

Ekotoxikologie

Mgr. Petr NEČAS

Mgr. Michaela ADAMCOVÁ

Doc. Mgr. Eva GERŠLOVÁ, Ph.D.



Environmentální chemie (environmentální geologie)

- studuje **OSUD a HLADINY (EXPOZICE)** chemických látek v prostředí (odkud se berou, v jakých množstvích, kam "migrují", jaké jsou koncentrace v jednotlivých složkách prostředí – voda, půda, vzduch ...)

Ekotoxikologie

- studuje **ÚČINKY / EFEKTY (HAZARDS)** chemických látek na ekosystém (různé látky a jejich koncentrace, různé organismy, různé úrovně organismů (molekuly, jedinci, populace, společenstva)
- věda studující toxické efekty v přírodě, u přírodních organismů, zejména efekty v populacích a společenstvech (nehumánní toxikologie) [Truhaut 1979]

Cíle ekotoxikologie

- poznání **interakcí mezi živými organismy a chemickými/toxickými látkami** v prostředí na **všech úrovních**
- využití **poznatků pro racionální ochranu živých organismů**, jejich populací, společenstev a ekosystémů před chemickým znečištěním
- Pozor, ekotoxikologie chrání populace mnoha druhů, zkoumáme širší dopady, jde nám o to, aby přežila značná část populace, ne abychom zachránili každého jedince v populaci

Co je POPULACE ?

- soubor jedinců téhož druhu žijících na konkrétním



Jež jsou navzájem spojeny výměnou látek, tokem energie a předáváním informací a které se vzájemně ovlivňují a vyvíjejí v určitém prostoru a čase.

Které ze znečišťujících látek jsou NEBEZPEČNÉ (toxické)?

- Kdy můžeme o látce říct, že je toxická?
- Známe nějaké toxické látky?

- Paracelsus (1493 - 1541)

‘What is there which is not a poison?

All things are poison and nothing without poison.

Solely the dose determines that a thing is not a poison.

Dávka (expozice) -> Účinek (efekt) = Hodnocení rizik



RIZIKO

(např. Úbytek populace ryb v ČR)

Vlastnosti látky NEBEZPEČNOST

Vstupuje do ryby? (**biokoncentrace**)
Může se **bioakumulovat**?
Koncentruje se v potravní pyramidě
(**bioobohacování**)?
Je pro ryby **nebezpečná/toxická**?
Jakým mechanismem/typem toxicity?

Při jakých koncentracích ?

Situace v prostředí EXPOZICE

Je látka ve vodě? (**osud**)
Je ve formě dostupné pro ryby?
(**biodostupnost**)

Jaká je biodostupná koncentrace?



Jak poznám expozici (dávku)?

- **Analýza kontaminantů v různých prostředích**
 - Atmosféra
 - Voda
 - Sediment/půdaZabýváme se **biodostupností**

Jak poznám účinek (efekt)?

- Testování ekotoxicity na organismech, populacích..)- **biotesty**
 - Vodní organismy – ryby, drobní korýši (Dafnie), řasy
 - Půdní organismy – žížaly..
 - Suchozemské rostliny – řasy, hrách..
 - Vyšší obratlovci – myši, králíci..

Kontaminanty

- látky, které se vyskytují v hladinách vyšších než se normálně předpokládá – vyšší koncentrace, než je přirozené geologické pozadí lokality
- mají potenciální možnost způsobovat poškození

ID bodu	River	As	Ni	Cu	Cr	Pb	Zn
O101	Olše	0	0	0	0	2	5
O102	Olše	0	0	1	1	3	6
O103	Olše	0	0	0	0	1	5
O104	Olše	0	0	0	3	0	4
O105	Olše	0	0	0	0	2	6

Igeo	Třída Igeo	Kvalita sedimentu
< 0	0	Prakticky nezatížený
> 0–1	1	Nezatížený až mírně zatížený
> 1–2	2	Mírně zatížený
> 2–3	3	Mírně až silně zatížený
> 3–4	4	Silně zatížený
> 4–5	5	Silně až nadměrně zatížený
> 5	6	Nadměrně zatížený

TOXIKANTY vs. TOXINY

- **TOXIKANTY** = látky které jsou toxické v relativně nízkých koncentracích, jsou **do prostředí vnášeny lidskými činnostmi**
- **TOXINY** = **přírodní toxické látky** – produkované rostlinami, bakteriemi, živočichy
- Pozor, některé látky mohou být zároveň toxiny i toxikanty: toxiny sinic - environmentální význam nabývají díky antropogenní činnosti - **eutrofizace**



TROFIZACE - kontaminace živinami

- Zvyšování koncentrací anorganických živin - zejména NO_3^- , PO_4^{3-} ,
- V přírodě je důležité dodržení poměrů mezi obsahy jednotlivých látek (!)

→ **Zvýšení trofie („úživnost“)**

– stupně: ultraoligo / oligo / mezo / eu- / hyper-trofie

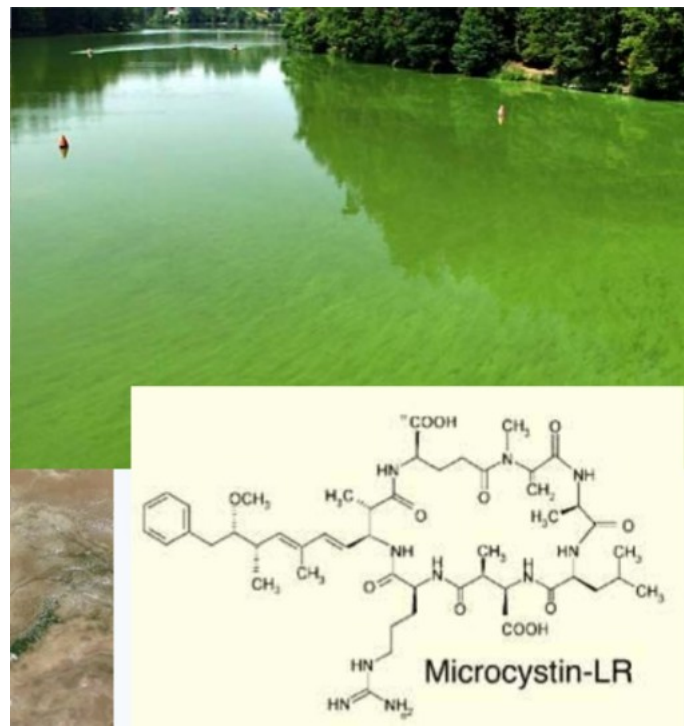
Důsledky eu-/hyper-trofizace

→ změny ve struktuře ekosystémů:

- *monodruhová společenstva sinic* (u nás nejč. *Microcystis* sp.)

→ sekundární efekty:

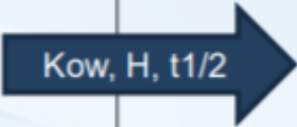
- nadprodukce biomasy
– rozkladné procesy
(vyčerpání kyslíku → úhyny ryb atd.)
- produkce toxických metabolitů
– cyanotoxiny
– microcystiny;



Které parametry látek jsou klíčové s ohledem na riziko EKOTOXICITY

- 1) Tendence vstupovat do organismů - vyšší **hydrofobicitu** (tuky v organismech) - rozdělovací koeficient oktanol/voda (Kow, logP)
- 2) **Stabilita** (persistence, pomalá degradace) - dlouhodobé působení v prostředí - poločas života ($t_{1/2}$)
- 3) **Toxické** účinky v organismech

	ROZDĚLOVÁNÍ	TRANSPORT	TRANSFORMACE
Vlastnosti látky	Polarita vs hydrofobicita (Kow , rozpustnost ve vodě) Těkavost, bod varu, vypařování (H , bod varu) Reaktivita vs stabilita a persistence (t1/2)		
Vlastnosti prostředí	Proudění (rychlost, směr, typ ...) Teplota Světlo (a jeho parametry) Chemické složení pH (volné H+) Redox potenciál (... přítomnost O2) Přítomnost anorganických iontů / výměnných míst (např. jílu) Částice – typ, velikost, množství Organický materiál – typ, množství (humínové látky atp.)		
Voda			
Sedimenty			
Půda			
Atmosféra			
Vlastnosti bioty vegetace, konzumenti ...	Počet / Pohyb / Velikost (povrch) / Množství (%) tuku / Stupeň v trofické pyramidě atd. atd.		

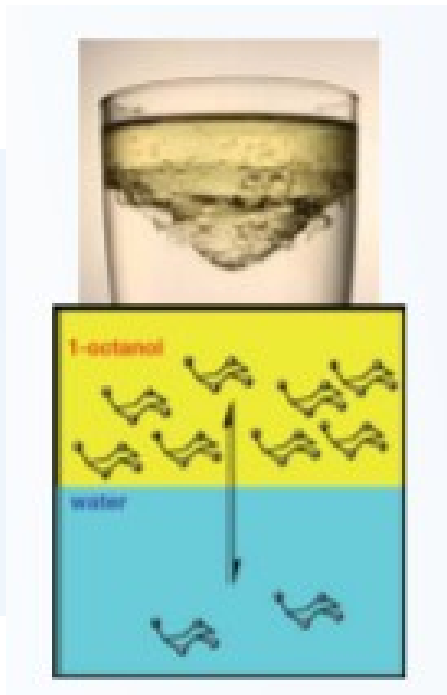
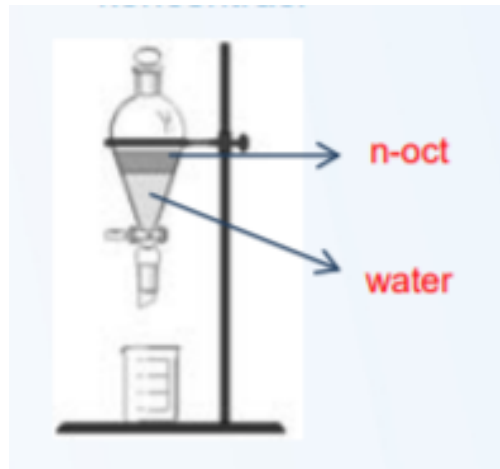


Log Kow

- Rozdělovací koeficient BIOTA / VODA
 - Náročné stanovení
- Alternativa - využití modelu s n-octanolem
- N-octanol – Nemísí se s vodou (podobné vlastnosti jako tuky či fosfolipidy biologických membrán)
- Rozdělování n-octanol/voda
- Kow – rozdělovací koeficient
 - Charakterizuje HYDROFOBICITU (resp. LIPOFILICITU)
 - Časté vyjádření jako logKow (resp. logP)

Biokoncentrace

- Míra příjmu látky do organismu (ryby) z vody BCF – Bioconcentration factor
- $BCF = \text{Koncentrace v biotě} / \text{Koncentrace ve vodě}$
- Predikujeme ho z Kow
- $\text{Log BCF} = \text{Log Kow}$



- Jaké je Log Kow ?

Příklad: Log Kow = 4

koncentrace ve vodě = 7

koncentrace n-octanol??

Kow příklady

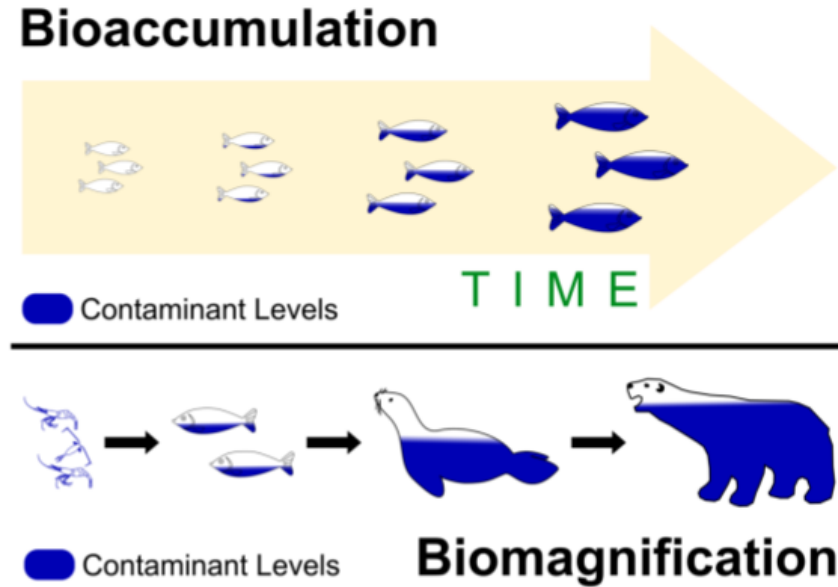
Látka	Kow	logKow (logP)	K_bioakumulace (experimentální)
Lindane	5 250	3.72	470
DDT	2 290 000	6.35	1 100 000
Arochlor 1242 (PCB)	199 600	5.30	3 200
Naftalen	3 900	3.59	430
Benzen	135	2.13	13

Bioakumulace

- Akumulace látky (všechny cesty expozice)
- BAF – Bioaccumulation factor

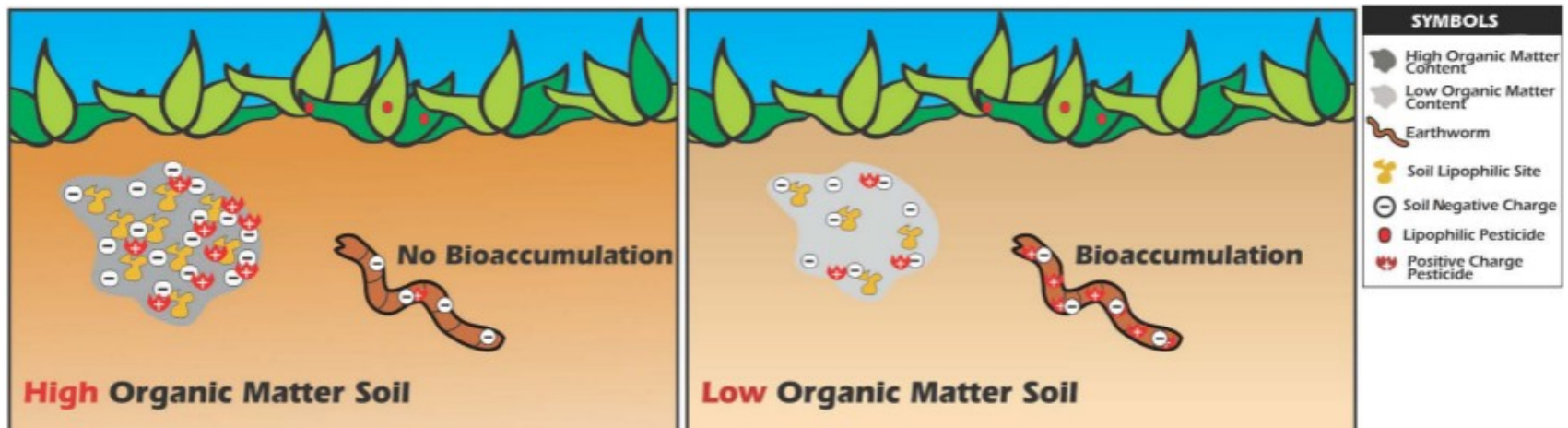
Bioobohacování (Biomagnification)

- Zvyšování koncentrací látek v organismech v potravním řetězci
- BMF – Biomagnification factor
(koncentrace predátor/koncentrace jídlo)



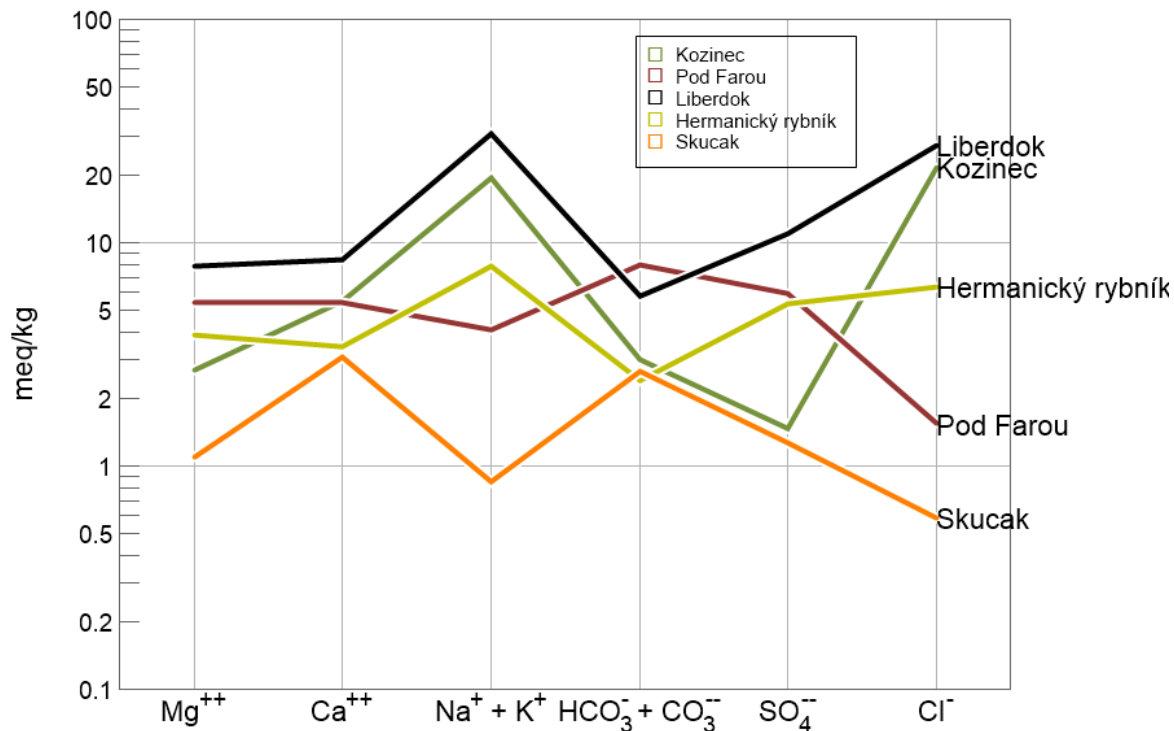
Biodostupnost

- frakce látky, která může být přijata do organismu = látka je ve formě, která je dostupná (není tedy vázána v prostředí - např. na organický uhlík apod.)
- Biodostupnost popisuje procesy (vztahy) mezi
 - Látkami přítomnými v prostředí
 - Vstupem (akumulací) látek do organismů
 - Vlastnostmi prostředí



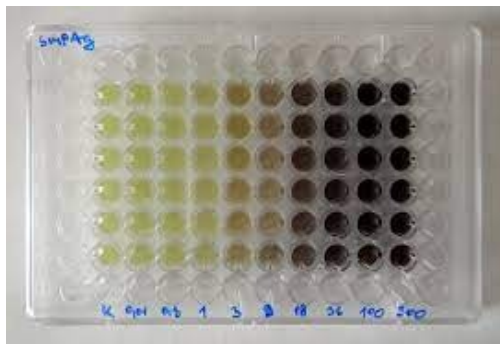
Biodostupnost – příklad

- Toxické kovy ve vodě vs. tvrdost vody (mineralizace)
- Bude tvrdší voda více, nebo méně biodostupná pro organismy? Proč si to myslíte?
- Budou v Liberdoku potenciální těžké kovy biodostupnější než v případě Skučáku?



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

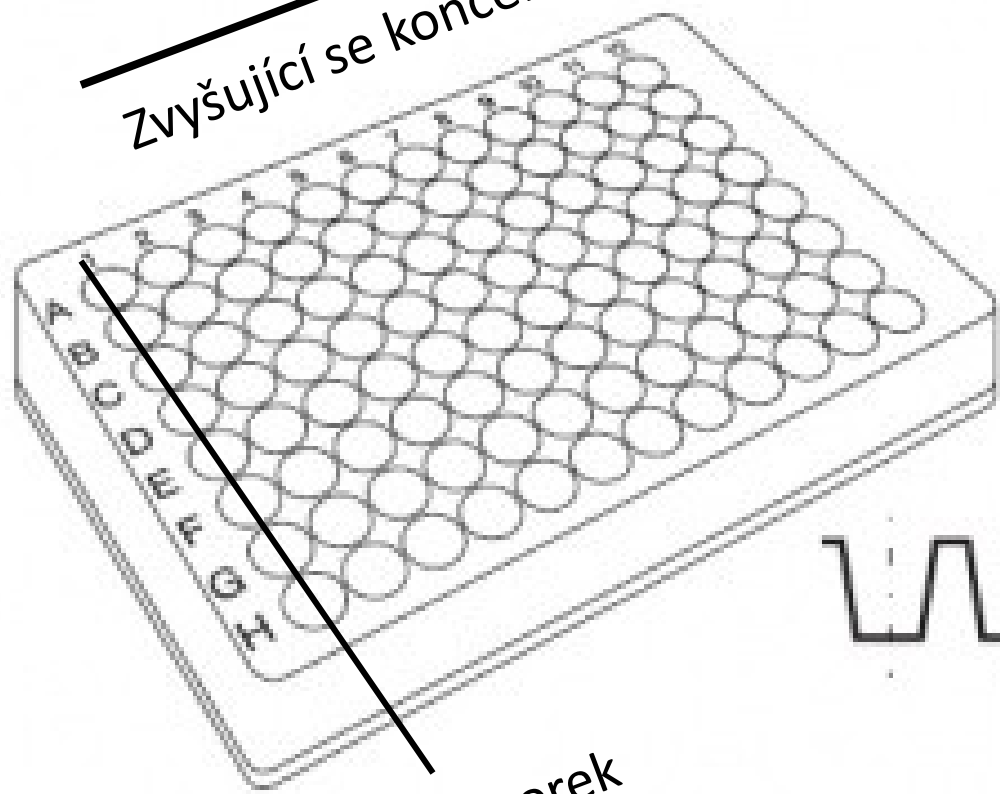
3) Expozice

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

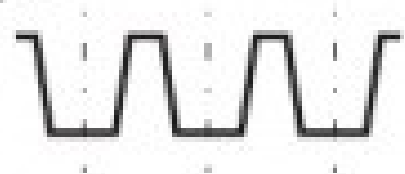
4) Vyhodnocení

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

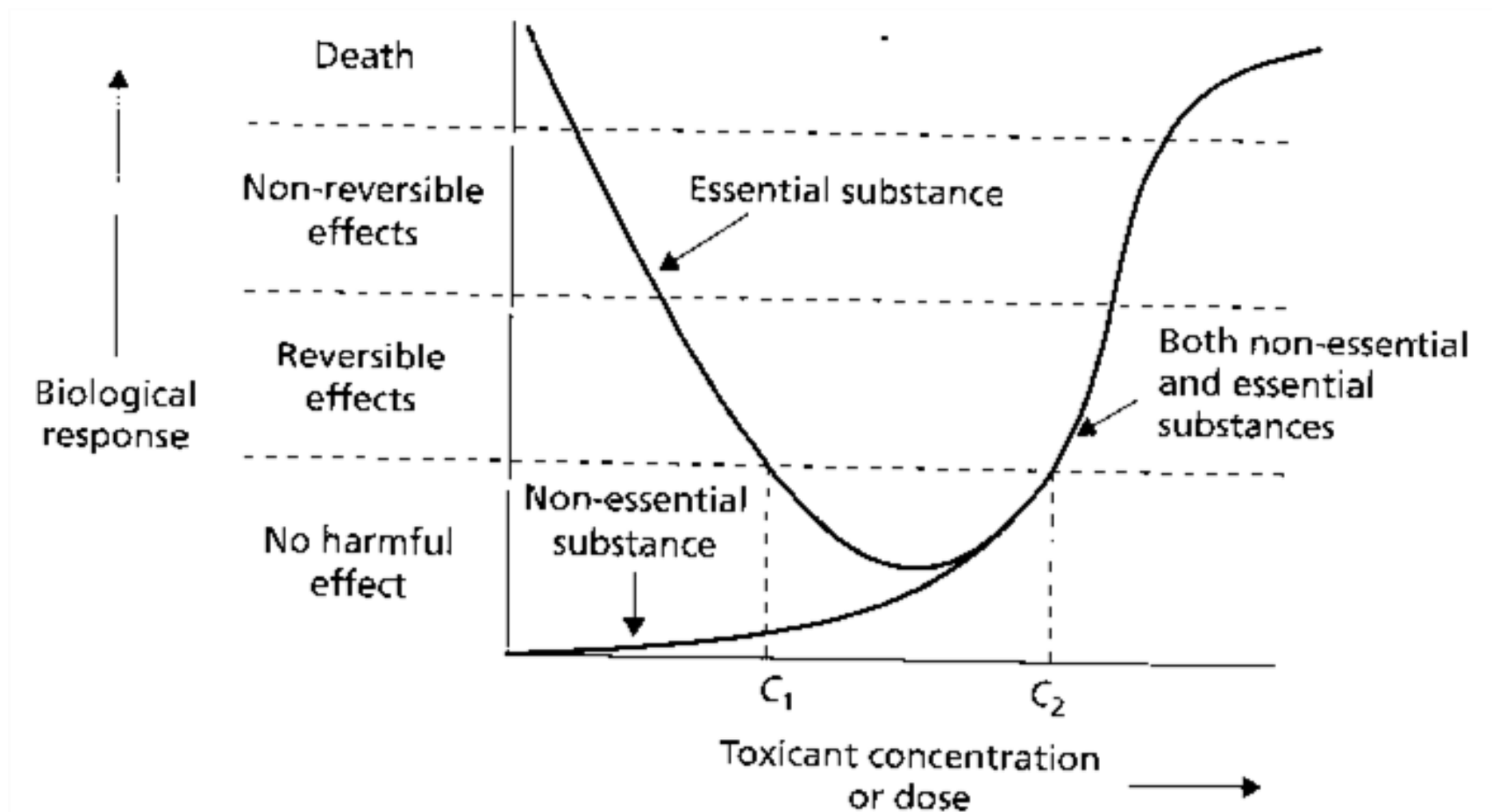
Zvyšující se koncentrace toxické látky



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

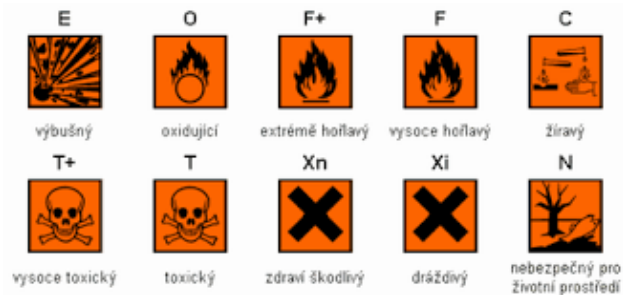
Další parametry odvozené z křivky dávka - odpověď

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

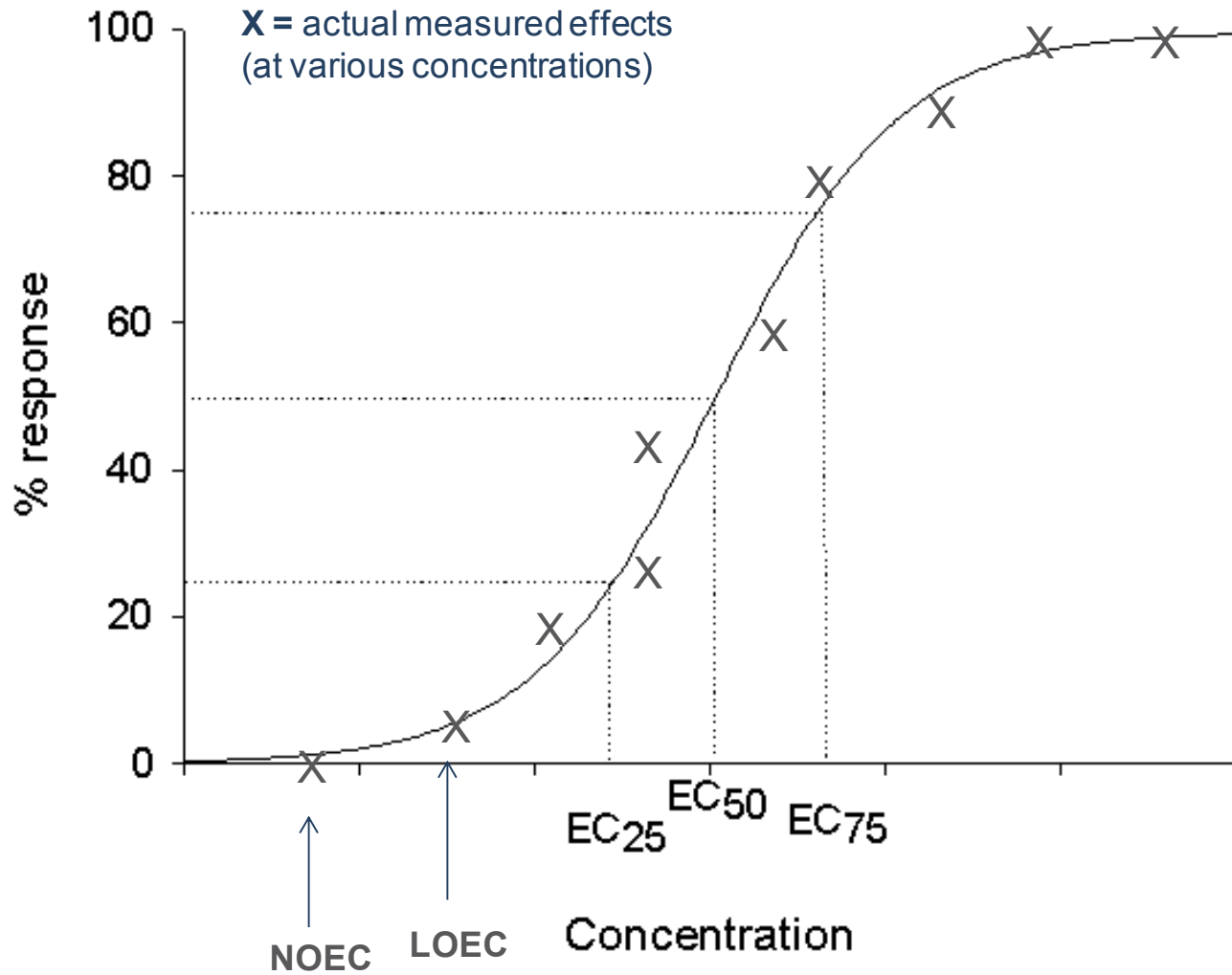
LD50 – dávka (Dose) způsobující 50% letalitu (L)

EC50 – koncentrace způsobující 50% efekt (E)

IC50 – koncentrace způsobující 50% inhibici (I)



Concentration-Response Curve



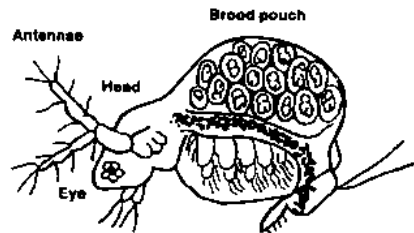
Příklad – urči NOEC, LOEC a LC50

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*)



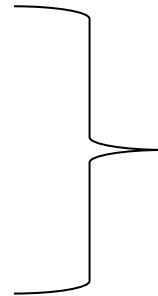
CHRONICKÁ a POZDNÍ TOXICITA

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

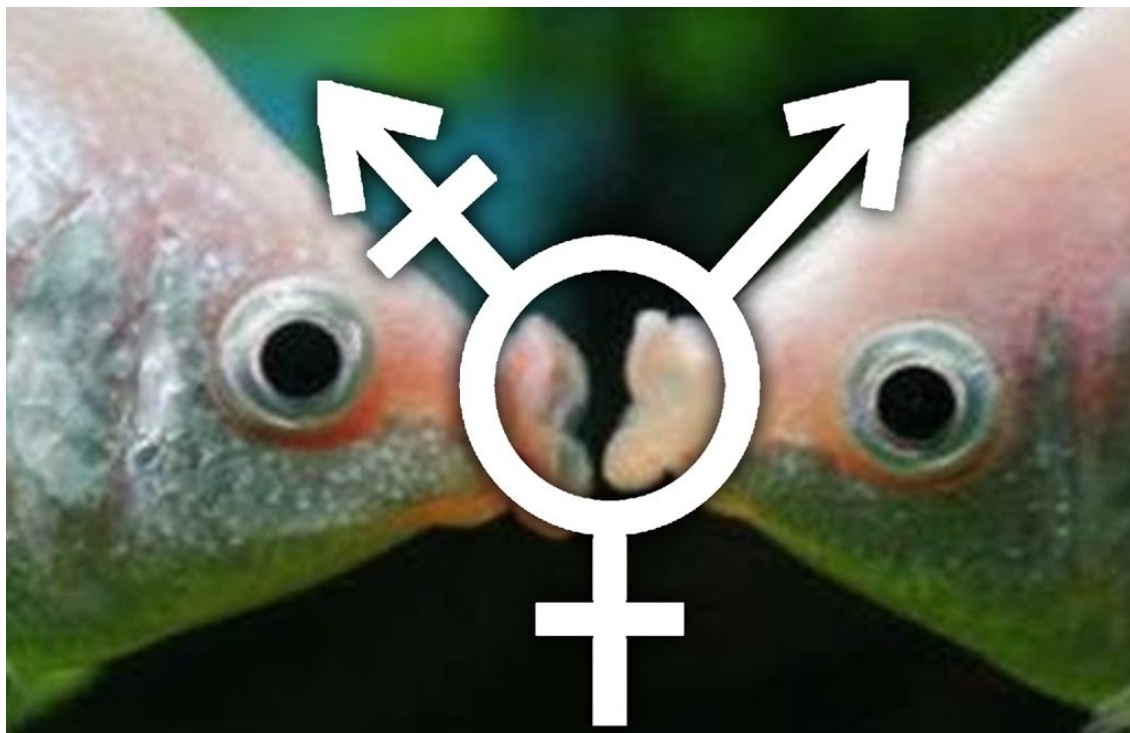
Co jsou endokrinní disruptory (EDCs)

- 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

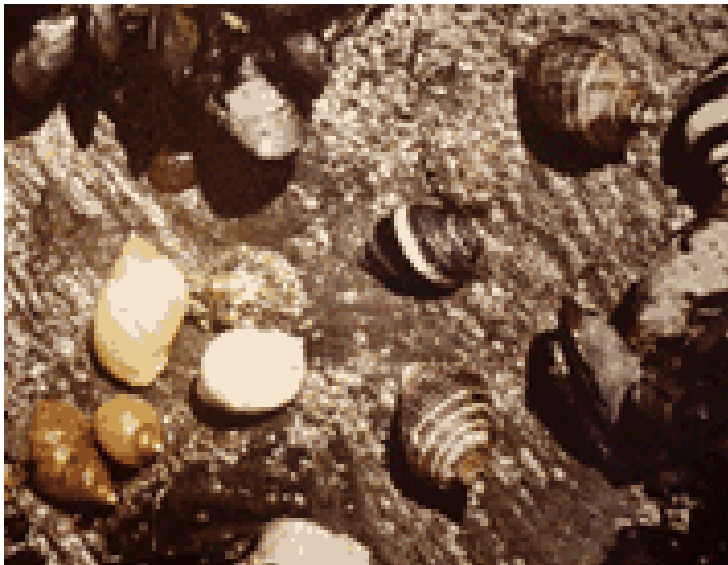
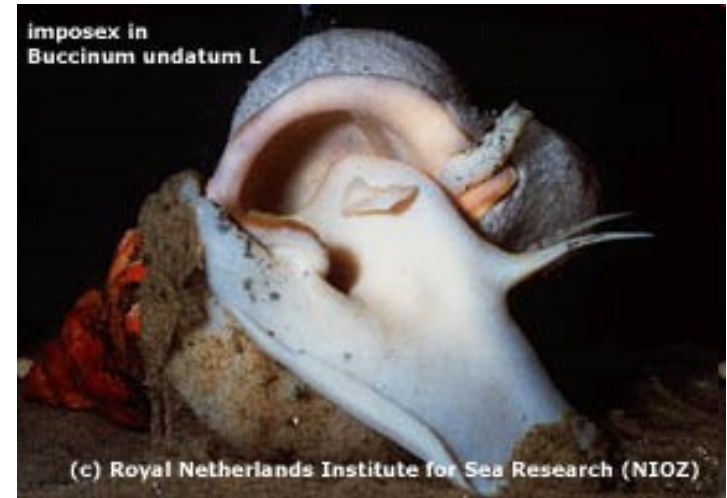


Projevy ED u bezobratlých (mlži)

První průkaz ED v historii

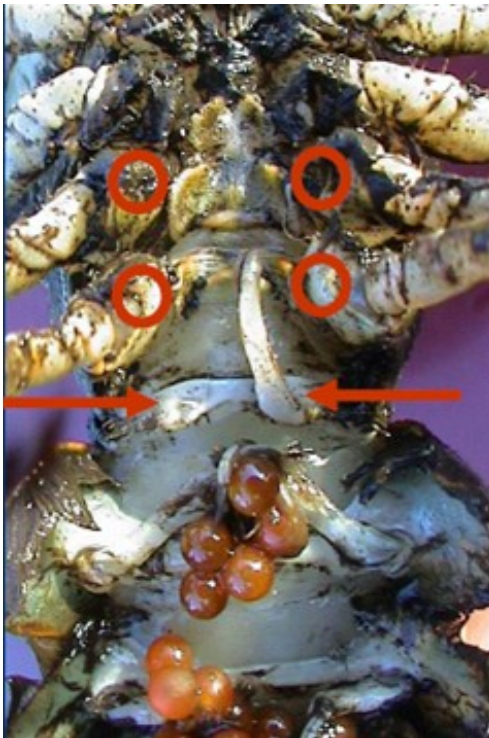
- **imposex** u mořských plžů

- * 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

- sledování v testech ekotoxicity - *Danio rerio*, *Xenopus laevis* (viz také dále)

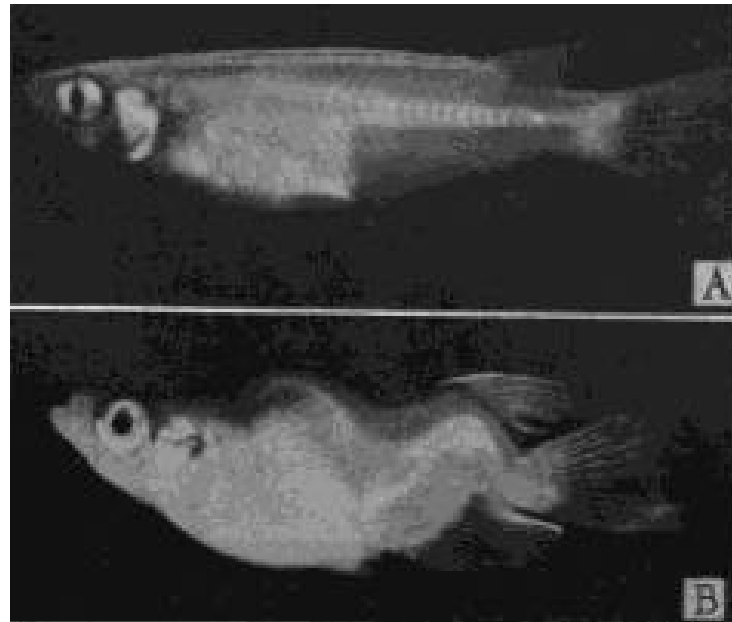


TERATOGENITA - příklady

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 ...)

