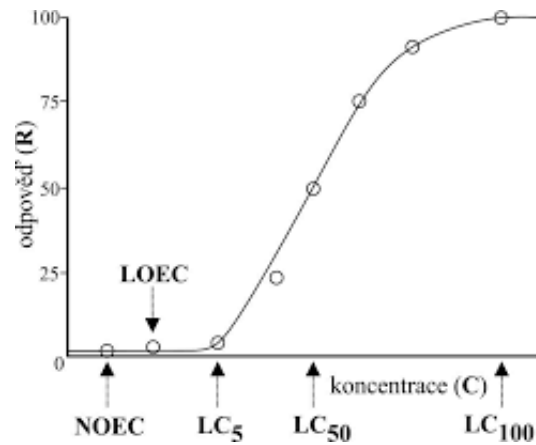


Environmentální geologie

Cvičení 2



Testování toxicity - Biotesty

- **Biotest** = „zkouška“ využívající **biologický systém**, který zahrnuje **expozici organismu testovaným** materiálem a stanovuje **odpověď** organismu
- Tedy **vztah dávka (expozice) -> odpověď (efekt)**
- efekt - **akutní, subletální, chronická toxicita**
- Biotest je starý několik tisíc let (faraoni měli ochutnávače aby se uchránili před traviči, ve středověku se podezřelý pokrm zkoušel na psovi či vězni
- jako testovací organismy používáme **bakterie, sinice, řasy, vyšší rostliny, vodní a půdní organismy, mechy a lišejníky, ale také teplokrevné obratlovce, především hlodavce, ptáky, volně žijící zvěř a ve zdůvodněných případech i primáty)**

Definice a popis biotestu

- **Principem biotestu je kontakt** (akutní, chronický apod.) **testované látky**, směsného, či přírodního vzorku za určitých, **předem definovaných a kontrolovatelných podmínek s detekčním systémem** (zkušebním organismem, tkání, populací, společenstvem apod.)
- Dle **efektu (reakce)** usuzujeme, zda je testovaná látka **toxická pro danou populaci**, případně společenstvo.

Akutní vs. Chronická toxicita

biotesty akutní toxicity

- živočichové - nejčastěji hodnoceným parametrem je letalita, dále imobilizace (Daphnia)
- autotrofové – řasy: růst, dělení, množství chlorofylu (fluorescence); rostliny cévnaté – klíčení, růst
- destruenti – bakterie: růst, metabolická aktivita ...

biotesty chronické toxicity

- živočichové – neletální parametry – růst, malformace, reprodukční schopnosti a úspěšnost (testy reprodukce)
- autotrofové –cévnaté rostliny – klíčení, růst, tvorba gamet/semenn, rozmnožování ...



Faktory – podmínky biotestu

Definice podmínek - standardizace testu

- teplota
- světlo, světelná perioda
- obsah a přístup kyslíku
- pH
- tvrdost vody



Praktická realizace biotestů

1) Příprava organismu

- kulturační médium, standardní počty, stáří ...

2) Příprava vzorku

- **ředění vzorku** (mimo nádoby s organismy) – koncentrační řada ředící medium:
- voda/medium – lze přímo přidávat k organismům
- organické rozpouštědlo – přísady jen malých koncentrací (0.5%)
- příprava kontaminované půdy
- **negativní kontrola** – ředící medium

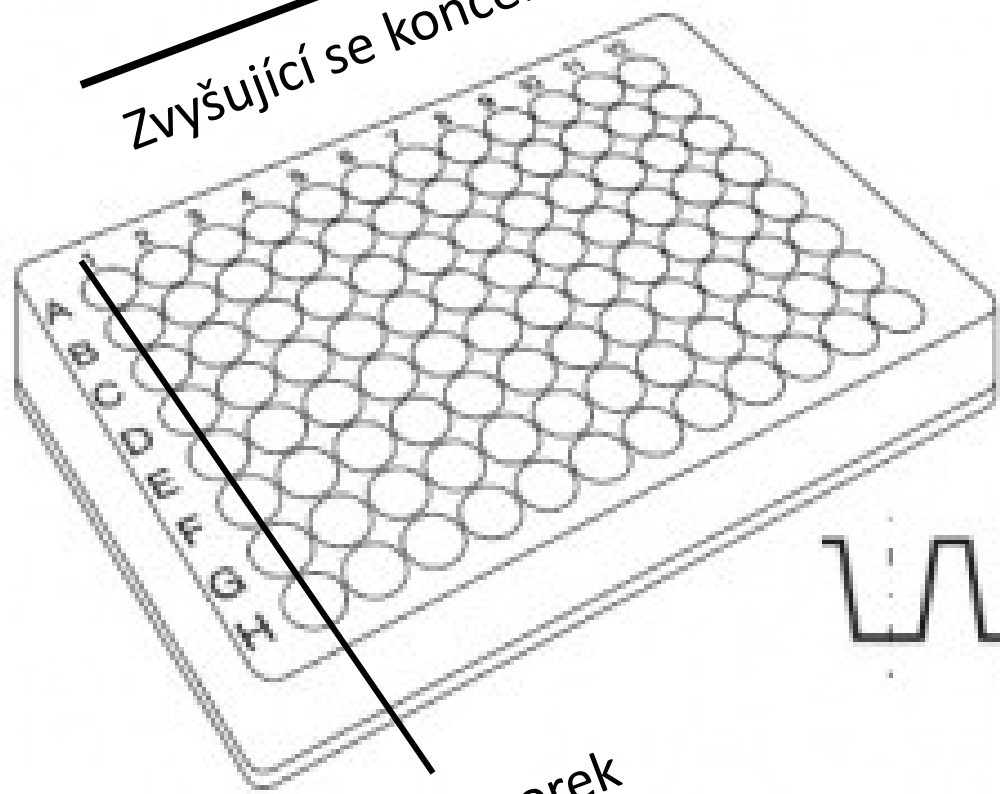
3) Expozice

- přísady vzorku (kontrolního roztoku) k organismu, expozice (24, 96 h)
- přísady organismu do připravené matrice

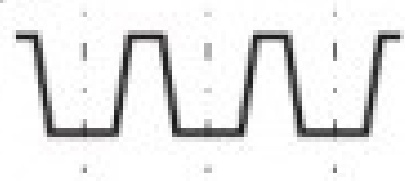
4) Vyhodnocení

- stanovení **letality / růstu**, srovnání vzorek – kontrola, **odvození křivky dávka odpověď, statistické srovnání**

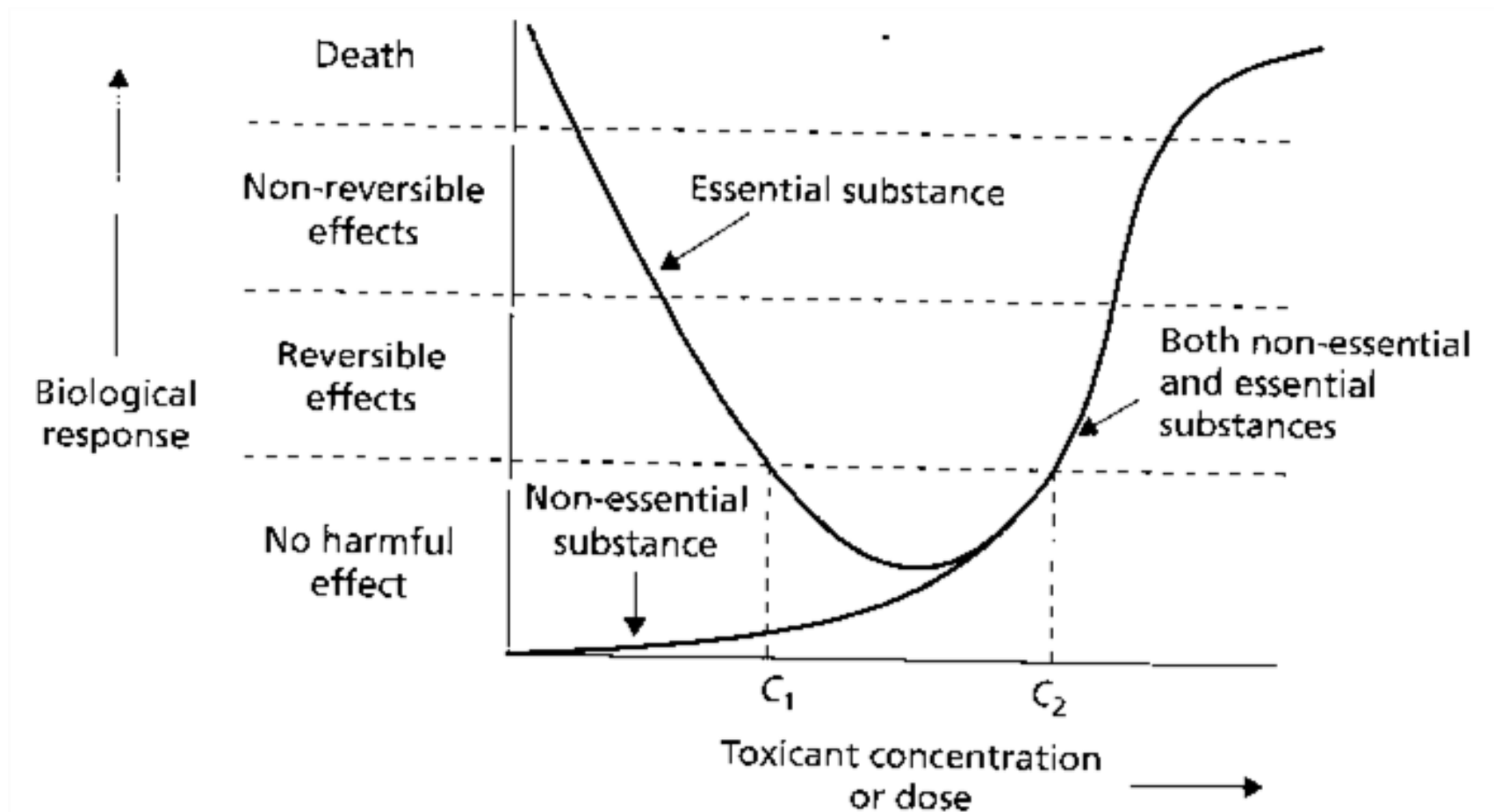
Zvyšující se koncentrace toxické látky



Kontrolní vzorek



Účinky vs. Koncentrace látky



Parametry co odvodíme z křivky dávka - odpověď

LOEC (Lowest Observable Effect Concentration/L)

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

NOEC (No Observable Effect Concentration/Level)

- nejvyšší koncentrace, která nevyvolala žádný efekt

Další parametry odvozené z křivky dávka - odpověď

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

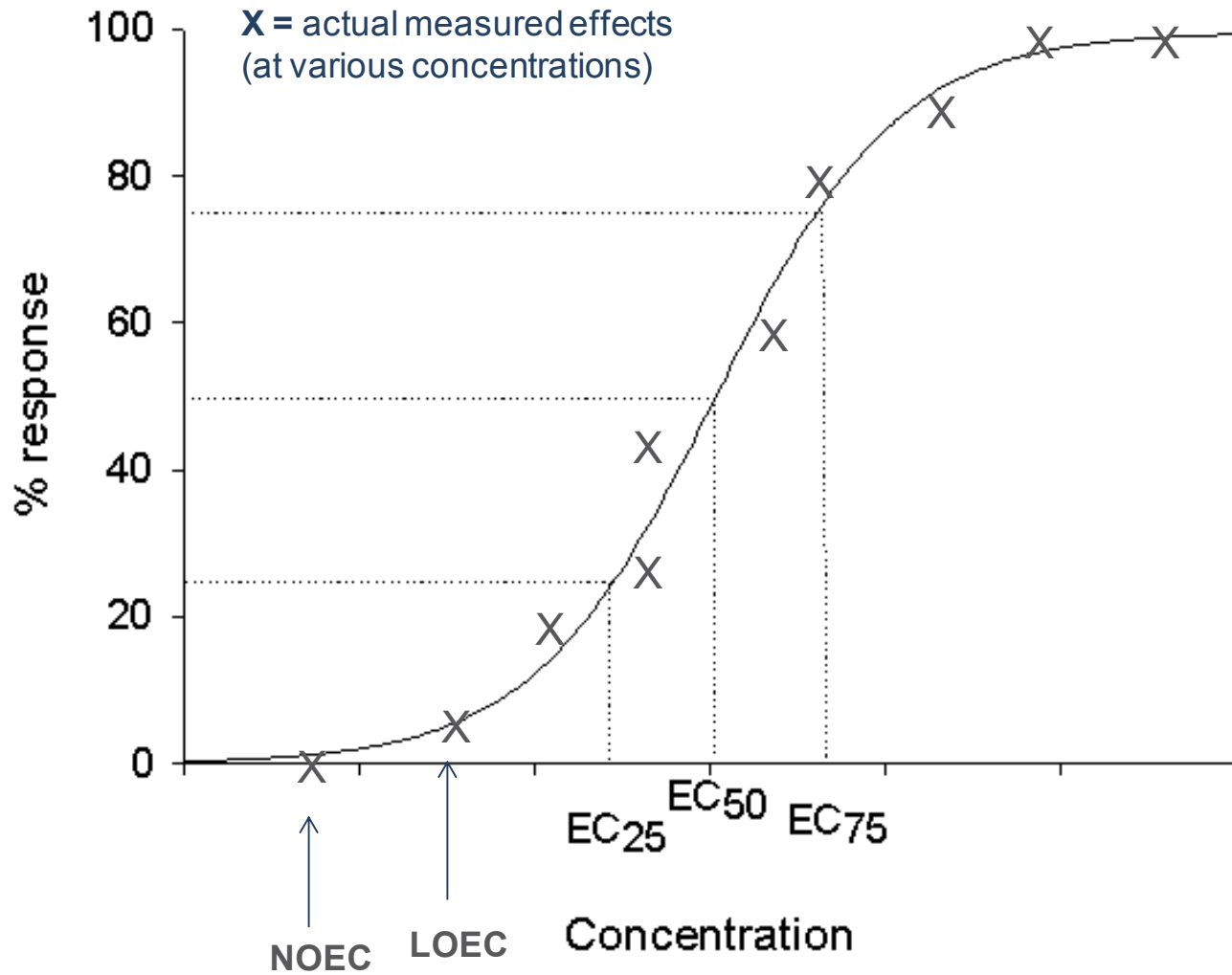
LD50 – dávka (Dose) způsobující 50% letalitu (L)

EC50 – koncentrace způsobující 50% efekt (E)

IC50 – koncentrace způsobující 50% inhibici (I)



Concentration-Response Curve



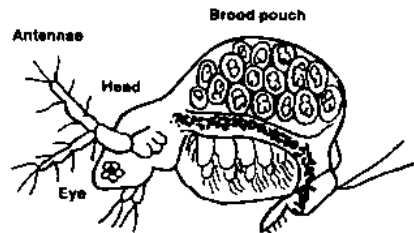
Příklad – urči NOEC, LOEC a LC50

Koncentrace (mg/L)	Počet přeživajících	% Přeživajících
0	20	100
0,05	20	100
0,1	18	90
0,2	19	95
0,4	15	75
0,8	9	45
1,6	3	15
3,2	0	0
6,4	0	0



AKUTNÍ TOXICITA - důsledky pro ekosystém

- 1) Náhlé změny: vyhynutí všech konzumentů
 - narušení potravních řetězců
 - přemnožení producentů
 - nárůst degradovatelné biomasy
 - (destrukce organické hmoty bakteriemi → vyčerpání kyslíku)
 - celková degradace ekosystému
- 2) Dlouhodobější změny
 - změny diverzity, složení společenstev
 - převládání rezistentních druhů (*např. nitěnky, pakomáři v kontaminovaných akvatických ekosystémech*)



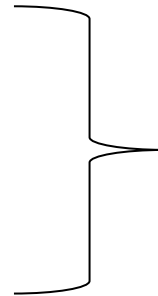
CHRONICKÁ a POZDNÍ TOXICITA

Mechanismy chronické a pozdní toxicity

- méně prostudované než akutní efekty, které jsou snadno vidět
- obtížnější poznání a identifikace
- pomalé, ale významné efekty v ekosystémech

Řada projevů:

- poruchy růstu (~ příjem potravy)
- karcinogenita
- teratogenita a vývojová toxicita
- reprodukční toxicita



„Systémové“
účinky

→ orgánově specifické typy toxicity

- Imunotoxicita
- Neurotoxicita
- Nefrotoxicita

KARCINOGENITA

KARCINOGENEZE proces tvorby nádorů

- *benigní nádor (nemetastázující, lokalizovaný, léčitelný)*
- *maligní nádor (=rakovina)*

Karcinogeny - látky vedoucí k tvorbě nádorů

(chemicky indukovaná karcinogeneze)

(existují i další typy nádorů: indukce onkoviry, vrozené ...)

Existuje korelace mezi látkami **mutagenními vs. karcinogenními**

Ze 175 známých karcinogenů 90% jsou mutageny

Ze 108 známých nekarcinogenů jen 13% jsou mutageny



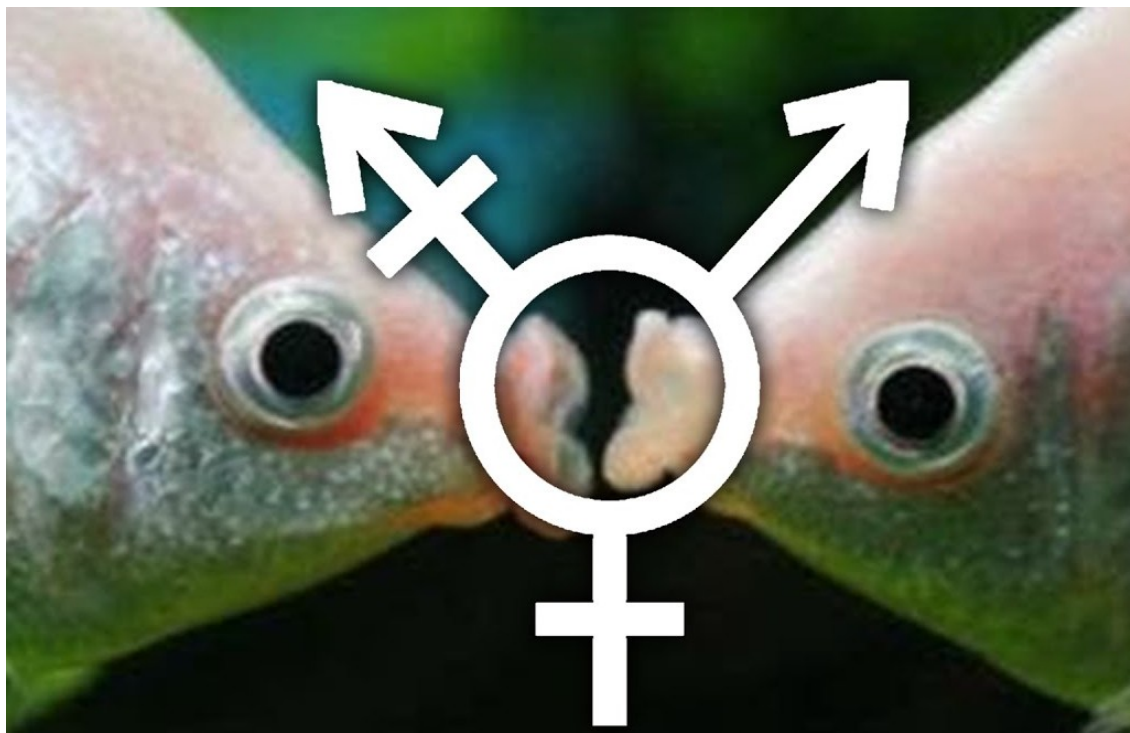
Co jsou endokrinní disruptory (EDCs)

- Endokrinní disruptory jsou environmentální látky, které **naruší hormonální rovnováhu organismů** s potenciálními negativními následky pro celkovou homeostázu, reprodukční, vývojové a behaviorální funkce
- Mezi endokrinní disruptory patří:
 - Pesticidy
 - Farmaceutika (antikoncepce, léky..)
 - Antibiotika
 - Kovy
 - Detergenty
 - Změkčovače plastů
 - Rostlinné metabolity



Projevy u vodních obratlovců

- Změny v pohlavních orgánech
 - Feminizace samců ryb v povrchových vodách znečištěných odpadními vodami v severní Americe a Evropě
 - Maskulinizace ryb v tocích pod farmami živočišné výroby

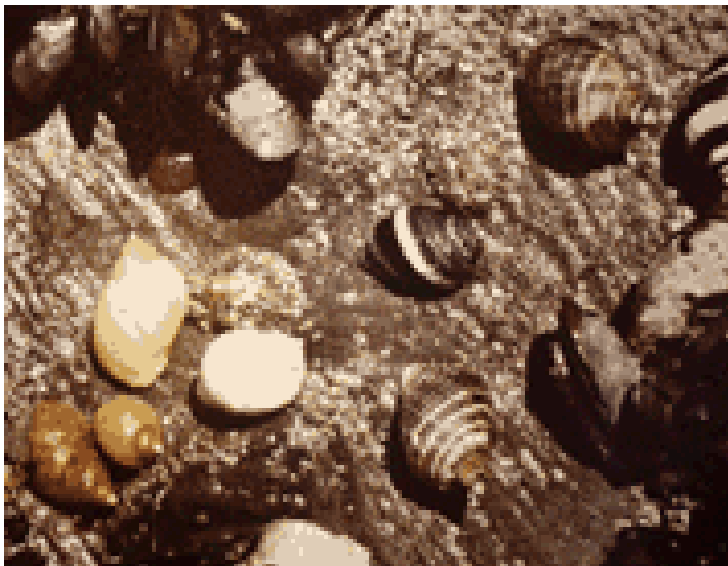
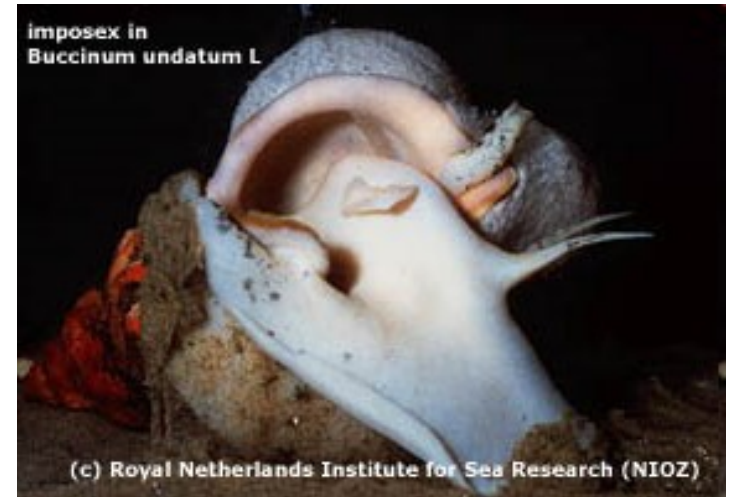


Projevy ED u bezobratlých (mlži)

První průkaz ED v historii

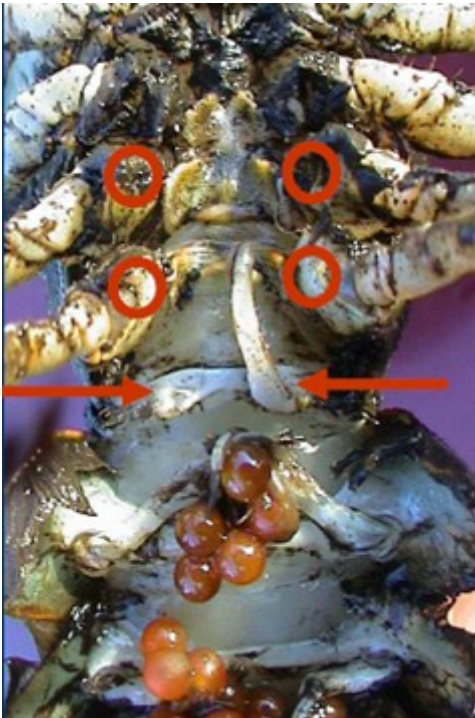
- **imposex** u mořských plžů

- * vývoj samčích pohl. orgánů u samic
- * působení alkyl-sloučenin cínu (tributyl-cín)
- * nátěry na lodích proti růstu bioty („antifouling agent“)



Projevy endokrinní disrupce u korýšů

- Rak bahenní – samčí i samičí pohlavní orgány
- Ostrava – Karviná – v zatopených poklesových plochách



Vývojová toxicita (toxicita pro časná vývojová stádia)

Vývoj zárodku

- řada kritických stadií, náročná synchronizace
- regulace buněčných procesů (proliferace / diferenciace / apoptóza)
- procesy velmi citlivé na působení toxikantů

Nejcitlivější fáze

- organogeneze
- zejména u obojživelníků: úplná metamorfoza

Embryotoxicita

= Obecný pojem: toxicita pro embryo

TERATOGENITA

= Morfologické vývojové poruchy

malformace, chybějící/přebývající orgány, poruchy růstu

- dobře charakterizována zejm. u obratlovců

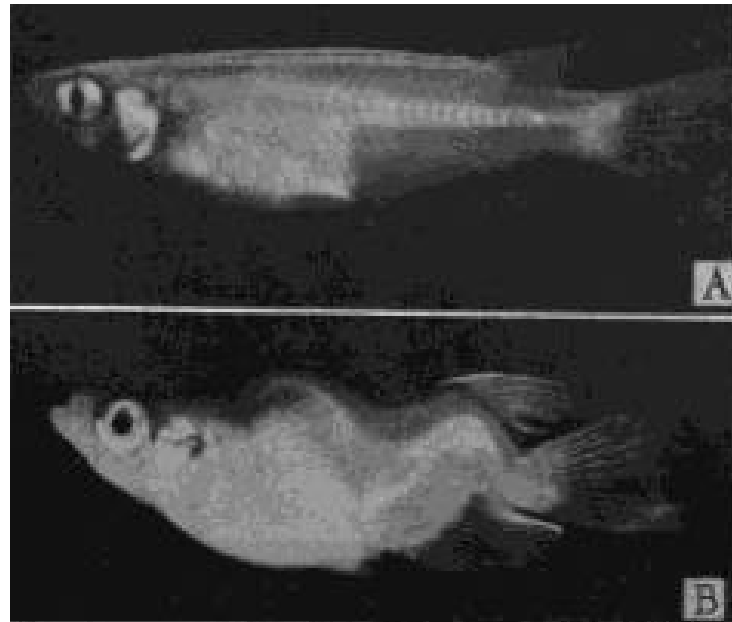


TERATOGENITA - příklady

Příklady teratogenů

- *organochlorové látky, pesticidy (DDT, DDE)*
- *PCBs a látky s dioxinovou toxicitou obecně,*
- *toxické kovy -> ptáci/ryby/plazi-želvy*
- *metabolity ve vodních květech sinic*

Halančík (medaka) teratogenita PCBs



IMUNOTOXICITA

Narušení funkcí imunitního systému

Stimulace IS

- vznik alergií
- autoimunitní choroby

Suprese (potlačení) IS

- infekční choroby
- neschopnost odstraňovat nádory

Oba mechanismy narušení IS jsou negativní a škodlivé

Důsledky imunotoxicity

- porušení proti-infekční a proti-nádorové ochrany
- neschopnost reagovat na vakcíny
- imunopatologie (autoimunita, hypersensitivity)

Vliv látek na nervový systém NEUROTOXICITA

AKUTNÍ toxicita

- křeče, selhání CNS, smrt udušením atp.



CHRONICKÉ ÚČINKY

→ populační změny atd.

Změny v chování - kritické pro přežití: reprodukční chování, hledání kořisti, potravní zvyky, ochrana před predátory, učení a paměť, orientace, komunikace, socializace a lokomoce

Příklady neurotoxických kontaminantů

* Insekticidy (organofosfáty, karbamáty ...)

Hormony ve vodách:

<https://edu.ceskatelevize.cz/video/5490-kontaminace-vody?vsrc=vyhledavani&vsrid=kontaminace+vod>

Eutrofizace:

https://www.youtube.com/watch?v=vUYic6m02LA&ab_channel=WWFPolska

Znečištění vody:

https://www.youtube.com/watch?v=4uof2r4LpZg&ab_channel=SCIMUNI