimentálních dat

LOEC/L Lowest Observable Effect Concentration/Level

- první nejnižší koncentrace použitá v experimentu, která vyvolala významné efekty

NOEC/L No Observable Effect Concentration/Level

- podobně: koncentrace použitá v experimentu ...

Nedostatky - subjektivní

- závisí na zvolených koncentracích
- jiný experiment → jiné výsledky (koncentrační rozmezí, ředitel faktor rozdíly mezi koncentracemi 2x, 5x, 10x...)



Pro srovnání toxicity různých látek (vzorků) se užívají parametry odvozené z křivky dávka-odpověď

2) další parametry odvozené z křivky dávka – odpověď

EC_x (x=1,5,10,25,50,75,90,99 apod.)

- ne vždy je v experimentu dosaženo „přesně 5% efektu“

- parametry se počítají (z „modelované křivky“)

STANDARD - Hodnoty odvozené pro 50% efekt

- nejčastěji užívány pro srovnání toxicity (!)

- odhad v oblasti 50% efektů zatíženy nejmenší chybou

Parametry

LC50 – koncentrace (C) způsobující 50% letalitu (L)

LD50 – dávka (Dose) způsobující 50% letalitu (L)

EC50 – koncentrace způsobující 50% efekt (E)

IC50 – koncentrace způsobující 50% inhibici (I)



Metody hodnocení účinků



Centrum pro výzkum
toxicických látek
v prostředí

Obecné metody hodnocení účinku

- Tři obecné přístupy
 - Literární rešerše
 - Testování toxicity
 - Terénní studie



Literární rešerše

- Obrovské množství publikovaných a nepublikovaných informací o vztahu dávka-odpověď
 - Relativně rychlá a cenově dostupná cesta pro hodnocení existujících hladin kontaminantů a jejich potenciálních škodlivých účinků
 - Druhově specifické informace pro receptory z dané hodnocené oblasti jsou často nedostupné



Zdroje

<https://cfpub.epa.gov/ecotox/>

<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/pesticides>

https://www.efsa.europa.eu/en/search/site/%22public%20consultation%20on%20the%20active%20substance%22?solrsort=ds_published_date%20desc&results_per_page=20&page=0

<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/>

<http://www.piskac.cz/ETD/>

<https://www.echemportal.org/echemportal/page.action?pageID=9>

<https://www.atsdr.cdc.gov/>

<https://www.freshwaterecology.info/>

<https://toxnet.nlm.nih.gov/>



Testování toxicity

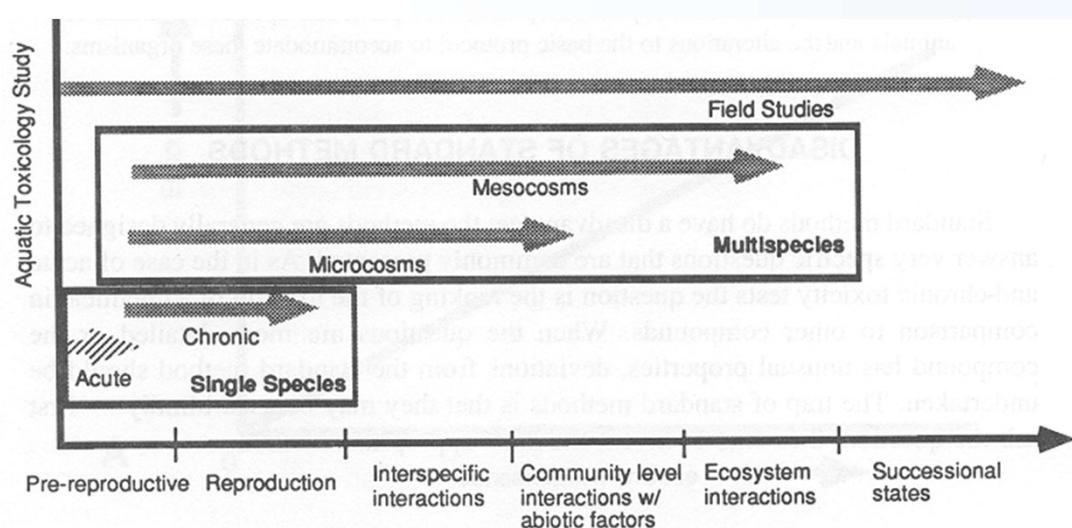
- Může získat údaje o indikaci potenciálních účinků a vytvářet tak spojení mezi kontaminanty a v terénu pozorovanými škodlivými ekologickými účinky
- Výběr testu by měl být založen na:
 - Typu habitatu
 - Zájmové složce prostředí
 - Voda, sediment, půda a složení (složení)(tvrdost, mechanické vlastnosti....)
 - Na základě definovaných receptorů (organismus, populace, společenstvo, ekosystém)
 - Hodnoceném endpointu (smrt organismu, snížení reprodukce, fekundity, počet jedinců)
 - Typu hodnoceného kontaminantu



METODY HODNOCENÍ EFEKTŮ

Praktické metody stanovení ekotoxicity

- laboratorní biotesty in vitro
- laboratorní biotesty in vivo - jednodruhové
- laboratorní mikrokosmy
- manipulované a kontrolované mezokosmy
- polní studie
- reálné ekosystémy



Roste obtížnost průkazu
KAUZALITY

Hodnocení efektů v ekotoxikologii

Cílem ekotoxikologických analýz je poznání efektů, které způsobuje přítomnost stresorů na organismy v prostředí

- suborganismální úroveň
- jednotlivé organismy
- populační efekty
- efekty ve společenstvech
- ekosystémové efekty



laboratoř

laboratoř

laboratoř
mikro/mezokosmy

mikro/mezokosmy
polní studie
terénní pozorování

terénní pozorování



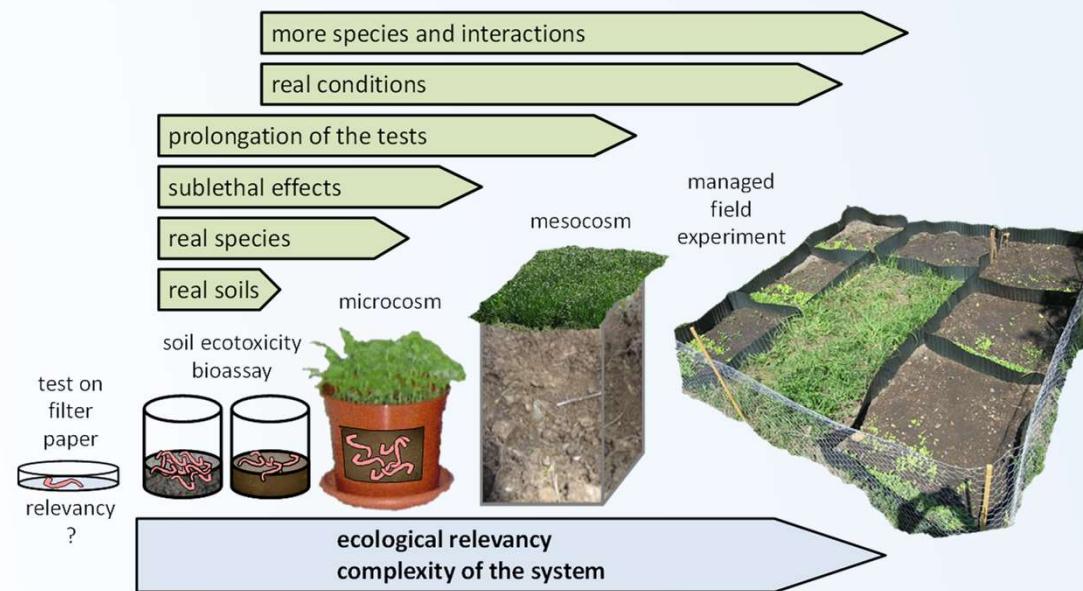
ekologická reálnost, relevance

obtížnost stanovení



Testování toxicity

- Laboratorní a terénní metody
 - Měří účinky u endpointů - přežití, růst, reprodukce
 - Může testovat individuální kontaminanty nebo složky prostředí obsahující směsi kontaminantů
 - Akutní a chronické testy
 - Akvatické, terestrické a mikrobiální testy
 - Endpointy zahrnují mortalitu, snížení reprodukce, snížení růstu, genetické poškození



Ekotoxikologické biotesty

"Experimentální (zpravidla laboratorní) metody stanovení toxickeho působení stresorů (toxickejch látiek) na přírodní organismy"

- 1) Standardní biotesty**
- 2) Alternativní biotesty**
- 3) Další biotesty (specifické mechanismy, *in vitro* testy)**

4) Testy procesů (*biodegradabilita, bioakumulace ...*)

5) *Testy orgánové toxicity s laboratorními zvířaty
obratlovci, savci "humánní toxikologie"*

6) Experimentální mikro a mezokosmy

7) Polní studie

Laboratorní
ekotoxikologické
biotesty

In situ
hodnocení
efektů



Ekotoxikologické biotesty

- Nástroje pro hodnocení účinků:
 - nejběžnější, nejpoužívanější, nejvíce propracovaný systém
- **Standardní nástroje**
 - Jednodruhové → jeden konkrétní kmen → standardní jedinci (uniformní věk, velikost apod.)
 - Zcela optimální podmínky
 - potrava, teplota, pH, světlo
 - bez dalšího biotického stresu (predátoři, infekce..)

Hlavním požadavkem ekotoxikologické studie je
průkaz KAUZALITY mezi expozicí (látkou) a efektem
(= nejčastěji průkaz „jak se toxicita mění s dávkou“ – dávka/odpověď”)



Ekotoxikologické biotesty

- Jaké vlastnosti má mít „modelový“ organismus pro standardizovaný biotest ?
 - snadná dostupnost (*laboratorní kultury, komerční dostupnost ...*)
 - snadné uchování a chov v laboratorních podmírkách do dostatečných množství pro experimenty (rychlý reprodukční cyklus)
 - Známá biologie druhu a genetika příslušné kultury
 - jsou prostudovány relativní citlivosti druhu / kultury k různým třídám toxických látek
 - citlivost druhu by měla být dobrým reprezentantem příslušné skupiny organismů
 - *Daphnia* → korýši / bezobratlí
 - *Zebřička* → kaprovité ryby / obratlovci



Aquatic organisms

| | |
|---|--------------|
| Test No. 201: Alga, Growth Inhibition Test | 11 July 2006 |
| Test No. 221: Lemna sp. Growth Inhabition Test | 11 July 2006 |
| Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test | 23 Nov 2004 |
| Test No. 211: Daphnia magna Reproduction Test | 16 Oct 2008 |
| Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test | 17 July 1992 |
| Test No. 204: Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study | 04 Apr 1984 |
| Test No. 210: Fish, Early-Life Stage Toxicity Test | 17 July 1992 |
| Test No. 212: Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages | 21 Sep 1998 |
| Test No. 215: Fish, Juvenile Growth Test | 21 Jan 2000 |
| Test No. 229: Fish Short Term Reproduction Assay | 08 Sep 2009 |
| Test No. 230: 21-day Fish Assay | 08 Sep 2009 |
| Test No. 231: Amphibian Metamorphosis Assay | 08 Sep 2009 |

Sediment organisms

| | |
|--|--------------|
| Test No. 218: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment | 23 Nov 2004 |
| Test No. 219: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Water | 23 Nov 2004 |
| Test No. 233: Sediment-Water Chironomid Life-Cycle Toxicity Test Using Spiked Water or Spiked Sediment | 23 July 2010 |
| Test No. 225: Sediment-Water Lumbriculus Toxicity Test Using Spiked Sediment | 15 Oct 2007 |

Soil organisms

| | |
|--|-------------|
| Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test | 17 Aug 2006 |
| Test No. 227: Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test | 17 Aug 2006 |
| Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests | 04 Apr 1984 |
| Test No. 220: Enchytraeid Reproduction Test | 23 Nov 2004 |
| Test No. 222: Earthworm Reproduction Test (<i>Eisenia fetida/Eisenia andrei</i>) | 23 Nov 2004 |
| Test No. 228: Determination of Developmental Toxicity of a Test Chemical to Dipteran Dung Flies(<i>Scathophaga stercoraria L.</i> (Scathophagidae), <i>Musca autumnalis De Geer</i> (Muscidae)) | 16 Oct 2008 |
| Test No. 232: Collembolan Reproduction Test in Soil | 08 Sep 2009 |
| Test No. 226: Predatory mite (<i>Hypoaspis (Geolaelaps) aculeifer</i>) reproduction test in soil | 16 Oct 2008 |
| Test No. 216: Soil Microorganisms: Nitrogen Transformation Test | 21 Jan 2000 |
| Test No. 217: Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test | 21 Jan 2000 |

Other tests

| | |
|--|--------------|
| Test No. 213: Honeybees, Acute Oral Toxicity Test | 21 Sep 1998 |
| Test No. 214: Honeybees, Acute Contact Toxicity Test | 21 Sep 1998 |
| Test No. 205: Avian Dietary Toxicity Test | 04 Apr 1984 |
| Test No. 206: Avian Reproduction Test | 04 Apr 1984 |
| Test No. 223: Avian Acute Oral Toxicity Test | 23 July 2010 |

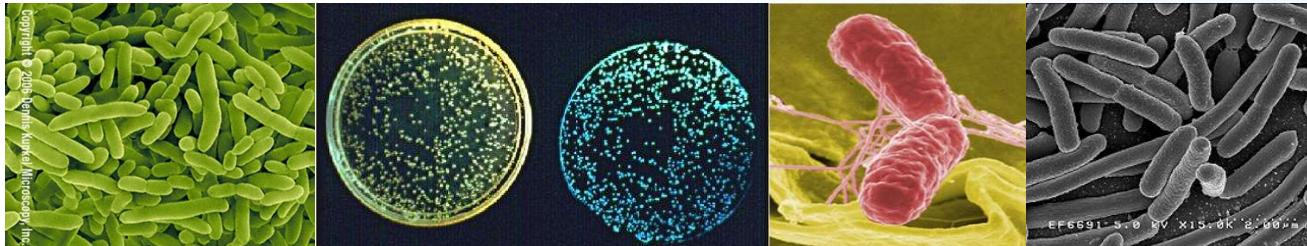
ISO guidelines

International
Standardization
Organization



Aquatic microorganisms

| | |
|------------------|--|
| ISO 10712:1995 | Water quality -- <u>Pseudomonas putida growth inhibition test</u> (Pseudomonas cell multiplication inhibition test) |
| ISO 11348-1:2007 | Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water samples on the <u>light emission of Vibrio fischeri</u> (Luminescent bacteria test) -- Part 1: Method using freshly prepared bacteria |
| ISO 11348-2:2007 | Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test) -- Part 2: Method using liquid-dried bacteria |
| ISO 11348-3:2007 | Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test) -- Part 3: Method using freeze-dried bacteria |
| ISO 13641-1:2003 | Water quality -- Determination of inhibition of gas production of anaerobic bacteria -- Part 1: General test |
| ISO 13641-2:2003 | Water quality -- Determination of inhibition of gas production of anaerobic bacteria -- Part 2: Test for low biomass concentrations |
| ISO 13829:2000 | Water quality -- Determination of the genotoxicity of water and waste water using the <u>umu-test</u> |
| ISO 16240:2005 | Water quality -- Determination of the genotoxicity of water and waste water -- Salmonella/microsome test (<u>Ames test</u>) |
| ISO/DIS 11350 | Water quality -- Determination of the genotoxicity of water and waste water -- Salmonella/microsome fluctuation test (Ames fluctuation test) |
| ISO 15522:1999 | Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water constituents on the growth of activated sludge microorganisms |
| ISO 21338:2010 | Water quality -- Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment, other solids and coloured samples on the light emission of Vibrio fischeri (<u>kinetic luminescent bacteria test</u>) |
| ISO 8192:2007 | Water quality -- Test for inhibition of oxygen consumption by activated sludge for carbonaceous and ammonium oxidation |
| ISO 9509:2006 | Water quality -- Toxicity test for assessing the inhibition of nitrification of activated sludge microorganisms |



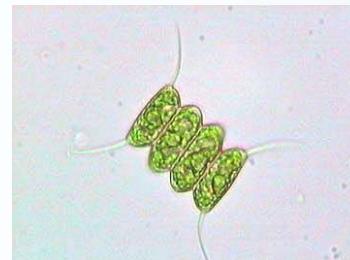
ISO guidelines

International
Standardization
Organization



Aquatic plants

| | |
|-------------------|---|
| ISO 20079:2005 | Water quality -- Determination of the toxic effect of water constituents and waste water on duckweed (<i>Lemna minor</i>) -- Duckweed growth inhibition test |
| ISO 8692:2004 | Water quality -- Freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae |
| ISO/CD 16191 | Water quality - Determination of the toxic effect of sediment and soil on the growth behaviour of <i>Myriophyllum aquaticum</i> - <i>Myriophyllum</i> test |
| ISO 10253:2006 | Water quality -- Marine algal growth inhibition test with <i>Skeletonema costatum</i> and <i>Phaeodactylum tricornutum</i> |
| ISO 10710:2010 | Water quality -- Growth inhibition test with the marine and brackish water macroalga <i>Ceramium tenuicorne</i> |
| ISO 14442:2006 | Water quality -- Guidelines for algal growth inhibition tests with poorly soluble materials, volatile compounds, metals and waste water |
| ISO/DIS 13308 | Water quality -- Toxicity test based on reproduction inhibition of the green macroalga <i>Ulva pertusa</i> |
| ISO/TR 11044:2008 | Water quality -- Scientific and technical aspects of batch algae growth inhibition tests |



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

ISO guidelines

International
Standardization
Organization



Aquatic invertebrates

| | |
|-----------------|--|
| ISO 6341:1996 | Water quality -- Determination of the inhibition of the mobility of <i>Daphnia magna</i> Straus (Cladocera, Crustacea) -- <u>Acute toxicity test</u> |
| ISO 10706:2000 | Water quality -- Determination of <u>long term toxicity of substances to Daphnia magna</u> Straus (Cladocera, Crustacea) |
| ISO/DIS 14380 | Water quality -- Determination of the <u>acute toxicity to Thamnocephalus platyurus</u> (Crustacea, Anostraca) |
| ISO/CD 16303 | Water quality -- Determination of toxicity of <u>fresh water sediments using Hyalella azteca</u> |
| ISO 10872:2010 | Water quality -- Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and <u>reproduction of Caenorhabditis elegans</u> (Nematoda) |
| ISO 16712:2005 | Water quality -- Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediment to amphipods |
| ISO 20665:2008 | Water quality -- Determination of chronic toxicity to <i>Ceriodaphnia dubia</i> |
| ISO 20666:2008 | Water quality -- Determination of the chronic toxicity to <i>Brachionus calyciflorus</i> in 48 h |
| ISO 14669:1999 | Water quality -- Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea) |
| ISO/DIS 14371 | Water quality -- Determination of freshwater-sediment subchronic toxicity to <i>Heterocypris incongruens</i> (Crustacea, Ostracoda) |
| ISO 7828:1985 | Water quality -- Methods of biological sampling -- Guidance on handnet sampling of aquatic benthic macro-invertebrates |
| ISO 8265:1988 | Water quality -- Design and use of quantitative samplers for benthic macro-invertebrates on stony substrata in shallow freshwaters |
| ISO 8689-1:2000 | Water quality -- Biological classification of rivers -- Part 1: Guidance on the interpretation of biological quality data from surveys of benthic macroinvertebrates |
| ISO 8689-2:2000 | Water quality -- Biological classification of rivers -- Part 2: Guidance on the presentation of biological quality data from surveys of benthic macroinvertebrates |
| ISO/DIS 10870 | Water quality -- Guidelines for the selection of sampling methods and devices for benthic macroinvertebrates in fresh waters |
| ISO/WD 16778 | Water quality -- Calanoid copepod development test with <i>Acartia tonsa</i> |



ISO guidelines

International
Standardization
Organization



Aquatic vertebrates

| | |
|---------------------|---|
| ISO 15088:2007 | Water quality -- Determination of the acute toxicity of <u>waste water to zebrafish eggs</u> (<i>Danio rerio</i>) |
| ISO 7346-1:1996 | Water quality -- Determination of the <u>acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish</u> [<i>Brachydanio rerio</i> Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] -- Part 1: Static method |
| ISO 7346-2:1996 | Water quality -- Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [<i>Brachydanio rerio</i> Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] -- Part 2: Semi-static method |
| ISO 7346-3:1996 | Water quality -- Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [<i>Brachydanio rerio</i> Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] -- Part 3: Flow-through method |
| ISO 10229:1994 | Water quality -- Determination of the prolonged toxicity of substances to freshwater fish -- Method for evaluating the effects of substances on the <u>growth rate of rainbow trout</u> (<i>Oncorhynchus mykiss</i> Walbaum (Teleostei, Salmonidae)) |
| ISO 12890:1999 | Water quality -- Determination of toxicity to embryos and larvae of freshwater fish -- Semi-static method |
| ISO 21427-1:2006 | Water quality -- Evaluation of genotoxicity by measurement of the induction of micronuclei -- Part 1: Evaluation of genotoxicity using amphibian larvae |
| ISO 21427-2:2006 | Water quality -- Evaluation of genotoxicity by measurement of the induction of micronuclei -- Part 2: Mixed population method using the cell line V79 |
| ISO 23893-1:2007 | Water quality -- Biochemical and physiological measurements on fish -- Part 1: Sampling of fish, handling and preservation of samples |
| ISO/TS 23893-2:2007 | Water quality -- Biochemical and physiological measurements on fish -- Part 2: Determination of ethoxresorufin-O-deethylase (EROD) |
| ISO/CD 23893-3 | Water quality -- Biochemical and physiological measurements on fish -- Part 3: Determination of vitellogenin |



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

ISO guidelines

International
Standardization
Organization



Soil microorganisms

| | |
|---------------------|---|
| ISO 10381-6:2009 | Soil quality -- Sampling -- Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil under aerobic conditions for the assessment of microbiological processes, biomass and diversity in the laboratory |
| ISO 14240-1:1997 | Soil quality -- Determination of soil microbial biomass -- Part 1: Substrate-induced respiration method |
| ISO 14240-2:1997 | Soil quality -- Determination of soil microbial biomass -- Part 2: Fumigation-extraction method |
| ISO 16072:2002 | Soil quality -- Laboratory methods for determination of microbial soil respiration |
| ISO 17155:2002 | Soil quality -- Determination of abundance and activity of soil microflora using respiration curves |
| ISO 15685:2004 | Soil quality -- Determination of potential nitrification and inhibition of nitrification -- Rapid test by ammonium oxidation |
| ISO 14238:1997 | Soil quality -- Biological methods -- Determination of nitrogen mineralization and nitrification in soils and the influence of chemicals on these processes |
| ISO 23753-1:2005 | Soil quality -- Determination of dehydrogenase activity in soils -- Part 1: Method using triphenyltetrazolium chloride (TTC) |
| ISO 23753-2:2005 | Soil quality -- Determination of dehydrogenase activity in soils -- Part 2: Method using iodo-tetrazolium chloride (INT) |
| ISO/DIS 11063 | Soil quality -- Method to directly extract DNA from soil samples |
| ISO/TS 29843-1:2010 | Soil quality -- Determination of soil microbial diversity -- Part 1: Method by phospholipid fatty acid analysis (PLFA) and phospholipid ether lipids (PLEL) analysis |
| ISO/PRF TS 29843-2 | Soil quality -- Determination of soil microbial diversity -- Part 2: Method by phospholipid fatty acid analysis (PLFA) using the simple PLFA extraction method |
| ISO/TS 10832:2009 | Soil quality -- Effects of pollutants on mycorrhizal fungi -- Spore germination test |
| ISO/TS 22939:2010 | Soil quality -- Measurement of enzyme activity patterns in soil samples using fluorogenic substrates in micro-well plates |
| ISO 11266:1994 | Soil quality -- Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under aerobic conditions |
| ISO 15473:2002 | Soil quality -- Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under anaerobic conditions |
| ISO 14239:1997 | Soil quality -- Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions |



ISO guidelines

International
Standardization
Organization



Soil invertebrates

| | |
|------------------|--|
| ISO 11268-1:1993 | Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms (<i>Eisenia fetida</i>) -- Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate |
| ISO 11268-2:1998 | Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms (<i>Eisenia fetida</i>) -- Part 2: Determination of effects on reproduction |
| ISO 11268-3:1999 | Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms -- Part 3: Guidance on the determination of effects in field situations |
| ISO 11267:1999 | Soil quality -- Inhibition of reproduction of <i>Collembola</i> (<i>Folsomia candida</i>) by soil pollutants |
| ISO 16387:2004 | Soil quality -- Effects of pollutants on Enchytraeidae (<i>Enchytraeus sp.</i>) -- Determination of effects on reproduction and survival |
| ISO 15952:2006 | Soil quality -- Effects of pollutants on juvenile land snails (Helicidae) -- Determination of the effects on growth by soil contamination |
| ISO 20963:2005 | Soil quality -- Effects of pollutants on insect larvae (<i>Oxythyrea funesta</i>) -- Determination of acute toxicity |
| ISO 17512-1:2008 | Soil quality -- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour -- Part 1: Test with earthworms (<i>Eisenia fetida</i> and <i>Eisenia andrei</i>) |
| ISO/DIS 17512-2 | Soil quality -- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour -- Part 2: Test with collembolans (<i>Folsomia candida</i>) |
| ISO 23611-1:2006 | Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 1: Hand-sorting and formalin extraction of earthworms |
| ISO 23611-2:2006 | Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (Collembola and Acarina) |
| ISO 23611-3:2007 | Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 3: Sampling and soil extraction of enchytraeids |
| ISO 23611-4:2007 | Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting nematodes |
| ISO/DIS 23611-5 | Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 5: Sampling and extraction of soil macro-invertebrates |
| ISO/DIS 23611-6 | Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 6: Guidance for the design of sampling programmes with soil invertebrates |



Centrum pro výzkum
toxicických látek
v prostředí

ISO guidelines

International
Standardization
Organization



Plants

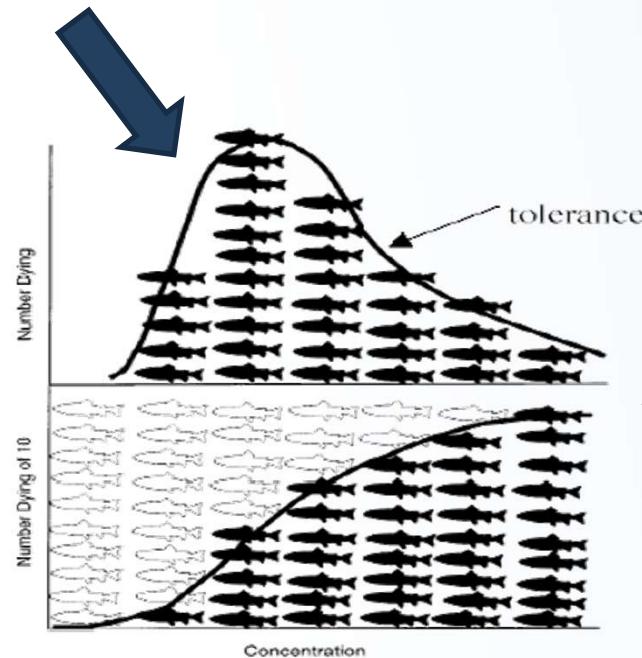
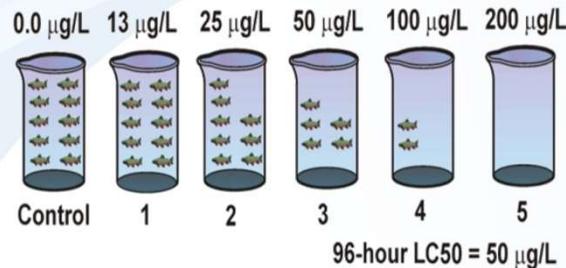
| | |
|------------------|--|
| ISO 11269-1:1993 | Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth |
| ISO 11269-2:2005 | Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants |
| ISO 17126:2005 | Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Screening test for emergence of lettuce seedlings (<i>Lactuca sativa L.</i>) |
| ISO 22030:2005 | Soil quality -- Biological methods -- Chronic toxicity in higher plants |
| ISO/CD 29200 | Soil quality -- Assessment of genotoxic effects on higher plants -- Micronucleus test on <i>Vicia faba</i> |



Centrum pro výzkum
toxicických látek
v prostředí

Vztahy Dávka (koncetrace) - Odpověď'

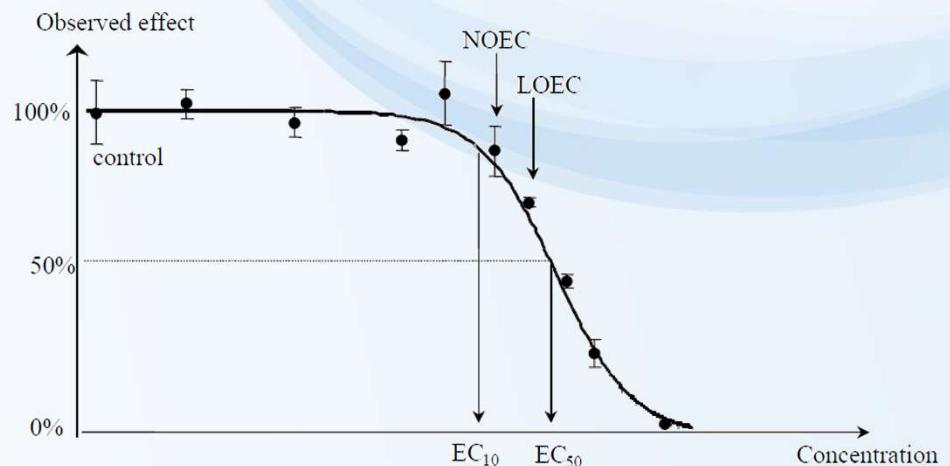
Concentration:



Concentration and Dose

Note

Concentration and dose both refer to the amount of test material to which the test organism is subjected. Concentrations are used to describe the amount of test material in the testing environment (e.g., mg/L in water, mg/kg in soil or mg/kg in food). Doses are used to describe the amount of test material administered to a subject (e.g., mg/kg-bodyweight in an avian bolus study). Statistical methods for both types of studies are identical; however, interpretations are different. Although "concentration" is used throughout this document, all the statistical methods presented here also apply to studies in which a dose is used.



No Observed Effect Concentration (NOEC)
Lowest Observed Effect Concentration (LOEC)
EC_x (x % effects concentration)
LC_x (x % lethal concentration)



Využití křivky dávka - odpověď'

Srovnání toxicity různých látek

Problém: různé směrnice (sklon) křivky Dávka-Odpověď'

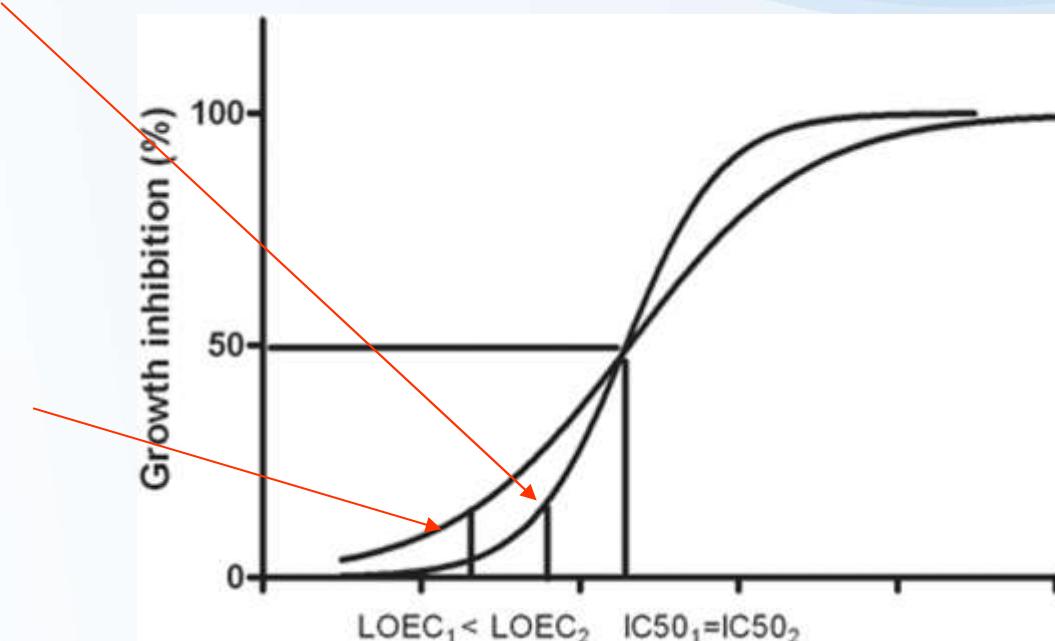
→ Pro interpretaci je nutno uchovat (ukázat) data celé křivky

Příklad:

Na základě EC50 není rozdíl

ALE

Iátko 1 vykazuje efekty ve
významně nižších koncentracích
(bude mít nižší LOEC/NOEC]



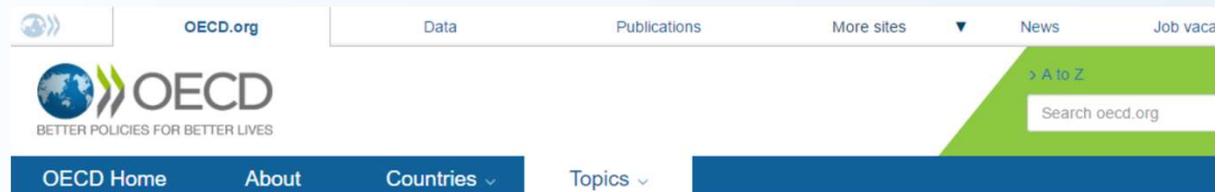
Výsledkem hodnocení toxicity jsou „KONCENTRACE“

- Vyjádření KONCENTRACÍ při hodnocení TOXICITY
- (1) čisté látky a definované směsi látek
(barvy, produkty chemické výroby ...)
KONCENTRACE hmotnostní nebo molární
 - mg/L, ug/L, mmol/L (=mM), nmol/L (=nM) apod.
- (2) vzorky z prostředí a jejich extrakty (výluhy apod.)
 - KONCENTRACE původní matrice
př. Voda EC50 = 1% (100x ředěná voda vyvolává 50% efekt)
 - KONCENTRACE EXTRAKTU (% ředění ...)



Adverse Outcome Pathways (AOP)

- AOP je uspořádané vyjádření biologických událostí vedoucích k nepříznivým účinkům, a je považováno za důležité pro hodnocení rizika.
- Dosavadní znalosti jsou použity pro kauzální spojení dvou klíčových událostí: molekulární iniciační události (MI) a nepříznivý výsledek (AO), které se vyskytují na úrovni biologické organizace
- popisuje řetězec kauzálně spojených akcí na různých úrovních biologické struktury, které vedou k nepříznivému vlivu na zdraví nebo ekotoxikologického účinek.
- <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/adverse-outcome-pathways-molecular-screening-and-toxicogenomics.htm>



The screenshot shows the top navigation bar of the OECD website. It includes links for Data, Publications, More sites, News, and Job vacancies. A search bar is also present. The main menu below the bar includes links for OECD Home, About, Countries, and Topics.

[OECD Home](#) > [Chemical safety and biosafety](#) > [Testing of chemicals](#) > Adverse Outcome Pathways, Molecular Screening and Toxicogenomics

Adverse Outcome Pathways, Molecular Screening and Toxicogenomics



Centrum pro výzkum
toxicitoxických látek
v prostředí

The OECD Environmental, Health and Safety (EHS) Programme has been helping member countries to make better use

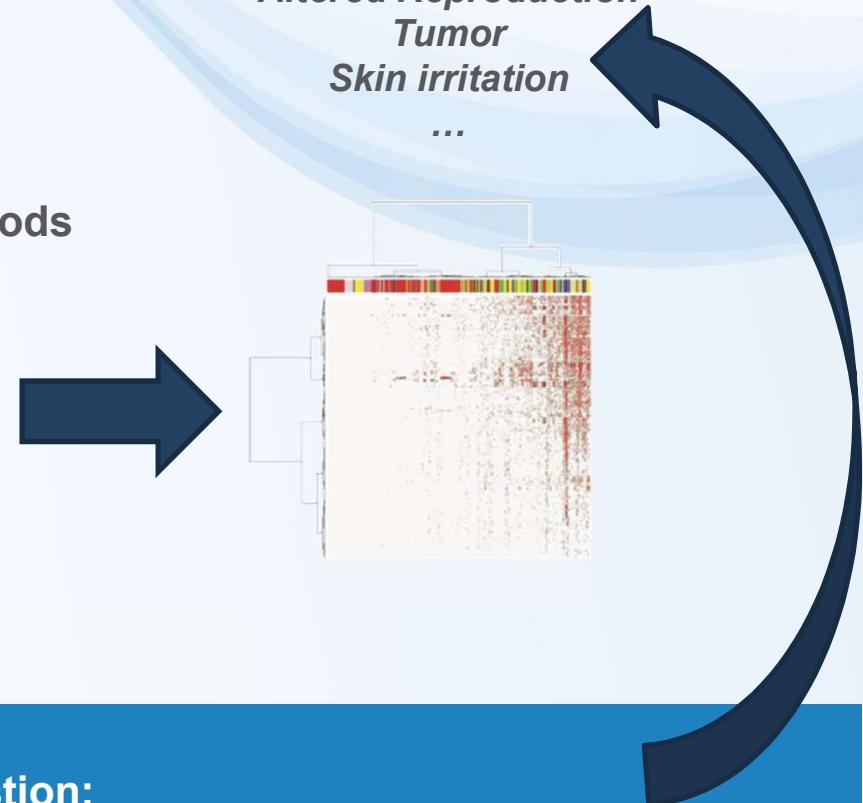
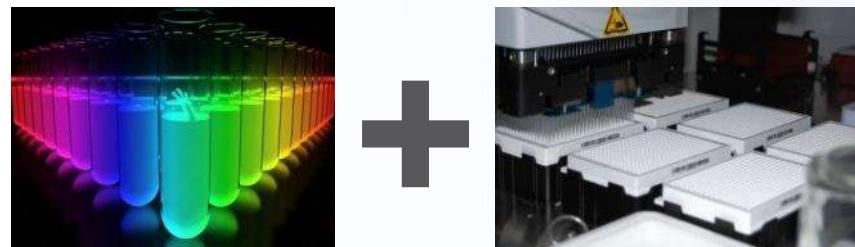
Adverse Outcome Pathways (AOP)

Traditionally – Evaluation of adverse effects using the whole organism models

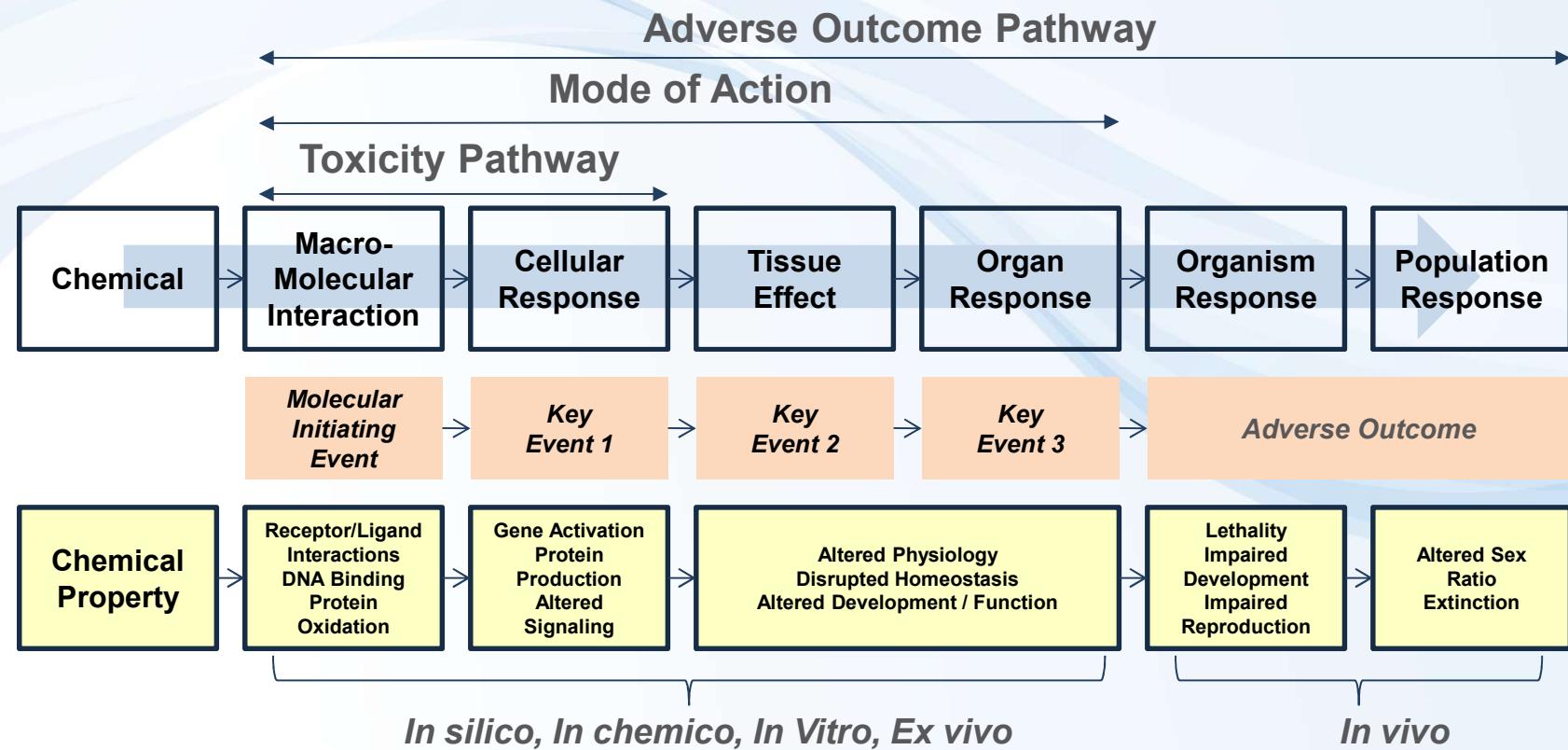


Adverse Effects
*Death
Inhibition of Growth
Altered Reproduction
Tumor
Skin irritation
...*

New – Ex vivo / in vitro / In chemico / In silico Methods



Key task/question:
How to link MECHANISTIC INFORMATION with APICAL ENDPOINTS ?



| Toxicant | Macro-Molecular Interactions | Cellular Responses | Organ Responses | Organism Responses | Population Responses |
|---------------------|------------------------------|--------------------|--------------------------------------|-----------------------|----------------------|
| Chemical Properties | Receptor/Ligand Interaction | Gene activation | Altered Physiology | Lethality | Structure |
| | DBA Binding | Protein Production | Disrupted Homeostasis | Impaired Development | Extinction |
| | Protein Oxidation | Altered Signaling | Altered tissue development/ function | Impaired Reproduction | |



Základní úrovně pro EcoRa

- Organismus
- Populace
- Ekosystém- základní modelovou jednotkou v EcoRa
 - Nejkomplexnější jednotka
 - Zahrnuje živé i neživé složky
 - Zahrnuje mezidruhové vztahy
 - Zahrnuje vlivy vedlejších faktorů
 - Přechod k regionálnímu hodnocení



Základní úrovně pro EcoRa

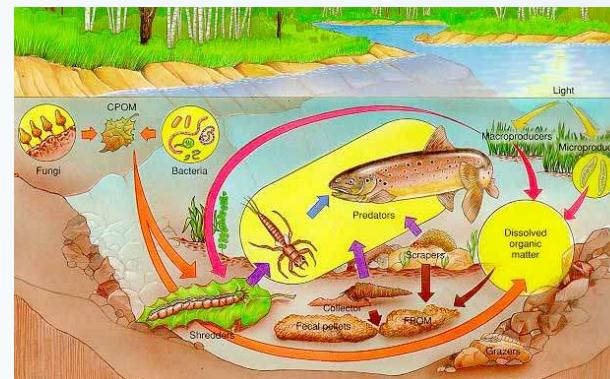
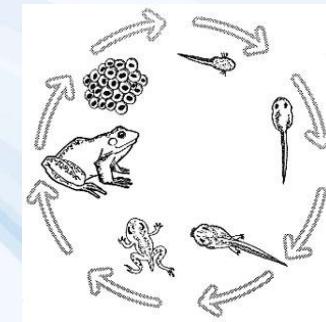
ALE: ... realita & cíl ekotoxikologie je
→ Chránit populace v ekosystémech

BIOTA

POPULACE

SPOLEČENSTVA
(interakce mezi populacemi)

EKOSYSTÉMY



Centrum pro výzkum
toxicických látek
v prostředí

Hodnocení účinků na úrovni populace, společenstva, ekosystémů

Efekty na biochemické a úrovni organismů

- relativně snadno popsatelné a stanovitelné
- dobrá kvantifikace

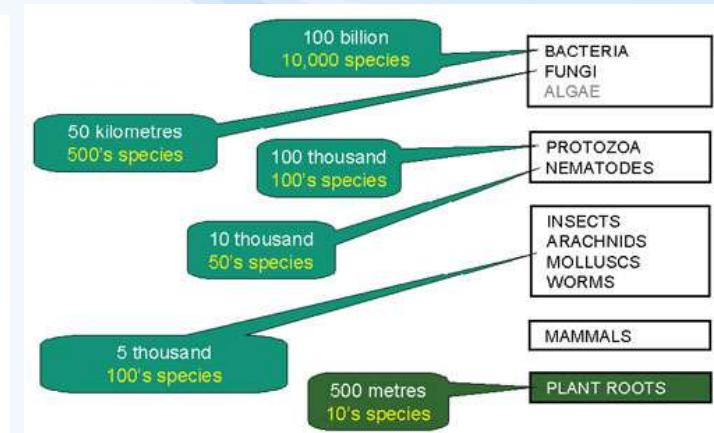
Efekty na úrovni populací a společenstev

- obtížně studovatelné a kvantifikovatelné
 - komplexnost a variabilita
 - dobře prokazatelné až velké změny
 - pomalé projevy
 - organismální efekty nejsou vždy interpretovatelné
 - obtížně prokazatelná kauzalita "*toxikant <-> efekt*"
 - obtížně predikovatelné



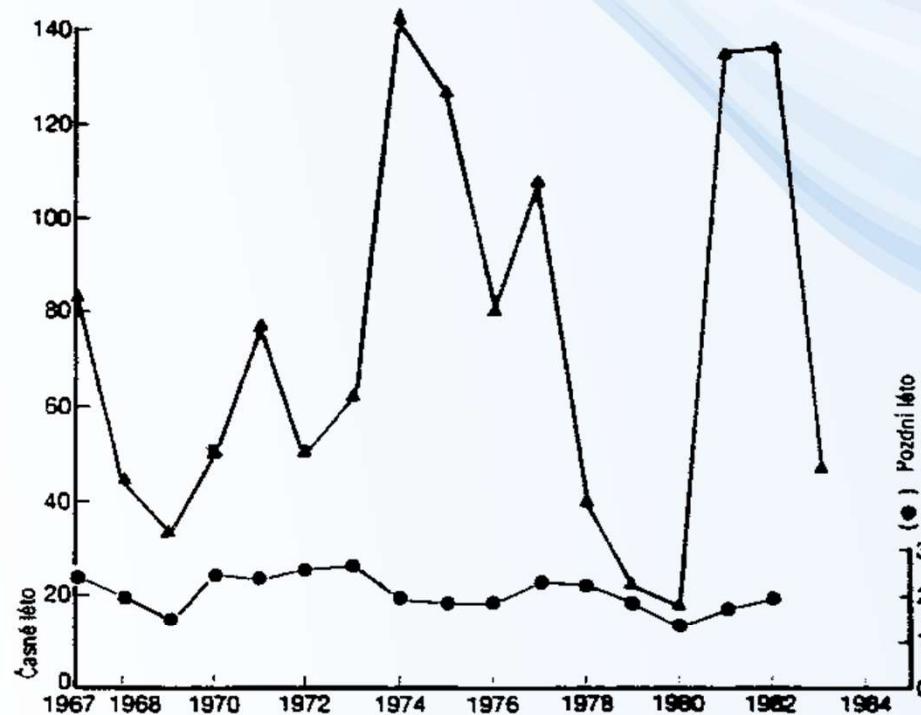
Hodnocení účinků na úrovni populace, společenstva, ekosystémů

- Ecosystems are NOT more complex than we think.
They are more complex than we CAN think.



Variabilita v populacích ... je přirozená

Obr. 1 Příklady populační dynamiky na základě empirických šetření, publikovaných v anglické učebnici ekologie (Begon, Harper et Townsend 1987)



1a) Pstruh potoční (*Salmo trutta*) v jednom z toků anglické jezerní oblasti
Trojúhelníky – počty v časném létě včetně jedinců čerstvě vykulených z jiker; plná kolečka – počty
v pozdním létě (rozdílné měřítko vertikální osy)



Základní „měřitelné“ PARAMETRY populací (demografické parametry)

Populace - Jedinci téhož druhu, kteří obývají ve stejném čase stejné území (lokalitu)

Primární parametry

- natalita: počet jedinců za jednotku času (a nejčastěji jedince)
- mortalita: počet jedinců kteří zemřou za jednotku času (a nejčastěji jedince)
(JINAK: za jak dlouho zemře příslušný jedinec)
- měřítko velikosti (performance) – úspěšnost – specifický parametr pro různé druhy (např. velikost, počet jedinců, počet semen, květů, množství biomasy aj.)

Sekundární parametry - odvozené z primárních

- závislost natality, mortality, performance *na výchozí velikosti*
- frekvence (četnost / jak často?) přechodu z jedné velikostní třídy do druhé
(~ *rychlosť růstu populace: oba uvedené body vyjadřují totéž, jen v pojetí kvantitativním a kvalitativním*)



EKOTOXIKOLOGIE V POPULACÍCH

Vlastnosti na úrovni jedince, které jsou klíčové pro udržení/růst populací:

- vyspělost k rozmnožování
(rychlosť dosažení / růst / pohlavní dospělost)
- rozmnožování
(produkce gamet – počty, kvalita...)

Efekty toxických látek na úrovni jedince

→ projevy na úrovni populací

- změny abundancí / počtu (*snížení růstové kapacity*)
- změny natality / fekundity
- změny demografie (*př. stárnutí populace*)



EKOTOXIKOLOGIE V POPULACÍCH

- Příklady:
 - 1) selekce genů v populacích
 - antibiotika-rezistentní bakterie (viz jinde)
 - hmyz rezistentní na pesticidy (viz jinde)
 - znečištění vzduchu - drsnokřídlec v Británii: tmavé vs. Světlé varianty
https://www.idnes.cz/technet/veda/cesti-a-britstvi-vedci-objevili-duvod-drasticke-premeny-bileho-motyla-na-muru.A110415_1567100_veda_vse
 - rezistence (snížení citlivosti) k toxicitě kovů
 - 2) změny v rozložení pohlaví v populacích („sex ratio“)
 - pohlaví u člověka
 - změny rozložení pohlaví u hmyzu
 - 3) vliv toxických látek na velikost a rozmnožování
 - Hg vs. ryby



Životní cyklus druhu a populační ekotoxikologie

- Citlivost různých vývojových stadií
 - zásadní význam pro demografii populace
- Mladší stadia (embrya) bývají citlivější k vlivům toxikantů
 - *citlivost: rychle dělící se buňky u embryí a larev*
 - *viz embryotoxicita*
- Důsledek - snížení fekundity → stárnutí populace
- Výjimky - *mechanická ochrana (povrchové vrstvy)*
 - rezistence vajíček ryb (vs. vysoce *citlivá embryo ryb*)
 - semena rostlin, klidová stadia dalších organismů



Jak prostudovat účinky s dopady na populace ?

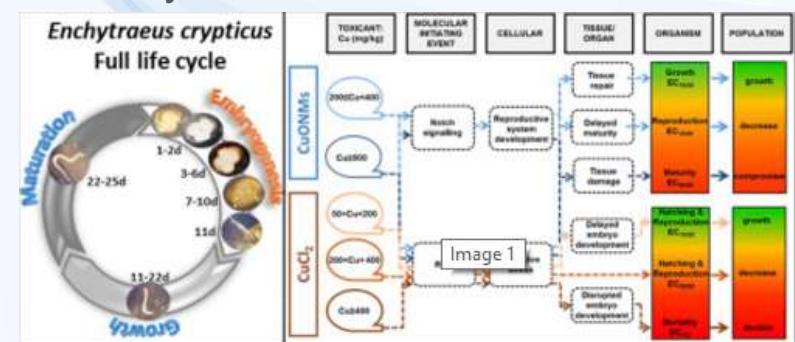
1) Experimentální studie reprodukční toxicity

- *D. magna* – 21 denní reprodukční test
- Žížaly – 4 týdenní reprodukční testy
- chvostoskoci *Folsomia candida* - reprodukční testy

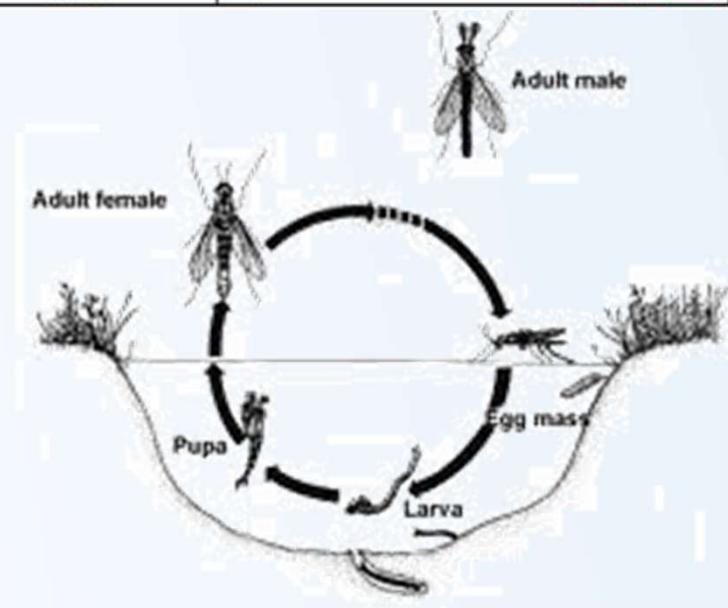


2) Testy celoživotního cyklu

- Např. pakomáři *Chironomus* (OECD guideline 233)



3) Modelování (např. DEB modely)





Does long term low impact stress cause population extinction?



M.J.B. Amorim^a, , C. Pereira^a, , A.M.V.M. Soares^a, , J.J. Scott-Fordsmand^b,

Highlights

- *F. candida* was exposed to Cd in 40 consecutive reproduction tests (3.5 years multigenerational-MG).
- EC10 (32 mg Cd/kg) caused population extinction after one year, while EC50 (60 mg Cd/kg) survived.
- Size distribution shifts could explain extinction (EC10: positive skew, EC50: negative skew).
- Higher metallothionein levels for EC50 exposed could be a survival strategy.
- Maximum Cd tolerance limits of *F. candida* increased for Cd EC50 MG.



Hodnocení účinků na úrovni společenstva, ekosystémů

- Nejasné vymezení v terénu
- Praktická nemožnost kompletního popisu (nelze sestavit úplný seznam druhů)
- Časová a finanční náročnost ekosystémového výzkumu
- Obtížný popis a kvantifikace jevů
- Typický pro ekosystémovou úroveň
- Definování škodlivosti na úrovni ekosystému je obtížné
 - „zdravotní stav“ a jeho změny jsou těžce definovatelné
 - Projevuje se vliv ostatních ekologických faktorů, ztěžují možnost určit vliv samotného kontaminantu
 - Negativní postižení jednoho druhu organismu vyvolá negativní odezvu u řady dalších druhů, nebo současně pozitivní reakci u jiných druhů (kteří jsou konkurenty)
 - Účinek toxikantu nevede k likvidaci ekosystému ale přeměně na jiný ekosystém -v něm se realizují jiné druhy, sukcesní vývoj



Společenstvo - biocenoza (Community)

- Soubor populací různých druhů, které spolu žijí v určitém prostředí (biotopu) a vzájemně spolu interagují (existence vazeb)
- Příklady vztahů (interakcí) mezi populacemi druhů
 - Kompetice (o potravu, o prostor, o světlo ...)
 - Symbioza
 - Potravní vztahy / potravní řetězce
 - atd. atd.
- -> důsledek: variabilita / přirozené kolísání počtů



Základní principy – ZPĚTNÉ VAZBY

ZPĚTNÉ VAZBY

pozitivní = nárůst „B“ způsobuje nárůst „A“



negativní = nárůst „B“ způsobuje pokles „A“



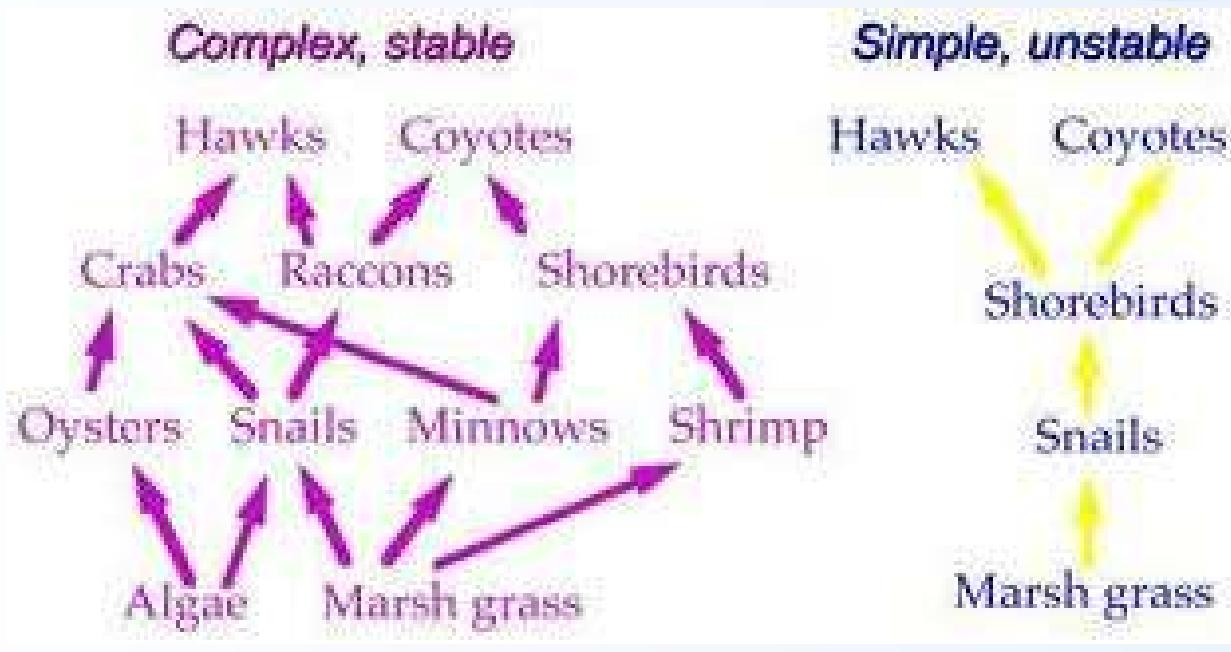
Příklady:

- propojené populační cykly králíka a rysa (predátor)
+ další součásti biocenozy → další strana



Jak lze společenstva popsat / parametrizovat ?

- **PARAMETRIZACE (měřitelné veličiny)**
- *Působení stresorů → změny v měřitelných parametrech*
 - Základní popis - parametry **strukturní**
 - (*Parametry **funkční** – viz dále: ekosystémová úroveň*)
- Bohatá struktura (bohatost vztahů / biodiverzita)
→ podmínka *stability biocenozy i ekosystému*



EKOTOXIKOLOGIE SPOLEČENSTEV

- struktura -

Strukturní parametry

- parametry faunistické/floristické (druhové složení a zastoupení)
- prostorové a časové cykly
- vztahy ve společenstvu / společenstvo - prostředí
- **Množství a abundance**
 - počty jedinců
 - biomasa
 - chlorofyl-a
 - pokryvnost
 - parametry vztažené na plochu (*terestr.*) a objem (*akvat.*)



EKOTOXIKOLOGIE SPOLEČENSTEV

- struktura -

Charakterizace DIVERZITY

- INDEXY

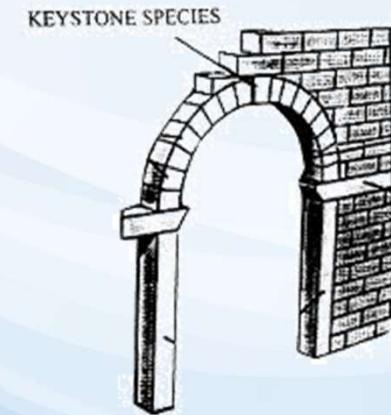
Ni – počet jedinců jednoho druhu
N – celkový počet jedinců společenstva
S – počet druhů

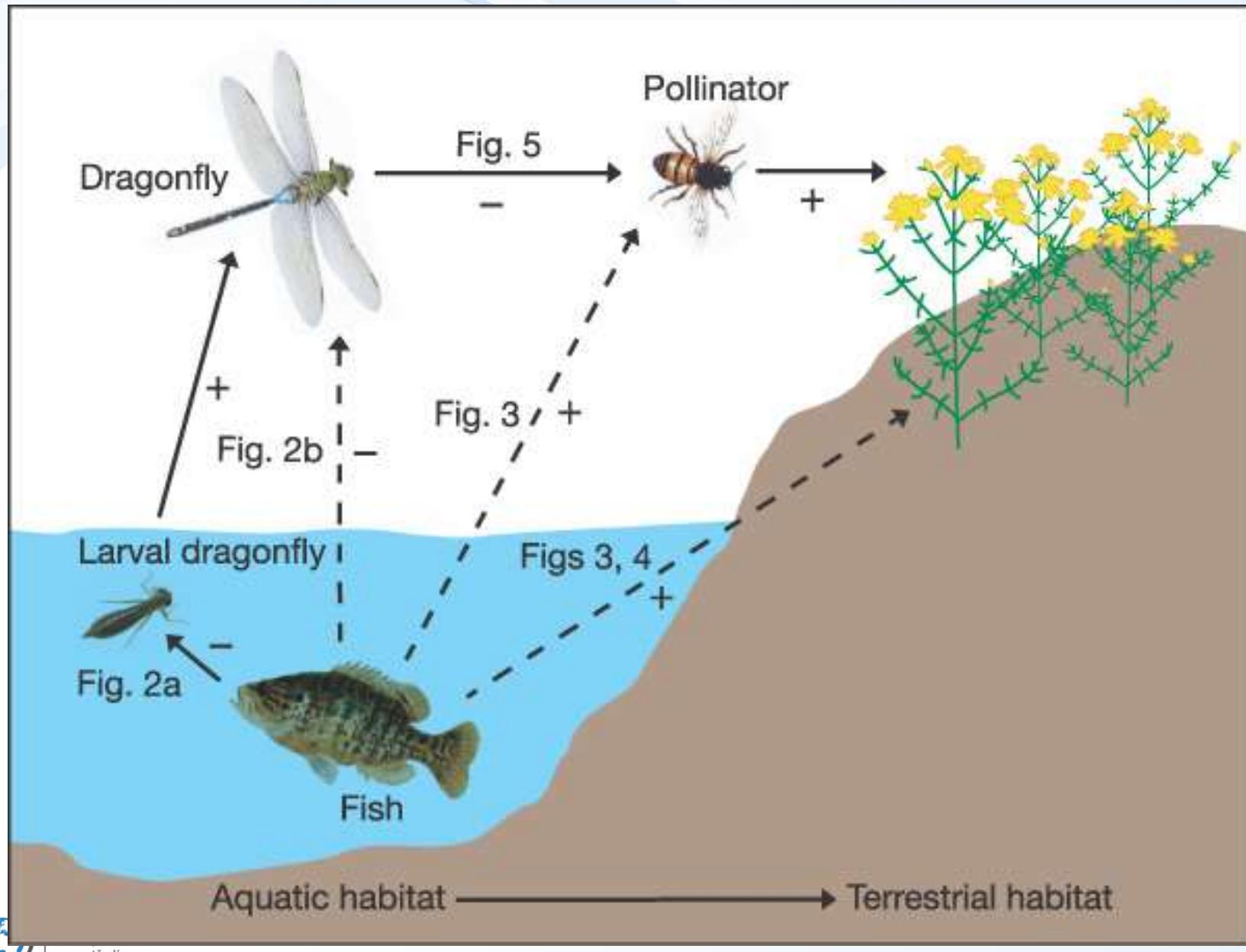
- **Shannon-Wiener** ($H' = - \sum Ni/N \ln (Ni/N)$)
 - Vyšší H' → vyšší diverzita
 - **Shannonův index vyrovnanosti (evenness)**
($E = H' / \ln S$)
 - Vyšší E → vyšší vyrovnanost společenstva
 - **Margalefův index** ($D = (S-1) / \ln N$)
 - ... a celá řada dalších indexů
-
- *Poznámka: indexy jsou necitlivé na změny ve vzácných druzích ... málo jedinců → malý vliv na celkový index*



KLÍČOVÉ DRUHY (Key / Keystone species)

- efekty na těchto druzích
→ dramatické změny celé biocenózy
- **Klíčové druhy**
 - zpravidla „predátoři“ (kontrola spodních pater)
- *Př. Mořské hvězdice na skalách a kamenech*
→ pohyb a spásání biomasy / predátor
 - *Likvidace hvězdic*
→ přerůstání makrořas
→ přemnožení mlžů (slávky)
- *Př. Sladkovodní ryby ovlivňují fertilitu rostlin v terestrickém ekosystému*





KLÍČOVÉ DRUHY (Key / Keystone species)

- **INDIKÁTOROVÉ DRUHY**
 - Druhy, jejichž (ne)přítomnost indikuje určitou vlastnost ekosystému
 - citlivé druhy (např. pošvatky, horské ploštěnky, lišeňíky)
 - oportunní druhy (např. pakomáři, pijavky ...)
- **Různé organismy indikují různé typy stresu**
 - Př. kontaminace živinami (dusičnany apod.)
 - *Makrozoobentos – saprobita / řasy, rozsivky – trofie (viz dále)*
 - Kontaminace toxickými látkami
 - *Lišeňíky – čistota vzduchu*



Působení toxických látek → změny ekologických vztahů

Příklady účinků a jejich vlivu na vztahy ve společenstvu (*predátor - kořist*)

- působení insekticidů ve vodním prostředí

- eradikace populací hmyzu (komáři)
- likvidace zdroje potravy pro dravé ryby
 - hmyz - rychlé rozmnožování - návrat
 - ryby - pomalé množení = dlouhodobý efekt

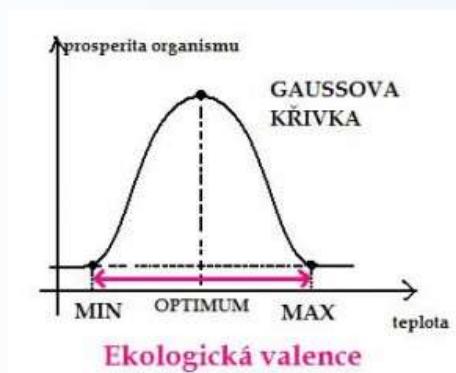
- likvidace terminálních predátorů (bioakumulace tox. látek)

- vyhubení vlků v severní Americe
 - přemnožení jelenů
 - neřízené spásání vegetace luk a lesů
- vyhubení dravců (DDT)
 - přemnožení hlodavců
 - neřízené spásání úrody na polích



Ekosystém

- Heterogenní systém složený z biotické složky (biocenozy, biologický substitém) a abiotické složky (ekotopu, substitém prostředí)
- Biota vs. prostředí – vztahy / zákonitosti
- Klíčová zákonitost v ekosystémech z pohledu studia ekotoxikologie-
 - „Zákonitost určujících abiotických faktorů (ekologická valence)“



EKOSYSTÉMY a účinky toxických látek

V ekosystémech lze sledovat (*na rozdíl od manipulovaných biotestů*) pouze retrospektivní efekty

Posouzení vlivu na úrovni ekosystému

- zpravidla nelze hodnotit vztahy dávka – odpověď:
efekty mají kategoriální charakter (STRES +/-, EFEKT +/-)
- Při charakterizaci poškození je nutné vždy zajistit **srovnání s "normálními" hodnotami.**
? existuje normální stav nebo vývoj ekosystému ?



Definice „Normálního stavu ekosystému“ není jednoduchá

- **STACIONÁRNÍ STAV**

- klidový stav, dlouhodobě ustálené hodnoty,
- není běžný: ekosystémy jsou přirozeně „variabilní“ (hodnoty se dynamicky mění)

- **STABILNÍ STAV**

- stav, kdy okolní podmínky nemění podstatu věci (uvnitř může docházet ke změnám/kolísání hodnot)

- **DYNAMICKÁ stabilita / rovnováha: HOMEOSTÁZA**

- stav, kdy se prostřednictvím AKCE/REAKCE udržuje dlouhodobě stabilní stav

- **! SUKCESE**

- ekosystémy nejsou nikdy „stacionární“ – prochází v čase vývojem:
- Cílem by měla být ochrana „plynutí“ – udržování HOMEORHÉZY



SUKCESE EKOSYSTÉMU

Sukcese je zákonitý sled změn druhového složení, který vyúsťuje v nahradu jednoho ekosystému druhým

- změna prostředí ekotopu rozhoduje zda, kdy a jak rychle sukcese probíhá, ALE samotný průběh je ovládán biocenozou
- sukcese končí ustáleným ekosystémem (klimax), v němž je na jednotku dosažitelného toku energie produkováno nejvíce biomasy a nejvíce symbiotických vztahů mezi organismy
(v klimaxu diverzita opět klesá)



Vícedruhové hodnocení ekotoxicity

Vypracovány a standardizovány komplexní postupy testování

- simulace přírodních podmínek
- model ekologických vztahů mezi organismy (*potravní řetězce*)
- hodnocení nepřímých efektů
(likvidace producentů → další efekty v ekosystému)

Experimentální uspořádání

- podle velikosti (řada překryů / nejednoznačné hranice)

: mikroskopy

voda - do 1 m³ stojaté, nebo 1 m tekoucí

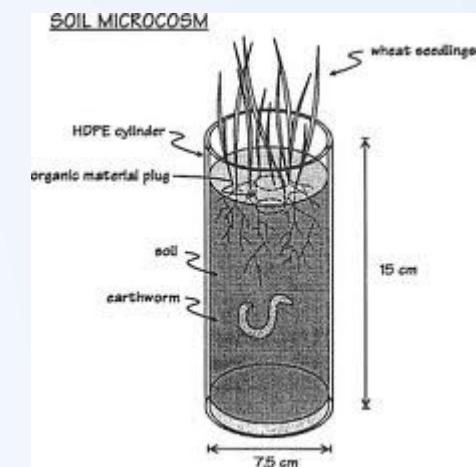
půda – experimenty s půdním jádrem

: mezokosmy

„větší než“ mikroskopy

- rozdělení podle uspořádání

- laboratorní kontrolované podmínky
- přírodní podmínky



Standardizace mikro- a mezokosmových studií

Existují i standardizovaná doporučení:

- mikrokosmy i mezokosmy
- využívána nejčastěji při hodnocení rizik pesticidů (prostředky na ochranu rostlin)
 - US EPA Test Guidelines OPPTS 850.1900 Generic Freshwater Microcosm Test, Laboratory
 - OECD – draft dokumenty

Postupy však obsahují spíše obecné požadavky

- aklimatizace a příprava systému
- obecné podmínky pro velikost
- složení a počty organismů

Každý výsledek z podobných studií je cenný

- doposud relativně málo dostupných dat (ve srovnání s "klasickými biotesty")
- ekonomicky i časově náročnější experimenty
- realizace a interpretace vyžaduje kvalitní ekologické vzdělání
- výsledky často nejsou veřejně dostupné (vlastnictví firem, které registrují pesticidy)

Stále jen „model“ – řada nedostatků

- Izolace od okolí (zamezení případné „rekolonizaci“)
- Vnější stěny (mikrokosmy) – rychlé střídání teplot (vs. Přírodní nádrže: stabilní) atd.

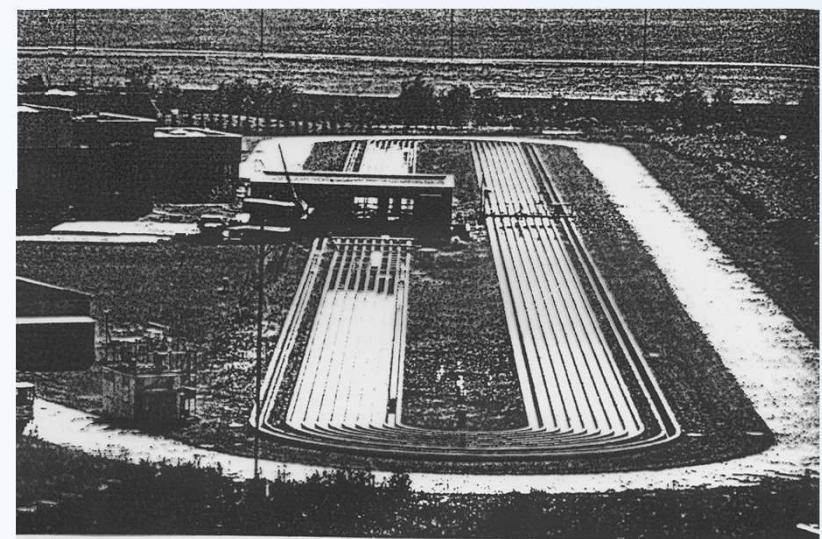
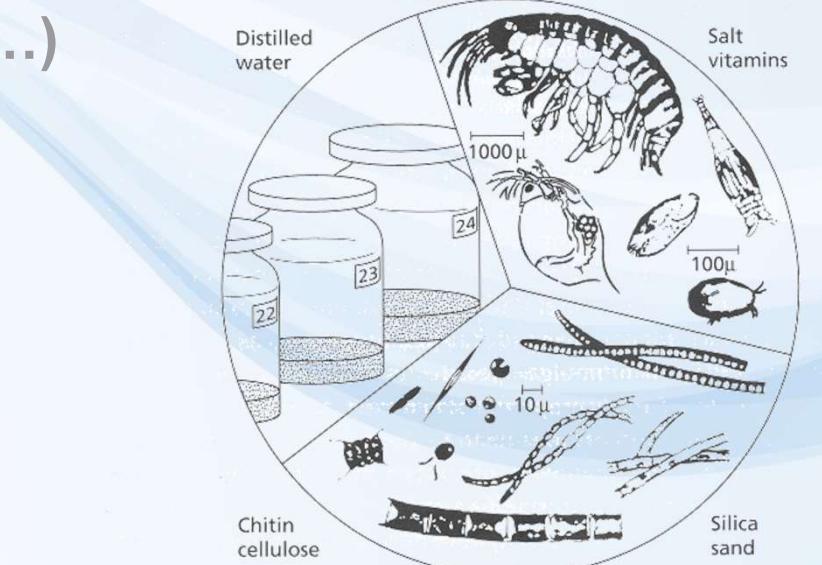
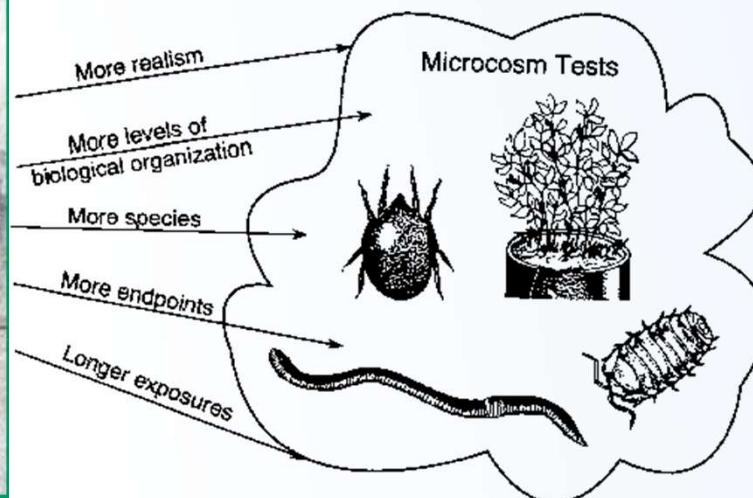


Micro & Mesocosms

Expensive & time consuming (e.g. *Pesticide testing*)

Variable results (natural variability ...)

Higher ecological relevancy



Centrum pro výzkum
toxicických látek
v prostředí

Příklad – laboratorní terestrický mikrokosmos



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

Příklad – akvatické mezokosmy



Centrum pro výzkum
toxicických látek
v prostředí

Vyhodnocení výsledků mikro / mesokosmů

HODNOCENÉ PARAMETRY

- hodnocení v rámci jednotlivých druhů
 - mortalita, růst
 - reprodukce
 - populační charakteristiky
- hodnocení společenstva – ekologické efekty
 - strukturní parametry: taxonomie, indexy atd.
(v praxi jsou hodnoceny častěji než funkční p.)
 - funkční parametry
 - zásoby – živiny, energie
 - procesy – produkce, respirace ...



FUNKČNÍ PARAMETRY EKOSYSTÉMŮ

1) Zdroje a pohyb živin / energie

(autochtonní – vnitřní / allochtonní – externí)

- *přenos energie = potravní síť*
 - pastevně kořistnický / parazitický / dekompoziční
 - producenti → konzumenti → destruenti/dekompozitoři

2) Procesy v ekosystémech

- Produkce

Primární: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{hv} \rightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + \text{O}_2$
Sekundární produkce (v potravním řetězci)

- Respirace / dekompozice

Metriky sledování procesů:

balance / výměny koncentrací plynů - O₂, CO₂, NO_y atd.

3) Resilience / Elasticita

- jednotka [1/ time unit]
- kapacita překonat stres & čas nutný k překonání stresu
 - vyšší: rychle rostoucí a rozmnožující se druhy (*phytoplankton*)
 - nižší: delší generační doba (*bentické organismy, ryby*)



Terénní studie

- Mohou identifikovat, které ekologické účinky se skutečně ději na dané lokalitě
- Metody používané v terénních studiích mohou zahrnovat sběr organismů, měření fyzikálních vlastností habitatů nebo také dálkový průzkum
 - Sběr organismů, měření fyzikálních vlastností, dálkový průzkum
- Data terénních studií obsahují:
 - druhovou bohatost, diversitu, indexy podobnosti, biomasu, přítomnost tolerantních a citlivých druhů, populační strukturu atd.



Možnosti studia účinků v ekosystémech

- polní studie, biomonitoring

Hodnocení ekosystému

- charakterizace abiotických a biotických složek
- specifika akvatických a terestrických ekosystémů

Charakteristiky (parametry)

strukturní parametry
funkční parametry

- druhové složení, počty, abundance
- toky energií a látek

Akvatické ekosystémy



Terestrické ekosystémy



Polní studie, biomonitoring

Možnosti hodnocení působení stresu

! Pro posouzení stresu je nutné srovnání s "kontrolou"

(1) srovnání "před a po" působení stresu

kontrola = stav ekosystému před působením

- předpokládá monitoring před působením stresu (sledování stavu abiotické a biotické složky ekosystému)
- známe pozadové hodnoty a "přirozený" stav

(2) srovnání exponovaného ekosystému s jiným nezasaženým ("kontrolním") ekosystémem

klíčový je výběr kontrolního ekosystému:

- oba ekosystémy mají srovnatelné vlastnosti abiotické (terén, geologie, nadmořská výška ...)
- za normálního stavu se předpokládají podobné biologické vlastnosti (tj. shodná společenstva, potravní vztahy ...)
- Odvození závěrů je v tomto případě vždy **složité** (neexistují dva stejné / stejně se vyvíjející ekosystémy)



Polní studie, biomonitoring

Praktický postup při polní studii / biomonitoringu

(1) charakterizace lokality, průzkum přímo v terénu

(2) definice hodnocených parametrů příslušného ekosystému ve vztahu k působení stresu

abiotické složky

- ve kterých složkách (voda, sediment, půda, vzduch) působí/il stresor ?
- kde lze předpokládat rezidua toxicích látek ?

-

biotické složky

definice organismů, které budou sledovány pro posouzení působení stresu:

- vztah k působení stresu (př. planktonní organismy – látky s tendencí zůstávat ve vodním sloupci, tj. hydrofilní vs. sedimenty-hydrofobní)
- hodnocené skupiny (př. producenti – řasy; konzumenti – zooplankton, ryby; destruenti – planktonní bakterie)
- klíčové druhy, bioindikátory ...

- parametry hodnocení

- strukturní (taxonomické parametry, biomasa, abundance ...)
- funkční (produkce/respirace, potravní řetězce ...)



Polní studie, biomonitoring

- (3) definice odběrů (vzorkování, četnost, počty)**
abiotických složek (voda, sedimenty, půda, vzduch)
biotických složek (producenti – konzumenti – destruenti)
- (4) realizace odběrů / analýzy / hodnocení**
- (5) srovnání EXPOZICE vs. KONTROLA, závěry**

