

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE  
FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ  
KATEDRA EKOLOGIE

**VLIV CHEMICKÝCH LÁTEK NA  
*ARTEMIA SALINA***

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Petr Anděl, CSc.

Diplomant: Kateřina Benediktová

2010

# **Zadání diplomové práce**

**Prohlášení**

**Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením Doc. RNDr. Petra Anděla, CSc., a že jsem uvedla všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpala.**

**V Hradci Králové 15.4.2010**

**Kateřina Benediktová**

### **Poděkování**

**Na tomto místě bych ráda poděkovala všem, kteří se mnou v průběhu diplomové práce spolupracovali a všestranně mi vycházeli vstříc. Především bych chtěla poděkovat Doc. RNDr. Petru Andělovi, CSc. za odborné vedení. Velký dík patří i Ing. Stanislavu Emingerovi, CSc. za to, že mi prostřednictvím firmy EMPLA AG spol. s r.o. umožnil uskutečnění této práce.**

## Abstrakt

Hodnocení ekotoxicity je vyžadováno při testování bezpečnosti chemických látek. Pro tento účel existuje sada standardizovaných normovaných testů. Tyto testy mají ale mnohé nevýhody (použití obratlovců, pracnost, vysoké náklady apod.) a jsou proto hledány testy nové. Cílem práce bylo zhodnocení použitelnosti nestandardizované metody stanovení akutní toxicity na žábřonožkách *Artemia salina* a její porovnání s vybranými standardizovanými testy (test inhibice *Daphnia magna*, stanovení letální toxicity látek pro *Poecilia reticulata*, test inhibice růstu *Desmodesmus subspicatus*). V první fázi práce byla metoda optimalizována (vliv pH, porovnání s publikovanými postupy). V druhé fázi byla pomocí těchto metod testována toxicita série pracích prostředků, pesticidů a hnojiv. Srovnávacím kritériem byly hodnoty EC50, které slouží k následné klasifikaci látek do tříd nebezpečnosti. Citlivost žábřonožek byla pro tyto účely dostatečná, nicméně ve srovnání s ostatními standardními organismy různá v závislosti na použitém toxikantu. Metoda se jeví z praktického hlediska výhodnou, protože umožňuje získat srovnatelné výsledky se standardními metodami s menšími nároky na manuální práci a s nižšími náklady.

## Klíčová slova

Testy toxicity, *Artemia salina*, *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata*, *Desmodesmus subspicatus*, prací prostředek, pesticid, hnojivo

## **Abstract**

Ecotoxicological values are required in risk assessment of chemicals. A set of standardized methods is used for this purpose. However these methods have several disadvantages, e.g. use of vertebrates, labour consumption, or high costs. The goal of this bachelor thesis was assessment of non-standardized method of acute toxicity on *Artemia salina* and its comparison to chosen standardized methods (inhibition of *Daphnia magna*, death of *Poecilia reticulata* and growth inhibition of *Desmodesmus subspicatus*). In the first phase the method was optimized (influence of pH, comparison with published techniques). In the second phase series of detergents, pesticides and fertilizers were tested. Comparison was based on EC50 values that were further used for classification of chemicals to classes of hazardousness. Sensitivity of *Artemia salina* is adequate for these tests, however as compared to other test organisms the sensitivity varies according to used toxicant. The method seems profitable from practical point of view, as it gives comparable results as compared to standardized methods with smaller demand of manual labour and lower costs.

## **Keywords**

Tests of toxicity, *Artemia salina*, *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata*, *Desmodesmus subspicatus*, Detergent, Pesticide, Fertilizer

# Obsah

<b>1</b>	<b>ÚVOD.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>CÍLE.....</b>	<b>11</b>
<b>3</b>	<b>LITERÁRNÍ REŠERŠE.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1</b>	<b>TOXICKÉ LÁTKY VE VODNÍM PROSTŘEDÍ.....</b>	<b>12</b>
<b>3.2</b>	<b>HISTORIE EKOTOXIKOLOGIE .....</b>	<b>13</b>
<b>3.3</b>	<b>TESTY TOXICITY .....</b>	<b>14</b>
3.3.1	TOXICITA.....	14
3.3.2	VÝZNAM A VYUŽITÍ TESTŮ TOXICITY .....	15
3.3.3	PRINCIP TESTŮ TOXICITY .....	16
<b>3.4</b>	<b>POUŽITÉ TESTOVACÍ ORGANIZMY .....</b>	<b>18</b>
3.4.1	ŽÁBRONOŽKY ( <i>ARTEMIA SALINA</i> ) .....	18
3.4.2	PERLOOČKY ( <i>DAPHNIA MAGNA</i> ) .....	19
3.4.3	ŽIVORODKY DUHOVÉ, PAVÍ OČKA ( <i>POECILIA RETICULATA</i> ) .....	20
3.4.4	ŘASY ( <i>DESMODESMUS SUBSPICATUS</i> ) .....	21
<b>3.5</b>	<b>MOŽNOSTI VYUŽITÍ ŽÁBRONOŽEK V TESTOVÁNÍ TOXICITY .....</b>	<b>23</b>
<b>3.6</b>	<b>TESTOVANÉ LÁTKY .....</b>	<b>25</b>
3.6.1	DICHROMAN DRASELNÝ.....	25
3.6.2	PRACÍ PROSTŘEDKY .....	25
3.6.3	PESTICIDY .....	26
3.6.4	PRŮMYSLOVÁ HNOJIVA.....	28
<b>3.7</b>	<b>ZNEHODNOCOVÁNÍ KVALITY VODY – EUTROFIZACE.....</b>	<b>30</b>
<b>4</b>	<b>METODIKA.....</b>	<b>32</b>
<b>4.1</b>	<b>PŘÍPRAVA PH ŘADY.....</b>	<b>32</b>
<b>4.2</b>	<b>TEST AKUTNÍ TOXICITY NA ŽÁBRONOŽKÁCH.....</b>	<b>32</b>
<b>4.3</b>	<b>TEST AKUTNÍ TOXICITY NA PERLOOČKÁCH.....</b>	<b>34</b>
<b>4.4</b>	<b>TEST AKUTNÍ TOXICITY NA RYBÁCH.....</b>	<b>36</b>
<b>4.5</b>	<b>TEST AKUTNÍ TOXICITY NA ŘASÁCH.....</b>	<b>38</b>
<b>4.6</b>	<b>VYHODNOCOVÁNÍ VÝSLEDKŮ.....</b>	<b>40</b>
<b>4.7</b>	<b>VZORKY .....</b>	<b>40</b>
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY PRÁCE .....</b>	<b>41</b>
<b>5.1</b>	<b>VLIV PH NA ÚMRTNOST ŽÁBRONOŽEK .....</b>	<b>41</b>
<b>5.2</b>	<b>TEST NA STANDARDNÍM TOXIKANTU S <i>ARTEMIA SALINA</i> (VZOREK Č. 1) .....</b>	<b>42</b>
<b>5.3</b>	<b>TESTY TOXICITY NA PRACÍCH PROSTŘEDCÍCH .....</b>	<b>44</b>
5.3.1	VZOREK Č. 2 - PRACÍ PROSTŘEDEK, MODRÝ GEL.....	44
5.3.2	VZOREK Č. 3 - PRACÍ PROSTŘEDEK, MODRÝ GEL.....	48
5.3.3	VZOREK Č. 4 - PRACÍ PROSTŘEDEK, BÍLÝ PRÁŠEK .....	52
5.3.4	VZOREK Č. 5 - PRACÍ PROSTŘEDEK, BÍLÝ PRÁŠEK S BAREVNÝMI GRANULEMI .....	56
5.3.5	VZOREK Č. 6 - PRACÍ PROSTŘEDEK, MODRÝ GEL .....	60
5.3.6	VZOREK Č. 7 - PRACÍ PROSTŘEDEK, MODRÝ GEL .....	61

5.3.7	VZOREK Č. 8 - PRACÍ PROSTŘEDEK, BÍLÝ PRÁŠEK .....	62
5.3.8	VZOREK Č. 9 - PRACÍ PROSTŘEDEK, BÍLÝ PRÁŠEK S BAREVNÝMI GRANULEMI .....	63
<b>5.4</b>	<b>TESTY TOXICITY NA PESTICIDECH.....</b>	<b>64</b>
5.4.1	VZOREK Č. 10 – PŘÍPRAVEK NA OCHRANU ROSTLIN – HERBICID.....	64
	SENCOR 70 WG.....	64
5.4.2	VZOREK Č. 11 – PŘÍPRAVEK NA OCHRANU ROSTLIN – HERBICID.....	68
	CLICK 500 SC .....	68
5.4.3	VZOREK Č. 12 – PŘÍPRAVEK NA OCHRANU ROSTLIN – HERBICID.....	71
5.4.4	VZOREK Č. 13 – PŘÍPRAVEK NA OCHRANU ROSTLIN – INSEKTICID.....	75
	CALYPSO 480 SC.....	75
<b>5.5</b>	<b>TESTY TOXICITY NA HNOJIVECH.....</b>	<b>76</b>
5.5.1	VZOREK Č. 14 - HNOJIVO - MOČOVINA .....	76
5.5.2	VZOREK Č. 15 - HNOJIVO – LEDEK AMONNÝ S DOLOMITEM.....	77
5.5.3	VZOREK Č. 16 - HNOJIVO – BOROSAN FORTE.....	79
5.5.4	VZOREK Č. 17 - HNOJIVO - DAM.....	80
5.5.5	VZOREK Č. 18 - HNOJIVO – WUXAL SUS KOMBI MG.....	81
<b>6</b>	<b><u>DISKUSE.....</u></b>	<b>82</b>
6.1	OPTIMALIZACE METODY .....	82
6.2	CITLIVOST ŽÁBRONOŽEK NA REFERENČNÍ LÁTKU .....	82
6.3	SROVNÁNÍ CITLIVOSTI JEDNOTLIVÝCH TESTOVANÝCH ORGANISMŮ.....	82
6.4	TEST S <i>ARTEMIA SALINA</i> Z HLEDISKA NÁKLADŮ .....	84
<b>7</b>	<b><u>ZÁVĚR .....</u></b>	<b>85</b>
<b>8</b>	<b><u>PŘEHLED LITERATURY A POUŽITÝCH ZDROJŮ .....</u></b>	<b>86</b>



## Seznam použitých symbolů a zkratk

**EC50:** koncentrace testovaného vzorku, která způsobí úhyn nebo imobilizaci 50% testovacích organismů

**24hEC50:** koncentrace testovaného vzorku, která způsobí úhyn nebo imobilizaci 50% testovacích organismů v časovém úseku 24 hodin

**48hEC50:** koncentrace testovaného vzorku, která způsobí úhyn nebo imobilizaci 50% testovacích organismů v časovém úseku 48 hodin

**IC50:** koncentrace testovaného vzorku, která způsobí 50% inhibici růstu ve srovnání s kontrolou

**72hIC50:** koncentrace testovaného vzorku, která způsobí 50% inhibici růstu v časovém úseku 72 hodin ve srovnání s kontrolou

**168hIC50:** koncentrace testovaného vzorku, která způsobí 50% inhibici růstu okřehku menšího ve srovnání s kontrolou v časovém úseku 168 hodin

**LC:** letální koncentrace

**LC50:** koncentrace testovaného vzorku, která vyvolá úhyn 50% testovacích ryb

**24hLC50:** koncentrace testovaného vzorku, která vyvolá úhyn 50% testovacích ryb v časovém úseku 24 hodin

**48hLC50:** koncentrace testovaného vzorku, která vyvolá úhyn 50% testovacích ryb v časovém úseku 48 hodin

**96hLC50:** koncentrace testovaného vzorku, která vyvolá úhyn 50% testovacích ryb v časovém úseku 96 hodin

**LOEC:** nejnižší koncentrace testovaného vzorku, při které jsou pozorovány účinky (lowest observed effect concentration)

**NOEC:** nejvyšší koncentrace testovaného vzorku nevyvolávající žádné pozorovatelné účinky (no observed effect concentration)

# 1 Úvod

Testy toxicity mají svou nezastupitelnou úlohu při hodnocení nově vyvinutých a do praxe zaváděných chemických látek a přípravků i při klasifikaci odpadů určených ke skládkování.

Jedním z hlavních požadavků při testování je snížit počet pokusů na obratlovcích na minimum. Snahou ekotoxikologů je hledat jiné alternativní testy, využívající bezobratlé živočichy, rostliny nebo tkáňové kultury.

Pro použití organismů v ekotoxikologii je důležitým faktorem jejich snadná dostupnost, nenáročnost z hlediska chovu, pěstování či kultivace a především citlivost k testované látce.

V této diplomové práci se budu zabývat testy akutní toxicity na žábřonožkách *Artemia salina*, které dosud nepatří ke standardním testovacím postupům v ekotoxikologických laboratořích. Budu je porovnávat s jinými testy akutní toxicity a zabývat se jejich vhodností pro zavedení do praxe.

## 2 Cíle

Cílem předkládané diplomové práce je:

- a) literární rešerše a teoretický rozbor problematiky využití žábřonožek *Artemia salina* v testech toxicity,
- b) provedení testů akutní toxicity s *Artemia salina* na standardním toxikantu,
- c) stanovení rozmezí optimálního pH pro tyto organizmy,
- d) změření toxicity vybraných chemických látek na žábřonožkách *Artemia salina*,
- e) porovnání výsledků se standardními testy toxicity na jiných organizmech,
- f) zhodnocení použitelnosti *Artemia salina* pro tyto testy.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Toxické látky ve vodním prostředí

V posledních letech se do pozornosti světové veřejnosti dostává problematika vlivu rozvinutých lidských aktivit na environmentální systém. Průmysl, doprava, spotřební způsob života a z nich plynoucí vysoká spotřeba surovin a následná produkce různého typu znečištění negativním způsobem ovlivňují rovnovážné fyzikální, chemické či biologické přírodní procesy. Velký význam má proto sledování kvality životního prostředí, resp. míry jeho znečištění.

Je všeobecně známo, že některé látky jsou pro život nezbytné, avšak jejich nadbytek v systému může působit toxicky na živé organismy. Toxicita silně souvisí nejen s koncentrací látky ve sledovaném systému, ale i s její chemickou formou. Forma výskytu látky závisí jak na vlastnostech této látky, tak i na vlastnostech celého ekosystému. Z tohoto důvodu je při analýze životního prostředí pozornost zaměřena na stanovení různých forem anorganických i organických látek přírodního či antropogenního původu, které se však v ekosystému často vyskytují pouze ve stopových koncentracích (SMETKOVÁ, 2004).

Znečišťování povrchových vod je způsobeno hlavně vypouštěním průmyslových odpadních vod a splaškových vod.

Pouze 40 % odpadních vod je čištěno s dostatečnou účinností. Problém posledních let je i přítomnost látek značně toxických – těžké kovy, chlorované uhlovodíky, PCB, dusičnany, dusitany. Zemědělství se stává významným bodovým zdrojem znečištění (silážní jámy, močůvkové jímky, hnojiště, sklady průmyslových hnojiv, pesticidů, splachy ornice, doprava atd). Také havárie způsobené nedodržením technologických postupů, tedy selháním lidí, ale i selháním techniky se významně podílí na znečištění povrchových a podzemních vod. (ŠTAMBERGOVÁ et PROKEŠ, 1996).

## 3.2 Historie ekotoxikologie

Historicky nejrozšířenější oblastí ekotoxikologie je její akvatická část. Forbes (1887) byl prvním vědcem, který zaznamenal význam přítomnosti či absence druhů a společenstev ve vodním prostředí a navrhl přístup ke klasifikaci řek do zón znečištění. Zhruba ve stejnou dobu byly při studiu toxických chemikálií v průmyslových odpadních vodách provedeny první jednoduché testy akutní toxicity. Akvatická ekotoxikologie je disciplínou poskytující mnoho metodik k testování toxických účinků látek. S rostoucí potřebou testovat látky ve vodě špatně rozpustné či komodity jako jsou zeminy, začaly metodiky testování pomocí vodních organismů vykazovat zásadní nedostatky a to především v oblasti předúpravy vzorků a dále ve finální interpretaci dat. Začaly se tedy vyvíjet metodiky testováním v tzv. kontaktním uspořádání – terestriální testy toxicity (KOČÍ et HALOUŠKOVÁ, 2002).

### 3.3 Testy toxicity

#### 3.3.1 Toxicita

Toxicita (jedovatost) je nepříznivé až letální působení látek, přípravků a odpadních vod na organizmy. V mírné formě se projevuje poruchou některých fyziologických funkcí. Silné projevy toxicity jsou doprovázeny úhynem (mortalitou) organismů.

Toxicita se stanoví pomocí toxikologických testů. V současné době se v rybářské a vodohospodářské toxikologii používá řada standardizovaných testů akutní toxicity na rybách. Co se týká testů akutní toxicity s ostatními vodními živočichy, byla ve světě standardizována celá řada metod. Nejpoužívanějším organismem v toxikologických testech je perloočka *Daphnia magna*, která je jedním z nejcitlivějších vodních organismů. Ze zástupců primárních producentů se toxikologické testy provádějí na řasách rodu *Desmodesmus*, na doušce vodní (*Anacharis canadensis*) a bakterii *Vibrio fisheri* (SVOBODOVÁ et al., 1987).

Rozdělení toxicity:

Testy toxicity všeobecně dělíme na akutní, chronické a subchronické.

a) Testy akutní toxicity jsou krátkodobé, trvají několik hodin až dní, maximálně však do jednoho týdne. Během testu působí na pokusné organizmy poměrně vysoké dávky toxických látek v průběhu krátkého času.

b) Testy chronické toxicity trvají dlouhodobě (měsíce až roky). Během testu působí na pokusné organizmy poměrně malé dávky toxických látek v průběhu dlouhého času. Délka pokusu může zahrnovat i délku života několika generací pokusných organismů.

c) Testy subchronické toxicity trvají několik týdnů a jejich působení zahrnuje maximálně 10 % normální délky života pokusných organismů. Během testu působí na organizmy středně velké dávky toxických látek v průběhu delší doby (HETEŠA et SUKOP, 1985).

### 3.3.2 Význam a využití testů toxicity

Testy toxicity na organizmech vodního prostředí mají svou nezastupitelnou úlohu při hodnocení nově vyvinutých a do praxe zaváděných chemických látek a přípravků včetně pesticidů i při klasifikaci odpadů určených ke skladování. Tyto testy mají rovněž velký význam při hledání a usvědčování původců havárií na povrchových a podzemních vodách.

Snahou ekotoxikologů je hodnotit potenciální nebezpečí pro ekosystém jako celek. Z toho vyplývá, že výběr testovacích organismů k testům toxicity by měl být prováděn tak, aby byly zastoupeny jednotlivé trofické úrovně studovaného organismu (producent – konzument – destruent), ale i diverzita daného ekosystému.

Při hodnocení akutní toxicity chemických látek, přípravků a odpadů, případně odpadních vod (obecně vzorku) se zjišťují hodnoty LC50 (letální koncentrace pro 50% testovaných organismů – v testech na rybách), hodnoty EC50 (efektivní koncentrace, která vyvolá 50% úhyn, či imobilizaci testovacích organismů – v testech na zástupcích zooplanktonu) a hodnoty IC50 (inhibiční koncentrace, tj. koncentrace, která způsobí 50% inhibici růstu ve srovnání s kontrolou – v testech na zelených řasách, hořčici bílé a na okřešku). Při hodnocení toxicity testovaného vzorku pro organismus je samozřejmě důležitá nejen koncentrace látky, ale také doba jejího působení. Proto je také doba působení (expozice) dána metodikou příslušného testu toxicity a uvádí se ve výsledku. V testech na bakteriích je např. doba trvání testu 15 minut a výsledkem je hodnota 15minEC50. Analogicky pro zelené řasy trvá test 72 hodin a výsledkem je hodnota 72hIC50, pro dafnie se stanovuje 48hEC50, pro ryby 96hLC50, pro semena hořčice bílé 72hIC50 a pro okřehek menší 168hIC50.

Dále se při vyjadřování výsledků uvádí hodnota LOEC (lowest observed effect concentration), která udává nejnižší koncentraci testované položky, při které jsou pozorovány účinky. Nejvyšší koncentraci testovaného vzorku nevyvolávající žádné pozorovatelné účinky na testované populaci organismů udává NOEC (no observed effect concentration) (SVOBODOVÁ et al., 2000).

Hodnocení chemických látek a přípravků včetně pesticidů se provádí podle Nařízení vlády č. 258/2001 Sb. a podle Vyhlášky Mze č. 120/1999 Sb. Testované látky a přípravky se označují z hlediska speciálních rizik následujícími R větami:

R50: vysoce toxické pro vodní organizmy  $LC(EC, IC)_{50} \leq 1 \text{ mg.l}^{-1}$

R51: toxické pro vodní organizmy  $1 \text{ mg.l}^{-1} < LC(EC, IC)_{50} \leq 10 \text{ mg.l}^{-1}$

R52: škodlivé pro vodní organizmy  $10 \text{ mg.l}^{-1} < LC(EC, IC)_{50} \leq 100 \text{ mg.l}^{-1}$

Je-li zjištěná EC 50 > 100 mg/l, není látka pro životní prostředí nebezpečná.

Při vyšetřování zdroje a příčiny havarijní situace v recipientu se provádí vedle hydrochemického a hydrobiologického vyšetření také biologická zkouška toxicity vody. Pro tento účel nesmí být vzorek vody konzervován žádným konzervačním prostředkem (SVOBODOVÁ et al., 2003).

### 3.3.3 Princip testů toxicity

Testovací organizmy se vystavují po zvolenou dobu (obvykle 24 až 96 hod.) různým koncentracím testované látky rozpuštěné v ředící vodě, současně se testovací organizmy nasadí do ředící vody bez testované látky – kontrola. V určitých intervalech (obvykle 24 hodin) se kontroluje stav testovacích organismů, zaznamenává počet uhynulých jedinců v jednotlivých koncentracích a kontrole. Mortalita, případně imobilizace, se v jednotlivých koncentracích vyjádří jako procentický podíl z celkového množství jedinců. Ze získaných hodnot se vhodnou statistickou metodou vypočítá střední účinná koncentrace (EC(IC,LC)50).

Tradiční metodou výpočtu je probitová analýza. Probitové hodnoty se vynesou do grafu proti logaritmům koncentrací testované látky. Vynesenými body se proloží metodou nejmenších čtverců přímka. Z grafu se poté odečte logaritmus koncentrace LC50 (log LC50) odpovídající probitové hodnotě 5. Po odlogaritmování získáme hledané hodnoty středních letálních (u žábřonožek a perlooček efektivních, u řas inhibičních) koncentrací.

Pokud uhyne v testu méně než 50 % testovacích organismů, tak se výpočet LC50 neprovádí (KROUPOVÁ, 2004).



Výsledky testu jsou platné (jsou validovány), jsou - li splněny následující požadavky:

a) u ryb koncentrace rozpuštěného kyslíku v testovaných roztocích a v kontrole během testu neklesla pod 60 % nasycení a u dafnií koncentrace rozpuštěného kyslíku v testovaných roztocích a v kontrole během testu neklesla pod  $2 \text{ mg.l}^{-1}$ ,

b) mortalita kontrolních organismů nepřekročila 10 %,

c) část kontrolních organismů, vykazujících nezvyklé chování, nepřekročila 10%,

d) teplota byla v daném rozmezí,

e) koncentrace testované látky neklesla pod 80 %,

f) test na standardu je v přiměřené shodě s výsledky dříve dosaženými (SVOBODOVÁ et al., 2000).

## 3.4 Použité testovací organizmy

### 3.4.1 Žábřonožky (*Artemia salina*)

Žábřonožka solná – *Artemia salina* je korýš ze třídy lupenonožců (*Phyllozoa*) (DVOŘÁK et al., 1999).

Žábřonožky mají podlouhlé tělo tvořené hlavou, hrudí s jedenácti články a devítičlánkovým zadečkem s furkou. Nemají krunýř. Složené oči jsou na stopkách. Hrudní články nesou po jednom páru listových nožek, které mají jediný kloub. Hrudní nožky slouží současně k pohybu, k příjmu potravy, k dýchání a mají i smyslovou funkci. Žábřonožky plavou zpravidla hřbetem dolů. Vedle plynulého plavání mohou provádět i náhlé skoky. Živí se organickým detritem a drobnými organizmy, které filtrují z vody. Je u nich vyvinut výrazný pohlavní dimorfismus. Samci mají mohutné antény s různě utvářenými čelními výběžky, samice mají na zadečku nápadné vaječné vaky. Z vajíček se líhnou naupliové larvy.

Žábřonožka solná je 6 až 30 mm dlouhá. Vyskytuje se ve slaných kontinentálních vodách, snáší vysoké koncentrace solí a teplot. Je vysoce odolná vůči nepříznivým podmínkám prostředí. Rozmnožuje se často partenogeneticky. Na některých lokalitách se její vajíčka hromadí v silných vrstvách na březích. Sbírají se a vylíhlé larvy se používají jako potrava pro rybí plůdek (HARTMAN et al., 1998; NUNES et al., 2006).

Larvy jsou vhodné pro sledování toxicity, neboť mají vysokou citlivost vůči celé řadě chemických látek. Larvy se líhnou z trvalých vajíček označovaných jako cysty, které jsou v klidovém stádiu (diapauze). Nákup cyst (krmivo akvarijních ryb) umožňuje velmi levně získat několik desítek milionů jedinců vysoké homogenity. Mezi faktory přímo ovlivňující líhnutí patří teplota, neustálý pohyb cyst a dostatek kyslíku (DVOŘÁK et al., 1999).

Vajíčka žábřonožky solné se k nám dováží v konzervách, téměř výhradně vyráběných v USA. Jsou sbírána ve Velkém solném jezeře v Utahu. Jsou omyta sladkou vodou, usušena a vakuově plněna do konzerv (KOČÍ et al., 2001).



Obr. č. 1: Vylíhlé nauplium Artemie (KOČÍ et al., 2001)

### 3.4.2 Perloočky (*Daphnia magna*)

Perloočky jsou z rybářského hlediska nejvýznamnější skupinou zooplanktonu. Kromě hlavy je u většiny druhů celé tělo uzavřeno v dvouchlopňové skořápce. Na hlavě je velké složené oko, lemované světlolomnými krystalky připomínajícími perličky (odtud český název perloočky), dále se zde nachází drobné očko naupliové, dva páry tykadla a ústní ústrojí. Tykadla 1. páru jsou malá, opatřená smyslovými tyčinkami, které slouží jako orgán chuťově-čichový. Tykadla 2. páru jsou mohutná a slouží k pohybu (SUKOP, 1998).

Perloočky mají čtyři až šest párů končetin, které jsou zpravidla listové a slouží k filtraci potravních částic a k dýchání. Konec zadečku je pozmeněn ve zvláštní orgán (*postabdomen*) zakončený dvěma drápkami (HARTMAN, 1998).

Většina našich perlooček jsou filtrátoři, kteří se živí bakteriemi, fytoplanktonem a detritem, případně seškrabují nárosty řas z povrchu makrofyt (SUKOP, 1998).

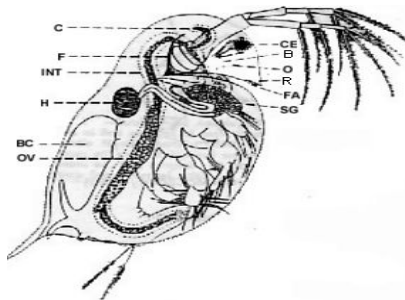
Perloočky se rozmnožují převážně partenogeneticky. Celý embryonální vývoj partenogenetických vajíček probíhá v plodovém prostoru samic. S výjimkou druhu *Leptodora kindtii* nemají larvální stádium (HARTMAN et al., 1998; SUKOP, 1998).

Perloočky patří k základní potravě ryb, ale živí se jimi i celá řada dalších vodních živočichů. Pro ryby jsou perloočky cennou potravou, protože obsahují velké množství kaloricky hodnotných a lehce stravitelných látek (SUKOP, 1998).

Vůbec nejznámější perloočku (hrotnatku) druhu *Daphnia magna*, dorůstající pěti milimetrů, nalezneme jen v silně znečištěných návesních rybníčkách, kde může vytvářet celá červená mračna (ŠTĚRBA, 1986).



Obr. č. 2: Fotografie samičky *Daphnia magna* (CLARE, 2008)



Obr. č. 3: Anatomie samičky *Daphnia magna* (CLARE, 2008)

(B – mozek, BC – komora s krví, C – trávicí trubice, CE – složené oko, F – podélná lišta skořápky, FA – první tykadlo, H – srdce, INT – střevo, O - očko, OV – vaječníky, R – sosák, SG – žláza).

### 3.4.3 Živorodky duhové, paví očka (*Poecilia reticulata*)

*Poecilia reticulata* pochází ze severu Jižní Ameriky a některých karibských ostrovů. Obývá stojaté a pomalu tekoucí vody (HIERONIMUS, 1999). Dnešní územní rozšíření je obrovské. Za to vděčí své neobyčejné přizpůsobivosti, odolnosti a plodnosti (DOKOUPIL, 1981).

Živorodky mají protáhlé tělo. Samice jsou spíše zavalité, béžově šedé. Samci jsou štíhlí, v nejrůznějších barvách. Samečci dorůstají velikosti až 3 cm, samičky až 6 cm.

Živorodka duhová je všežravec.

Mláďata přicházejí na svět prakticky zcela vyvinutá. Vyvíjí se v tělní dutině samice.

První živorodky se do evropských akvárií dostaly kolem roku 1890. Po vzrušujícím objevu, že rodí živá mláďata, se o ně začalo zajímat mnoho akvaristů.

V přírodě žijí mnohé živorodky pohromadě v hejnech. V rámci hejna se v akváriu zpravidla vytvoří sociální žebříček. Nejsilnější sameček má hezčí zbarvení než všechny ostatní ryby v hejnu (HIERONIMUS, 1999).

*Poecilia reticulata* jsou pro testy toxicity nejvýznamnější akvarijní ryby (HARTMAN et al., 1998).



Obr. č. 4: *Poecilia reticulata* (ANONIMUS, 2008)

#### 3.4.4 Řasy (*Desmodesmus subspicatus*)

Buněčné (kokální) zelené řasy – Chlorococcales žijí jednotlivě nebo v koloniích. Nemají bičíky ani se aktivně nepohybují. Jsou všeobecně rozšířené a žijí ve všech typech vod a na různých vlhkých stanovištích. Ve vodách rybníků, přehrad a volně tekoucích řek je nacházíme ve velkém množství a účastní se významně na samočištění vody. Vyskytují se hlavně v létě (HARTMAN et al., 1998).

Některé druhy rodu *Desmodesmus* jsou významnými objekty masové kultivace řas pro nejrůznější účely ( např. ekotoxicita).

Faktorem primární důležitosti je pro řasy především světlo. *Desmodesmus subspicatus* jsou autotrofní organismy, vytvářející organické látky z anorganických pomocí asimilačních pigmentů (chlorofyl) v procesu fotosyntézy.

Teplota má vliv na rychlost téměř všech metabolických procesů u řas.

Zvýšení teploty a intenzity světla však může vést i k rychlejšímu odumírání planktonních řas, které vyčerpaly své zásoby živin (HETEŠA et SUKOP, 1985).

V literatuře a laboratořích se dříve uvádělo pojmenování řas *Scenedesmus subspicatus*, které je dnes změněno na *Desmodesmus subspicatus*.



Obr. č. 5: *Desmodesmus subspicatus* (KOZUMPLÍKOVÁ, 2006)

### 3.5 Možnosti využití žábřonožek v testování toxicity

Bylo zjištěno, že na testování žábřonožek má vliv spousta faktorů (tvrdost vody, pH, druh a věk testovaného organismu,...) (BARAHOVA et SÁNCHEZ-FORTÚN, 1996).

V roce 1995 byl na konferenci v Českých Budějovicích představen 5 denní test na *Artemia salina*, kdy byl pokus ukončen úhynem kontrolních skupin vlivem hladovění. Prodloužit délku života *A. salina* v prostředí Petriho misek bylo možné pouze dodáním energie z potravy. Na téže konferenci v roce 2001 byl proto s úspěchem předveden desetidenní biotest na žábřonožkách, kdy byl jako dieta použit přídatek glukózy (DVOŘÁK et ŠUCMAN, 2001).

Biotesty s *Artemia salina* jsou vhodné pro stanovení subakutní toxicity farmak (DVOŘÁK et al., 1999).

Dále byly provedeny testy na vybraných fenolových sloučeninách (petachlorfenol, 2,6-dichloroindofenol, 2,4-dinitrofenol, o-nitrofenol, diamidofenol, a 2,6-dimethylfenol) s *Artemia salina* rozdílného stáří (24, 48 a 168 hodin). Akutní toxicita fenolových sloučenin na larvách žábřonožek byla ovlivněna délkou expozice. Výsledky studie prokázaly, že nejcitlivější jsou larvy stáří 48 hodin. Tato studie také poukázala na to, že je nezbytné zavádět nové testy pro různé stáří organismů za účelem otestování nebezpečných vlastností sloučenin (BARAHOVA et SÁNCHEZ-FORTÚN, 1996).

Cílem jiné studie bylo poskytnout informace o embryotoxickém efektu chemikálií a navrhnout test na *Artemia salina* cystách. Cysty byly přímo exponovány třem alkoholům, methanolu, ethanolu a n-propanolu, které jsou velmi často používány jako organická rozpouštědla pro chemikálie, které nejsou rozpustné ve vodě. Tyto rozpouštědla mohou být používána vzhledem k jejich NOEC hodnotě. Při koncentraci 0,21 M methanolu a 0,13 M ethanolu nebyly sledovány žádné změny. Tyto koncentrace jsou považovány za NOEC hodnoty těchto alkoholů. Avšak po jedné hodině expozice 100 % methanolu byly cysty hydratovány a následný vývoj nepokračoval. Otázka, zda je n-propanol letální pro cysty, zůstala v této studii otevřená. (VISMARA, 1998).

Jako referenční chemikálie se také testovaly a porovnávaly anionický detergent laurylsíran sodný (SLS) a dichroman draselný. Bylo zjištěno, že larvy žábřonožek jsou více resistantní dichromanu než SLS (TOGULGA, 1998).

V další studii byly jako testovací látky použity chlorid kademnatý, dichroman draselný, PCB (Delor 103 – nasycený roztok je považován za 100%) a radionuklid  $^{89}\text{Sr}$ , který představoval vnitřní kontaminaci zářením beta. Byl jasně prokázán strmější průběh nárůstu letality u dichromanu draselného oproti chloridu kademnatému, což potvrzuje známý fakt vyšší toxicity šestimocného chromu v porovnání s dvoumocným kadmíem. Použitý nasycený roztok Deloru 103 ve slané vodě i při 10% koncentraci nemá žádný subakutní toxický účinek.  $^{89}\text{Sr}$  bylo použito v poměrně vysoké aktivitě 30 kBq/l. Vzhledem k fylogenetickému postavení *A. salina* nepředstavuje tato aktivita žádný subakutní účinek a testy bylo potvrzeno, že ani stonásobná koncentrace nemá žádnou odezvu.  $^{89}\text{Sr}$  bylo vybráno jako běžný radionuklid vyskytující se při haváriích jaderných elektráren a vzhledem k jeho krátkému poločasu rozpadu (51 dní), představuje zátěž životního prostředí především několik měsíců po havárii (DVOŘÁK et ŠUCMAN, 1996).



## 3.6 Testované látky

### 3.6.1 Dichroman draselný

Dichroman draselný se v ekotoxikologických laboratořích používá jako referenční látka. Je to standard, podle kterého si laboratoře ověřují správné provedení testů.

Dichroman draselný je oranžová krystalická látka, která je vysoce toxická, oxidující a nebezpečná pro životní prostředí. V kyselém prostředí působí jako silné oxidační činidlo. Může vyvolat rakovinu a poškození dědičných vlastností. Vážně poškozuje reprodukční schopnosti a plod v těle matky. Při doteku s hořlavým materiálem může způsobit požár. Při styku s kůží je pro člověka zdraví škodlivý. Vyvolává nepříznivé účinky ve vodním prostředí, proto by se mělo zamezovat jeho uvolňování do životního prostředí (ANONIMUS, 2008).

Sumární vzorec dichromanu draselného:  $K_2Cr_2O_7$ .

### 3.6.2 Prací prostředky

Tenzidy jsou hlavní součástí (aktivní látkou) pracích prostředků, které kromě tenzidů obsahují ještě přísady (doplňující složky), jež zlepšují a doplňují jejich účinky. V pracích prostředcích připadá na tenzidy nejvýše jedna třetina z veškerých látek. Pro prací a čisticí prostředek se také používá název detergent.

Tenzidy jsou organické látky, které se již při nízké koncentraci významně hromadí (absorbují) na fázovém rozhraní a snižují tak mezifázovou, resp. povrchovou energii. Tenzidy vykazují povrchovou aktivitu, která se vizuálně projevuje pěněním.

Vývoj problémů souvisejících s používáním pracích a čisticích prostředků pro vodní hospodářství lze rozdělit do tří generací. První generace problémů se projevila pěněním na čistírnách odpadních vod a na tocích. Tyto problémy byly v podstatě vyřešeny výrobou a aplikací převážně jen biologicky rozložitelných tenzidů. Druhá generace problémů vznikla koncem šedesátých let v souvislosti s rostoucí eutrofizací vod, na které se podílejí i polyfosforečnany v detergentech. Snahou je alespoň částečně tento problém řešit používáním převážně bezfosforečnanových pracích prostředků. Třetí generace problémů je spojena s tvorbou poměrně stabilních a někdy i toxických meziproductů biodegradace (PITTER, 1999).

### 3.6.3 Pesticidy

Pesticidy jsou chemikálie používané proti škodlivým živočichům, plevelům a parazitickým houbám, které ohrožují zemědělské, zahradní a lesní rostliny, zásoby potravin a zemědělských produktů, průmyslové materiály (textil, kůže, dřevo), užitečná zvířata nebo i samotného člověka.

Převážná část vyráběných pesticidů se aplikuje v zemědělské výrobě jako přípravky na ochranu rostlin.

Pesticidy se nejčastěji dělí podle použití proti škodlivým činitelům. Nejdůležitějšími a nejrozšířenějšími skupinami jsou insekticidy, fungicidy a herbicidy. Ostatní skupiny jsou méně významné (CREMLYN, 1985).

Insekticidy jsou látky působící jedovatě svými chemickými, popř. fyzikálními vlastnostmi na hmyz, k jehož hubení slouží. Jejich širší použití v ochraně rostlin lze bezpečně datovat od počátku 19. stol., kdy byly některé insekticidní látky rostlinného původu dovezeny do Evropy a poprvé použity v hospodářsky významném měřítku.

Fungicidy jsou chemické látky, které se používají v boji proti houbovým chorobám rostlin, proti houbám na materiálu a surovinách, proti mikrobiální korozi apod. Chemické přípravky proti houbovým chorobám mohou působit buď fungitoxicky, fungicidně, kdy v pravém slova smyslu zabíjejí a ničí houbové původce rostlinných chorob, nebo fungistaticky, kdy zastavují růst nebo vývoj hub, ale neničí je.

Herbicidy jsou biologicky účinné chemické sloučeniny, záměrně používané k potlačení růstu nebo k hubení nežádoucích rostlin (HOCHMUT et al., 1968).

Podle principu působení jsou pesticidy děleny na kontaktní, systémové, perzistentní a selektivní.

Kontaktní pesticidy působí na škodlivé organismy po přímém kontaktu. Jsou aplikovány na povrch škůdce, původce chorob či plevelů.

Systémové či translokované pesticidy jsou absorbovány v rostlinách či jiných organismech a translokovány do jiných pletiv, tkání a orgánů.

Perzistentní pesticidy ničí škodlivé organismy po určitou dobu, minimálně týden, např. několik týdnů po aplikaci. Naopak neperzistentní pesticidy či přípravky s krátkou působností se bezprostředně po aplikaci rychle rozpadají.

Selektivní pesticidy působí proti určitému okruhu škodlivých organismů a jsou tolerantní vůči některým druhům rostlin.

Zbytky pesticidů a jejich rozkladných produktů, které přetrvávají v plodinách a produktech rostlinného a živočišného původu se nazývají rezidua. Rozkládají se různě rychle v tkáních či pletivech za určitých podmínek. Dynamika reziduí určuje, v jakém množství rezidua existují a jak daný pesticid přetrvává v plodině či v produktech v poměru k času. Z těchto údajů je stanoven počet dní, který musí být dodržen, mezi datem poslední aplikace přípravku a datem slizně či použití (WITTLINGEROVÁ et JONÁŠ, 2002).

*Tab. č. 1: Vývoj spotřeby přípravků na ochranu rostlin v ČR (WITTLINGEROVÁ et JONÁŠ, 2002)*

Rok	Spotřeba obchodních přípravků celkem [t]	Spotřeba účinných látek celkem [t]	Průměrná spotřeba obch. přípravků [kg.ha <sup>-1</sup> ]	Průměrná spotřeba účinných látek [kg.ha <sup>-1</sup> ]
1985	25 267	10 575	5,81	2,42
1986	23 610	9 740	5,45	2,25
1987	20 007	8 953	4,63	2,07
1988	20 445	8 710	4,73	2,01
1989	20 620	8 550	4,78	1,98
1990	20 888	8 620	4,86	2,01
1991	15 200	6 730	3,54	1,57
1992	11 150	4 682	2,60	1,09
1993	8 800	3 786	2,09	0,89
1994	8 692	3 680	2,08	0,88
1995	9 103	3 782	2,09	0,89
1996	9 196	3 908	2,14	0,91

Zdroj: Mze ČR, odbor zemědělské výroby

Tab. č. 2: Celkový rozsah ošetření podle skupin přípravků v tis. ha (WITTLINGEROVÁ et JONÁŠ, 2002)

Rok	Fungicidy	Zoocidy (insekticidy, akaricidy, rodenticidy)	Herbicidy	Regulátory	Desikanty	PESTICIDY celkem
1985	1 458	544	2 968	727	162	5 854
1986	1 412	751	3 129	816	140	6 248
1987	1 718	547	3 120	733	136	6 254
1988	1 962	745	3 302	648	121	6 838
1989	1 917	810	3 353	691	122	6 893
1990	1 660	817	3 231	564	96	6 368
1991	1 232	605	3 041	365	111	5 354
1992	876	832	2 816	234	87	4 845
1993	771	625	2 681	142	75	4 294
1994	717	667	2 840	141	68	4 433
1995	873	589	2 929	141	91	4 623
1996	959	577	2 933	181	124	4 774

Zdroj: Mze ČR, odbor zemědělské výroby

### 3.6.4 Průmyslová hnojiva

Průmyslová hnojiva jsou výrobky chemického průmyslu určené k použití v rostlinné výrobě s cílem zajistit potřebnou úroveň výživy plodin dodávkou živin ve formě rostlinám přijatelné. Jejich aplikace by ve své podstatě měla udržovat rovnováhu mezi vstupy a výstupy, tedy vyrovnávat bilanci živin v rostlinách a v půdě při vytváření nezbytné mobilní zásoby (HEGNER et al., 1990).

Průmyslová hnojiva rozdělujeme podle obsahu hlavní živiny na hnojiva dusíkatá, fosforečná, draselná, hořečnatá, vápenatá a vícesložková (RICHTER et HLUŠEK, 1996).

Vybraná dusíkatá hnojiva: ledek vápenatý, ledek amonný s vápencem, síran amonný, dusíkaté vápno, močovina.

Vybraná fosforečná hnojiva: superfosfáty, Thomasova moučka, mletý fosfát.

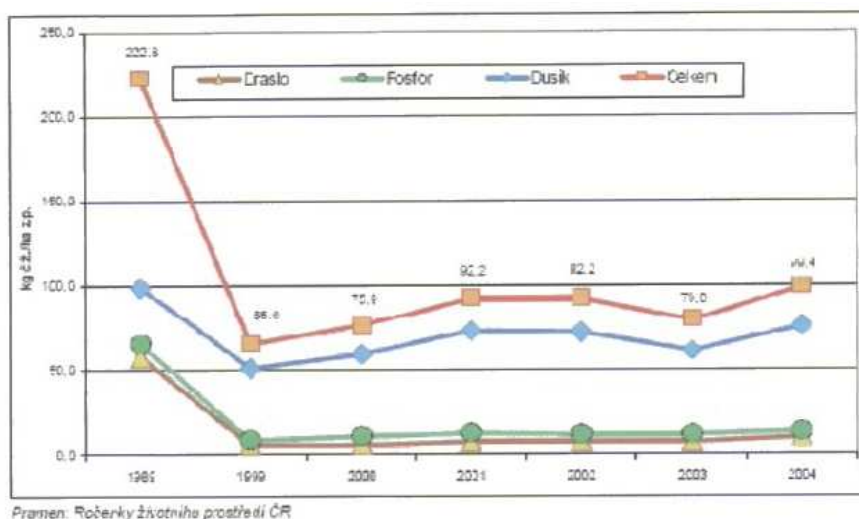
Vybraná draselná hnojiva: draselná sůl, chlorid draselný, kainit, síran draselný, reformkali.

Vybraná hořečnatá hnojiva: dolomitická vápenec, reformkami.

Vybraná vápenatá hnojiva: pálené vápno, mletý vápenec, saturační kaly, vápenatá struska vysokopeční.

Dále můžeme průmyslová hnojiva dělit podle fyzikálních vlastností na kapalná a tuhá, podle formy působení na přímo působící (dusíkatá, fosforečná) a nepřímo působící (vápenatá – úprava pH) a podle rychlosti působení na rychle působící a pozvolna působící.

Tato hnojiva jsou velmi účinná, ale při nesprávném použití (nadměrné dávky, nevhodné kombinace a nesprávné zapravení do půdy) poškozují kulturní rostliny, půdu i životní prostředí (VRÁBLÍKOVÁ et VRÁBLÍK, 2006).



Obr. č. 6: Graf aplikace průmyslových hnojiv v letech 1989 až 2004 (kg č. z./ha z. p.) (VRÁBLÍKOVÁ et VRÁBLÍK, 2006)

### 3.7 Znehodnocování kvality vody – eutrofizace

Lidská společnost produkuje velké množství látek, které svými účinky ovlivňují kvalitu životního prostředí. Vedle toxických látek je možné se dnes setkat i s látkami, které nejsou ve své podstatě jedovaté, jejichž vlastnosti však způsobují či podporují jiné negativní jevy. Mezi takové odpadní látky lze počítat nutrienty (živiny), které svojí narůstající koncentrací v povrchových vodách zvyšují jejich trofii – úživnost. V této souvislosti lze hovořit o „zamoření živinami“ – eutrofizaci. (MC GOWAN et al., 1999).

Proces eutrofizace je jedním z významných dílčích problémů znečišťování a zatěžování stojatých a tekoucích vod podmíněného civilizací.

Eutrofizace vod je složitý proces neustálého obohacování vod minerálními živými látkami a tím zapříčiněné rostoucí intenzity biologických pochodů, které vedou především k tvorbě nežádoucích monokultur a intenzivnímu zarůstání vodního tělesa, a jehož následky jsou většinou pro zasažený biotop katastrofální. Jako příčina eutrofizace je obecně označováno zvýšení přísunu živných látek z různých zdrojů lidské činnosti a hlavní úloha je v tomto souboru látek přisuzována fosforu a dusíku (ŠTĚPÁNEK et al., ČERVENKA, 1974).

Podle Evropské agentury pro životní prostředí jsou hlavním zdrojem dusíkatých polutantů splachy ze zemědělsky využívané půdy, zatímco na znečištění prostředí fosforem se podílí hlavně průmysl a domácnosti (detergenty na bázi fosforu).

Eutrofizace ovlivňuje hlavně dostupnost kyslíku. Za denního světla produkují rostliny díky fotosyntéze kyslík a naopak v noci všechny rostliny a zvířata, ale také aerobní mikroorganismy a rozkládající se organické látky kyslík spotřebovávají. Tyto dva navzájem soutěžící procesy závisí na vývoji biomasy. Jestliže dojde k velkému nahromadění biomasy, je veškerý dostupný kyslík spotřebován na oxidaci organické hmoty, která se vytvořila v sedimentu na dně vodního tělesa. Voda je tak postupně zbavena kyslíku a mizí z ní veškerý aerobní život.

V průběhu eutrofizace makroskopické řasy, fytoplankton a sinice, které jsou závislé na přísunu živin, světla, teplotě a pohybu vody, počnou bujet. Je důležité si uvědomit, že některé z těchto organismů mohou do vody uvolňovat toxiny nebo toxiny mohou obsahovat přímo ve svých tělech.

Pokud dojde k eutrofizaci, jsou změny v zooplanktonu, populaci ryb, měkkýšů a koryšů nejdříve pozorovatelné. Tyto organismy jsou velice citlivé na dostupnost

kyslíku a při jeho nedostatku hynou nebo odumírají v důsledku změn v chemickém složení vody (VOLTERRA, 2002).

## 4 Metodika

Testy toxicity na žábřonožkách (*Artemia salina*), perloočkách (*Daphnia magna*), rybách (*Poecilia reticulata*) a řasách (*Desmodesmus subspicatus*) jsem prováděla v Ekotoxikologické laboratoři firmy Empla spol. s r.o. v Hradci Králové.

### 4.1 Příprava pH řady

Pro zjištění optimálního pH pro žábřonožky v kontrolních měřeních jsem testovala pH řadu s hodnotami od 3 do 12.

Připravená slaná voda měla pH 7,70, které bylo za pomoci kyseliny chlorovodíkové snižováno a hydroxidem sodným zvyšováno. Pro testování byly zvoleny hodnoty pH odpovídající celočíselným hodnotám z intervalu 3 – 12 (viz Tab. č. 4). Pro každou hodnotu pH jsem použila tři Petriho misky po deseti kusech žábřonožek.

### 4.2 Test akutní toxicity na žábřonožkách

(*Artemia salina*)

Test akutní toxicity na žábřonožkách se v současné době neopírá o žádnou legislativu. Při testování jsem se opírala o postup popsany KOČÍM et al. (2001).

Vakuově balená vajíčka Artemií Sanders Premium, která pochází z Velkého slaného jezera v Utahu, jsem objednala ve specializované prodejně. Po otevření jsem cysty skladovala v uzavřeném igelitovém sáčku uloženém v lednici. Aby bylo možno vajíčka opětovně použít, nesmí se do nich dostat voda ani vzdušná vlhkost.

Na líhnutí artemií postačí běžná vodovodní voda s přídavkem NaCl v dávce 25 gramů na 1 litr vody. Teplotu jsem zvolila v rozmezí od 22 do 25 °C, pH jsem upravovala přidáním NaOH na hodnotu 8 - 9.

Do kádinky se slanou vodou a vajíčky artemií jsem zavedla hrubé vzduchování tak, aby se celý obsah láhve pohyboval. Na vylíhnutí nauplií žábřonožky postačí 24 hodin. Takto připravené organizmy se mohou ihned použít do testu.

Při testování jsem postupovala stejně, jako je to předepsáno pro testy akutní toxicity na dafniích (viz kapitola 4.3).



10 ks čerstvě vylíhnutých naupliových stádií jsem umístila do Petriho misek o průměru 60 mm při celkovém objemu slané vody 5 ml (včetně vzorku). Při testování jsem použila pro každou koncentraci více paralelních měření. Vzhledem k dostatečné ploše hladiny bylo možné misky zakrýt víčkem a nebyla nutná aerace.

Po 24h intervalech jsem počítala živé jedince, mrtvé jsem nemusela odstraňovat, nerozpadnou se dříve, než za 10 dní. DVORŽÁK et ŠUCMAN (2001) dokládají, že uhynulí jedinci další průběh pokusu neovlivní.

#### Materiál a pomůcky:

Testovací organizmus: *Artemia salina*, ve stáří 24 hodin

Ředící voda: vodovodní voda s přídavkem NaCl ( $25\text{g.l}^{-1}$ )

Pomůcky a zařízení: pHmetr, analytické váhy, odměrné baňky, pipety, skleněné nálevky, kádinka (100ml), Pasteurova pipeta, Petriho misky (průměr 60 mm), zvětšovací sklo se světlem

Testovací aparatura: termostat s osvětlením

#### Podmínky testu:

Teplota:  $22 \pm 2^\circ\text{C}$

Délka expozice: 48 hodin

Objem lázně: 5 ml

Počet testovacích organizmů na jednu lázeň: 10 kusů

Bez krmení

Bez aerace

Osvětlení 24 hodin denně

### 4.3 Test akutní toxicity na perloočkách

(*Daphnia Magna* Straus)

Metoda prováděných testů vychází z vyhlášky č. 389/2005 Sb. a ČSN EN ISO 6341 (1997).

Testy toxicity na chemických látkách (prací prostředky) byly prováděny v několika stupních:

Limitní test: Cílem této zkoušky je prokázat, že  $EC_{50}$  je vyšší než koncentrace  $100 \text{ mg.l}^{-1}$  (viz R věty). Do třech testovacích nádob s touto koncentrací jsem nasadila po 10 kusech dafnií. Stejně množství organismů jsem použila do kontrolních nádob s čistou ředící vodou (složení ředící vody: viz Materiál a pomůcky).

Pokud po 48 hodinách dopadne test negativně (imobilizace nepřesáhne 30%), není nutné dále testovat.

V případě pozitivního výsledku je dalším krokem test předběžný.

Předběžný test: Touto zkouškou jsem stanovila procento imobilizovaných jedinců v různých koncentracích o širokém rozpětí. Zvolila jsem pět koncentrací a pro každou jsem použila dvě testovací kádinky (100ml) po 10 kusech dafnií.

Nejprve jsem si připravila zásobní roztok o koncentraci 1g testované látky na litr destilované vody, který jsem dále ředila.

Do 100 ml odměrných baněk jsem pipetou nadávkovala potřebné množství zásobního roztoku tak, aby bylo dosaženo zvolené koncentrace. Baňky jsem doplnila ředící vodou po rysku a obsah jednotlivých baněk jsem opatrně vlila do předem připravených testovacích nádob.

Na začátku a na konci testu jsem měřila pH a rozpuštěný kyslík v jednotlivých kádinkách. Kontrolu testovacích organismů jsem prováděla v časových úsecích 24 a 48 hodin. Zaznamenávala jsem počet imobilizovaných a uhynulých jedinců.

Základní test: sestával z koncentrací testované látky v rozmezí stanoveném na základě výsledků předběžného testu. Dále jsem postupovala stejným způsobem jako u předběžné zkoušky.

Materiál a pomůcky:

Testovací organismus: *Daphnia magna*, ve stáří 24 hodin

Ředící voda: normalizovaným postupem připravený roztok solí v deionizované vodě:

zásobní roztok č. 1 –  $117,6 \text{ g.l}^{-1} \text{ CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

zásobní roztok č. 2 –  $49,3 \text{ g.l}^{-1} \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

zásobní roztok č. 3 –  $25,9 \text{ g.l}^{-1} \text{ NaHCO}_3$

zásobní roztok č. 4 –  $2,3 \text{ g.l}^{-1} \text{ KCl}$

(z každého roztoku bylo odebráno 25 ml do 10 l deionizované vody)

Pomůcky a zařízení: pHmetr, oximetr, analytické váhy, odměrné baňky, pipety, skleněné nálevky, kádinky (100ml), Pasteurova pipeta, zvětšovací sklo se světlem

Testovací aparatura: termostat

Podmínky testu:

Teplota:  $20 \pm 2^\circ\text{C}$

Délka expozice: 48 hodin

Objem lázně: 100 ml

Počet testovacích organismů na jednu lázeň: 10 kusů

Bez krmení

Bez aerace

Bez osvětlení

## 4.4 Test akutní toxicity na rybách

(*Poecilia reticulata*)

Metoda prováděných testů vychází z vyhlášky č. 389/2005 Sb. a ČSN EN ISO 7346 (1999).

Testovací postup na rybách je obdobný jako u žábřonožek a dafnií. Liší se pouze v množství nasazených jedinců, v počtu paralelních měření na jednu koncentraci a délce testů.

Limitní zkoušku jsem provedla se 7 rybami a se stejným počtem ryb v kontrole. Ryby jsem nasadila do jedné testovací láhve o koncentraci 100 mg testované látky na litr.

Předběžná zkouška čítá 3 ryby na jednu koncentraci v jedné láhvi.

Do základního testu jsem použila 7 kusů ryb na jedno ředění v jedné testovací nádobě.

Test akutní toxicity na rybách je dlouhý 96 hodin. Na začátku testu a ve 24 hodinových intervalech jsem měřila pH lázně a koncentraci rozpuštěného kyslíku. V průběhu trvání testů jsem sledovala a zaznamenávala mortalitu a chování ryb a odlovovala jsem uhynulé ryby.

### Materiál a pomůcky:

Testovací organizmus: živorodka duhová (*Poecilia reticulata*), ryby použité k testům toxicity byly pohlavně diferencované, rozmezí délek těla 17 až 21 mm. Používaly se ryby v přirozeném poměru pohlaví (1:1), přičemž se ryby do jednotlivých testovacích nádob vybíraly náhodně.

Ředící voda: normalizovaným postupem připravený roztok solí v deionizované vodě:

zásobní roztok č. 1 –  $117,6 \text{ g.l}^{-1} \text{ CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

zásobní roztok č. 2 –  $49,3 \text{ g.l}^{-1} \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

zásobní roztok č. 3 –  $25,9 \text{ g.l}^{-1} \text{ NaHCO}_3$

zásobní roztok č. 4 –  $2,3 \text{ g.l}^{-1} \text{ KCl}$

(z každého roztoku bylo odebráno 25 ml do 10 l deionizované vody)

Pomůcky a zařízení: pHmetr, oximetr, analytické váhy, odměrné baňky, pipety, skleněné nálevky, kádinky, sítky a pomůcky pro odlov a přenášení ryb, potravinářské sklenice

Testovací aparatura: termostat s osvětlením

Podmínky testu:

Teplota:  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$

Délka expozice: 96 hodin

Objem lázně: 1000 ml

Osvětlení: 12 hodin denně

Počet testovacích organismů: 7 kusů v limitním testu, 21 kusů v ověřovacím testu, 3 kusy v jedné koncentraci v předběžném testu, 10 kusů v jedné koncentraci v základním testu

Bez krmení

Bez aerace

## 4.5 Test akutní toxicity na řasách

(*Desmodesmus subspicatus* Chodat)

Metoda prováděných testů vychází z vyhlášky č. 389/2005 Sb. a ČSN EN ISO 8692 (2005).

U testování na řasách jsem postupovala jako u ostatních testů toxicity: limitní, předběžný a základní test.

Vzorky o různých koncentracích jsem nasazovala v množství 25 ml do Erlenmayerových baněk. Důležitým krokem pro růst řas je přidání 2,5 ml zásobního roztoku živin. Nakonec jsem pipetou přidala vypočítané množství inokula připravené řasy. Požadovaná počáteční koncentrace řasové suspenze je 10 000 buněk na 1 ml roztoku. Baňky jsem uzavřela zátkami propouštějícími vzduch a nechala kultivovat v biologickém termoluminostatu při teplotě v rozmezí od 21 do 25°C. Mimo testu s různými koncentracemi testované položky je třeba provést za stejných podmínek i kontrolní test. Kontrolní roztok (směs deionizované vody, živin, řasových buněk) neobsahuje testovanou položku.

Hustotu buněk jsem počítala každých 24 hodin v Bürkerově komůrce pod mikroskopem. Test trvá 72 hodin. Na začátku a na konci testu jsem měřila pH. Výsledkem je 72hIC50 (inhibice nebo stimulace).

Počítání řas v Bürkerově komůrce: Počítala jsem řasy v 50 velkých čtvercích Bürkerovy komůrky a výslednou hodnotu jsem násobila číslem 5000 (přepočtení koeficient počtu buněk na hustotu buněk). Tím jsem získala počet buněk v 1 ml řasové suspenze.

Výpočet potřebného objemu inokula:

Množství inokula  $x$  přidaného k testovanému roztoku  $V$  se vypočte dle níže uvedeného vztahu:

$$x = V \cdot c / a$$

kde,

$x$  je potřebný objem inokula v ml

$c$  je požadovaná hustota řasové kultury na začátku testu (počet buněk v 1 ml)

$V$  je množství testovaného roztoku v ml

$a$  je hustota inokulační kultury (počet buněk v 1 ml)

### Materiál a pomůcky:

Testovací organismus: zelená řasa *Desmodesmus subspicatus*

Deionizovaná voda

- Zásobní roztok živin: č. 1: 1,5 g.l<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>Cl  
1,2 g.l<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O  
1,8 g.l<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O  
1,5 g.l<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O  
0,16 g.l<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- č. 2: 64 mg.l<sup>-1</sup> FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O  
100 mg.l<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>EDTA · 2H<sub>2</sub>O
- č. 3: 185 mg.l<sup>-1</sup> H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>  
415 mg.l<sup>-1</sup> MnCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O  
3 mg.l<sup>-1</sup> ZnCl<sub>2</sub>  
1,5 mg.l<sup>-1</sup> CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O  
7 mg.l<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O  
0,01 mg.l<sup>-1</sup> CuCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O
- č. 4: 50 g.l<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub>

Pomůcky a zařízení: pHmetr, analytické váhy, odměrné baňky, pipety, skleněné nálevky, Erlenmayerovy baňky (50 ml), mikroskop, Bürkerova komůrka

Testovací aparatura: termoluminostat

### Podmínky testu:

Teplota: 21 - 25°C

Délka expozice: 72 hodin

Osvětlení: rovnoměrně 24 hodin denně

Světelná intenzita: 6000 – 10 000 lx

Intenzita míchání kultivačních baněk s testovacími roztoky: 4x denně (mícháním a protřepáváním se řasové buňky udržují v suspenzi, čímž se zlepšuje výměna plynů a zmenšují se změny pH testovaných roztoků)

## 4.6 Vyhodnocování výsledků

Výsledky testů jsem vyhodnocovala pomocí počítačového programu EKO – TOX 5.2. Pomocí tohoto programu se ze závislosti imobilizace v % na koncentraci testované položky vyhodnotí střední účinná koncentrace, při které dochází k 50 % úhynu (imobilizaci, inhibici) testovacích organismů. Výpočet probíhá probitovou analýzou.

Výsledky jsem vyjadřovala v mg/l a zaokrouhlovala na jedno desetinné místo.

## 4.7 Vzorky

Tab. č. 3: Vzorky používané při testování

Číslo vzorku	Popis vzorku
vzorek č. 1	Dichroman draselný
vzorek č. 2	Prací prostředek - modrý gel
vzorek č. 3	Prací prostředek - modrý gel
vzorek č. 4	Prací prostředek - bílý prášek
vzorek č. 5	Prací prostředek - bílý prášek s barevnými granulemi
vzorek č. 6	Prací prostředek - modrý gel
vzorek č. 7	Prací prostředek - modrý gel
vzorek č. 8	Prací prostředek - bílý prášek
vzorek č. 9	Prací prostředek - bílý prášek s barevnými granulemi
vzorek č. 10	Přípravek na ochranu rostlin – herbicid SENCOR 70 WG
vzorek č. 11	Přípravek na ochranu rostlin – herbicid CLICK 500 SC
vzorek č. 12	Přípravek na ochranu rostlin – herbicid DUAL GOLD 960 EC
vzorek č. 13	Přípravek na ochranu rostlin – insekticid CALYPSO 480 SC
vzorek č. 14	Hnojivo - MOČOVINA
vzorek č. 15	Hnojivo – LEDEK AMONNÝ S DOLOMITEM
vzorek č. 16	Hnojivo – BOROSAN Forte
vzorek č. 17	Hnojivo - DAM
vzorek č. 18	Hnojivo – WUXAL SUS Kombi Mg



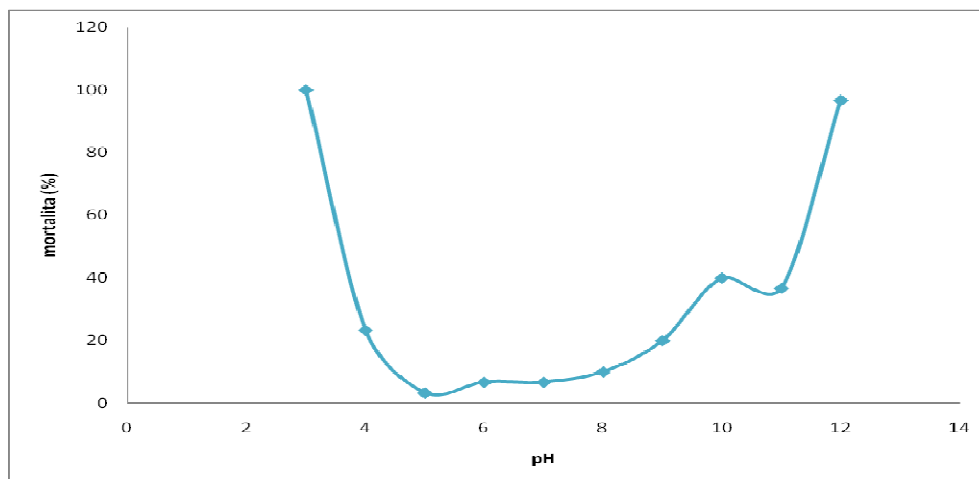
## 5 Výsledky práce

### 5.1 Vliv pH na úmrtnost žábřonožek

Pro zjištění vlivu pH na úmrtnost žábřonožek jsem zvolila rozmezí hodnot pH od 3 do 12. Výsledky testování jsou uvedeny v tabulce 4.

Tab. č. 4: Test pH na *Artemia salina*

pH	ÚHYN po 48 h.			%
	1	2	3	
3	10	10	10	100
4	6	0	1	23,3
5	0	0	1	3,3
6	2	0	0	6,7
7	0	1	1	6,7
8	2	0	1	10
9	2	1	3	20
10	4	6	2	40
11	2	7	2	36,7
12	10	9	10	96,7



Obr. č. 7: Graf závislosti mortality žábřonožek na pH

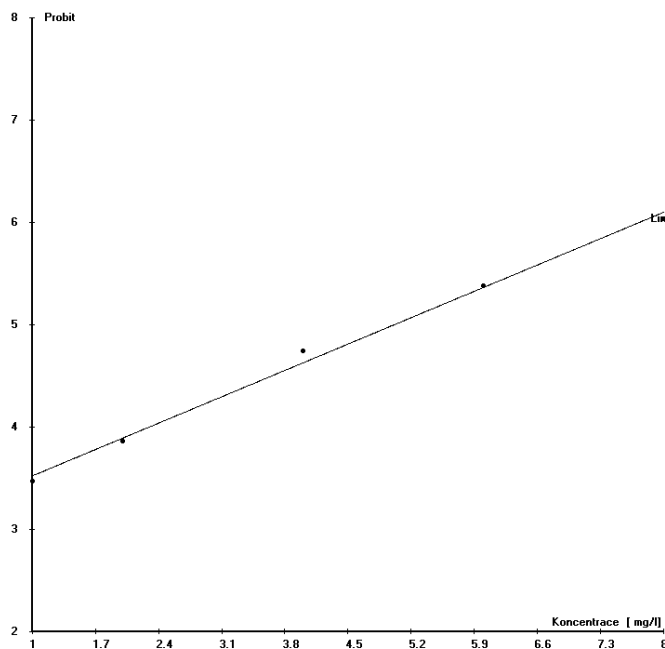
## 5.2 Test na standardním toxikantu s *Artemia salina* (vzorek č. 1)

Standardním toxikantem pro testy akutní toxicity na dafniích, rybách a řasách je dichroman draselný. Pro možnost srovnání jsem stejnou látku použila i na žábřonožkách.

Tab. č. 5: I. Základní test s  $K_2Cr_2O_7$  (vzorek č.1) – *A. salina*

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
8,0	0,903	40	34	85	5,60
6,0	0,778	40	26	65	5,06
4,0	0,602	40	16	40	4,40
2,5	0,398	40	5	12,5	0
1,0	0	40	3	7,5	0
kontrola	-	40	5	12,5	-

**48h EC 50 = 5,0 mg/l**

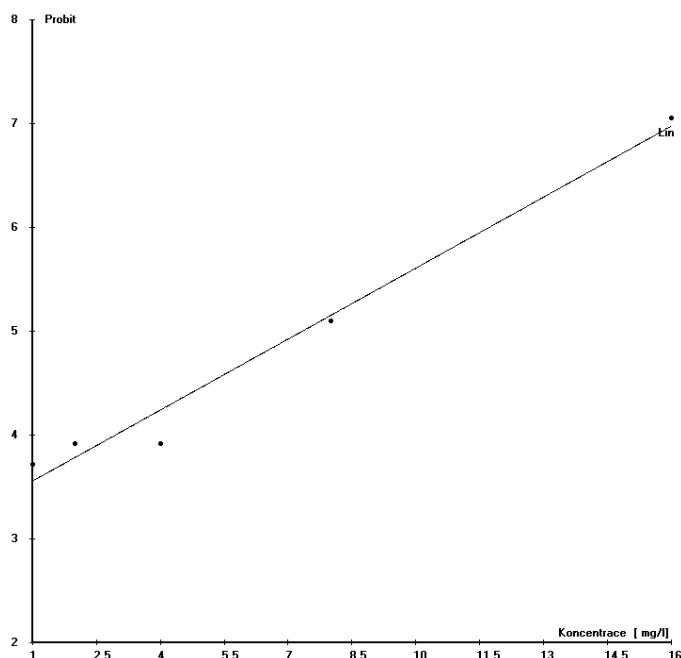


Obr. č. 8: I. Základní test s  $K_2Cr_2O_7$  – *A. salina*

Tab. č. 6: II. Základní test s  $K_2Cr_2O_7$  (vzorek č. 1) – *A. salina*

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
16,0	1,204	50	49	98	5,99
8,0	0,903	50	27	54	4,75
4,0	0,602	50	7	14	0
2,0	0,301	50	7	14	0
1,0	0	50	5	10	0
kontrola	-	50	7	14	-

**48h EC 50 = 11,8 mg/l**



Obr. č. 9: II. Základní test s  $K_2Cr_2O_7$  – *A. salina*

Tab. č. 7: Odezva ostatních organismů na  $K_2Cr_2O_7$

Testovací organismus	Výsledné hodnoty	Srovnávací hodnoty
<i>Daphnia magna</i>	24h EC 50 = 1,2 mg.l <sup>-1</sup> 48h EC 50 = 0,4 mg.l <sup>-1</sup>	24h EC 50 = 0,6 – 1,7 mg.l <sup>-1</sup>
<i>Poecilia reticulata</i>	96h LC 50 = 151 mg.l <sup>-1</sup>	96h LC 50 = 75 - 160 mg.l <sup>-1</sup>
<i>Desmodesmus subspicatus</i>	72h IC 50 = 0,8 mg.l <sup>-1</sup>	72h IC 50 = 0,6 – 1,0 mg.l <sup>-1</sup>
<i>Artemia salina</i>	∅ 48h EC 50 = = 8,1 ± 2,6 mg.l <sup>-1</sup>	

### 5.3 Testy toxicity na pracích prostředcích

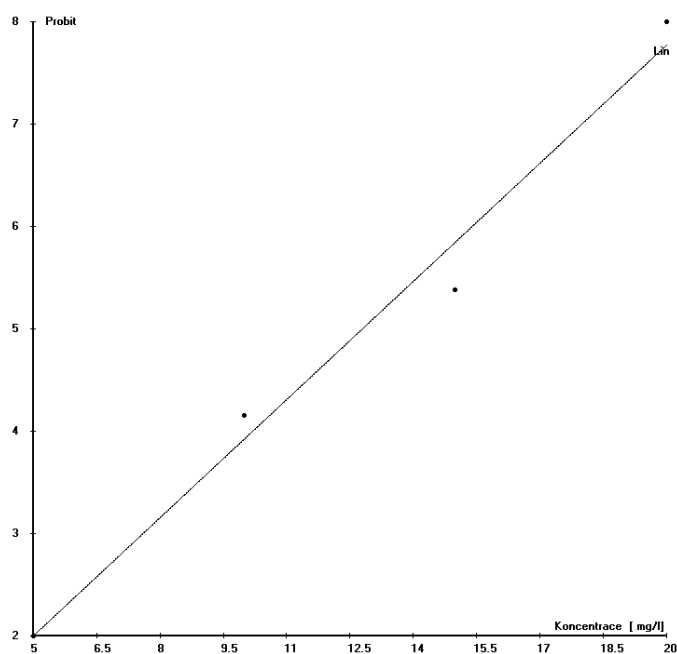
Bylo otestováno osm pracích prostředků. Průběh testů na čtyřech použitých organismech je zaznamenán v tabulkách 9 – 40.

#### 5.3.1 Vzorek č. 2 - Prací prostředek, modrý gel

Tab. č. 8: Základní test s *Artemia salina* (vzorek č. 2)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
20,0	1,301	20	20	100	7,90
15,0	1,176	20	13	65	5,39
10,0	1	20	4	20	4,16
5,0	0,699	20	0	0	0
1,0	0	20	0	0	0
kontrola	-	20	2	10	-

**48h EC 50 = 12,8 mg/l**

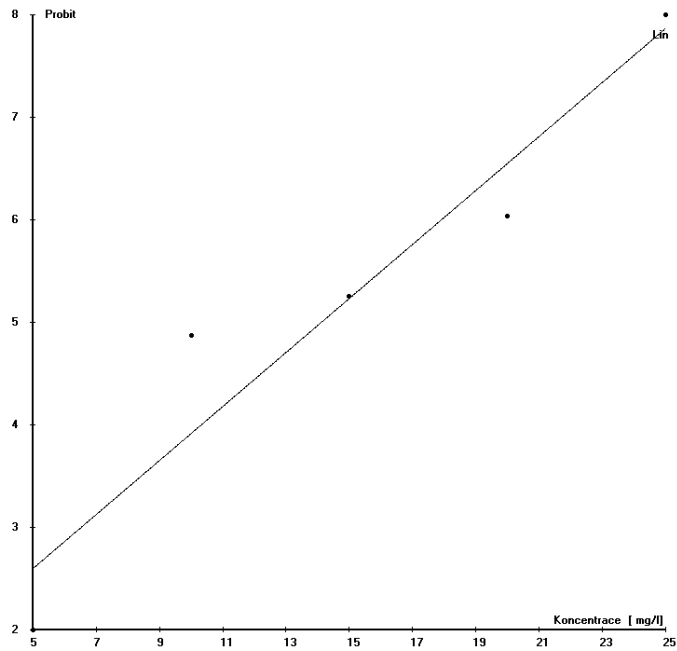


Obr. č. 10: Základní test s *Artemia salina* (vzorek č. 2)

Tab. č. 9: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 2)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
25,0	1,398	20	20	100	7,90
20,0	1,301	20	17	85	6,04
15,0	1,176	20	12	60	5,25
10,0	1	20	9	45	4,87
5,0	0,699	20	0	0	0
kontrola	-	20	0	0	-

**48h EC 50 = 14,1 mg/l**

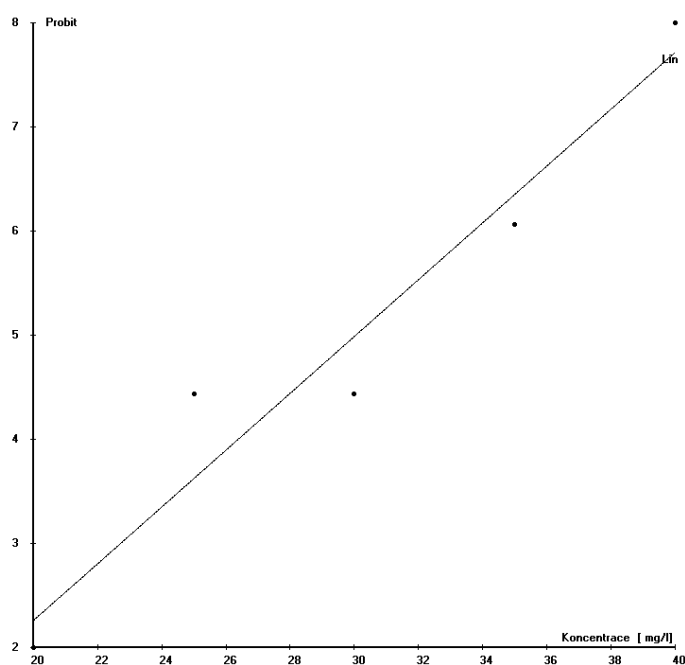


Obr. č. 11: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 2)

Tab. č. 10: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 2)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
40,0	1,602	7	7	100	7,90
35,0	1,544	7	6	85,7	6,08
30,0	1,477	7	2	28,6	4,45
25,0	1,398	7	2	28,6	4,45
20,0	1,301	7	0	0	0
kontrola	-	7	0	0	-

**96h LC 50 = 30,0 mg/l**

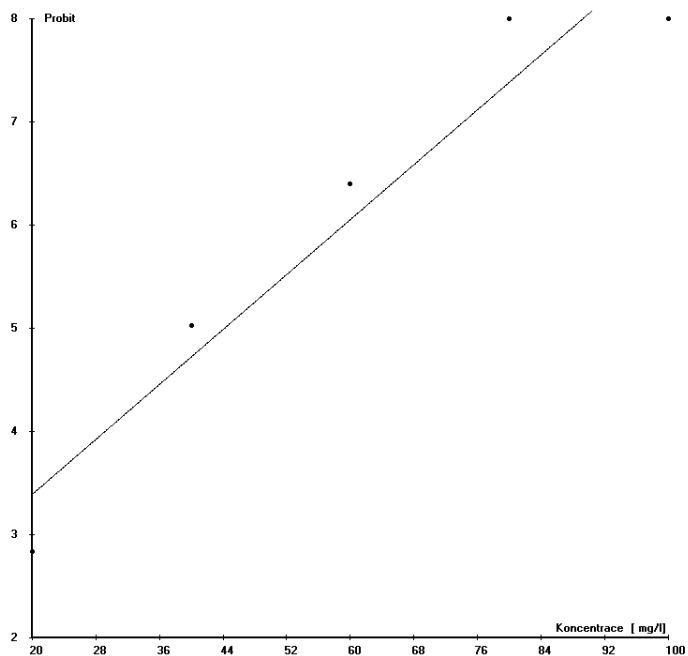


Obr. č. 12: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 2)

Tab. č. 11: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 2)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	100
80	1,903	100
60	1,778	91,9
40	1,602	51,3
20	1,301	1,5
kontrola	-	-

**72h IC 50 = 44,2 mg/l**



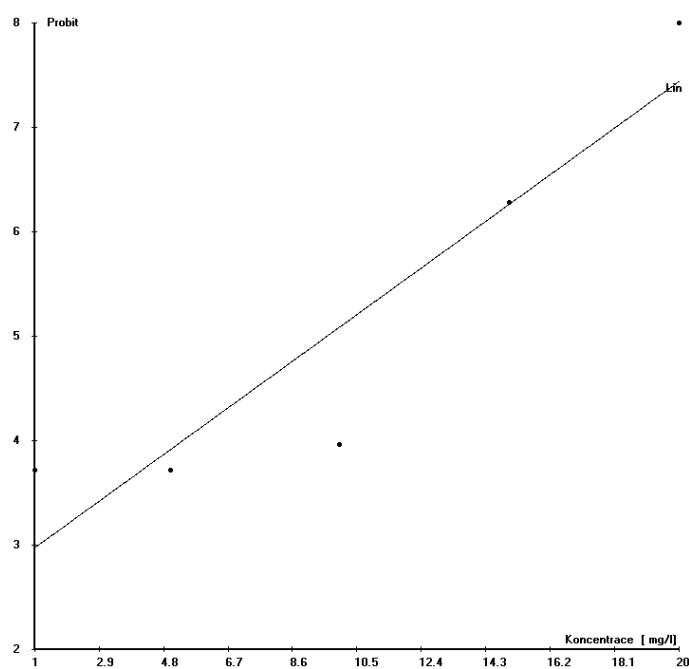
Obr. č. 13: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 2)

### 5.3.2 Vzorek č. 3 - Prací prostředek, modrý gel

Tab. č. 12: Základní test s *Artemia salina* (vzorek č. 3)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
20,0	1,301	20	20	100	7,90
15,0	1,176	20	18	90	6,28
10,0	1	20	3	15	3,96
5,0	0,699	20	2	10	3,72
1,0	0	20	2	10	3,72
kontrola	-	20	2	10	-

**48h EC 50 = 9,6 mg/l**



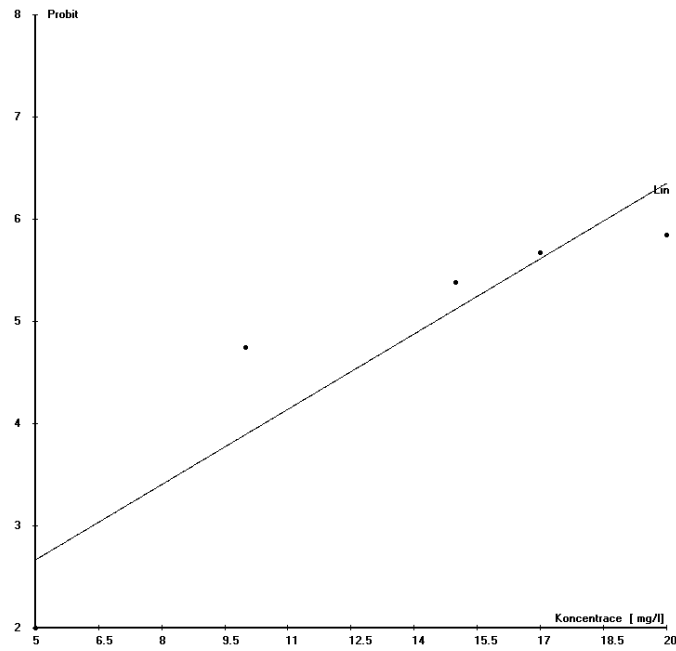
Obr. č. 14: Základní test s *Artemia salina* (vzorek č. 3)



Tab. č. 13: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 3)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
20,0	1,301	20	16	80	5,84
17,0	1,230	20	15	75	5,67
15,0	1,176	20	13	65	5,39
10,0	1	20	8	40	4,75
5,0	0,699	20	0	0	0
kontrola	-	20	0	0	-

**48h EC 50 = 14,5 mg/l**

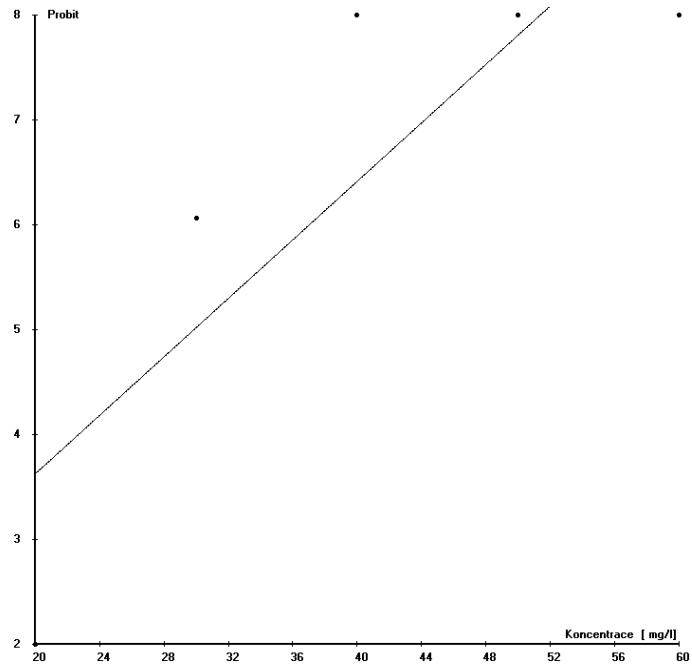


Obr. č. 15: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 3)

Tab. č. 14: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 3)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
60,0	1,778	7	7	100	7,90
50,0	1,699	7	7	100	7,90
40,0	1,602	7	7	100	7,90
30,0	1,477	7	6	85,7	6,08
20,0	1,301	7	0	0	0
kontrola	-	7	0	0	-

**96h LC 50 = 29,9 mg/l**

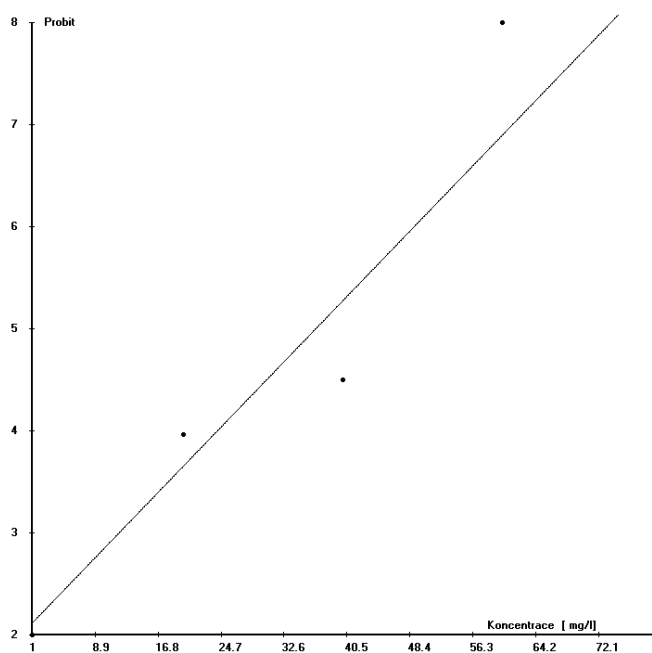


Obr. č. 16: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 3)

Tab. č. 15: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 3)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
80	1,903	100
60	1,778	100
40	1,602	30,9
20	1,301	14,9
1	0	-4,8
kontrola	-	-

**72h IC 50 = 36,6 mg/l**



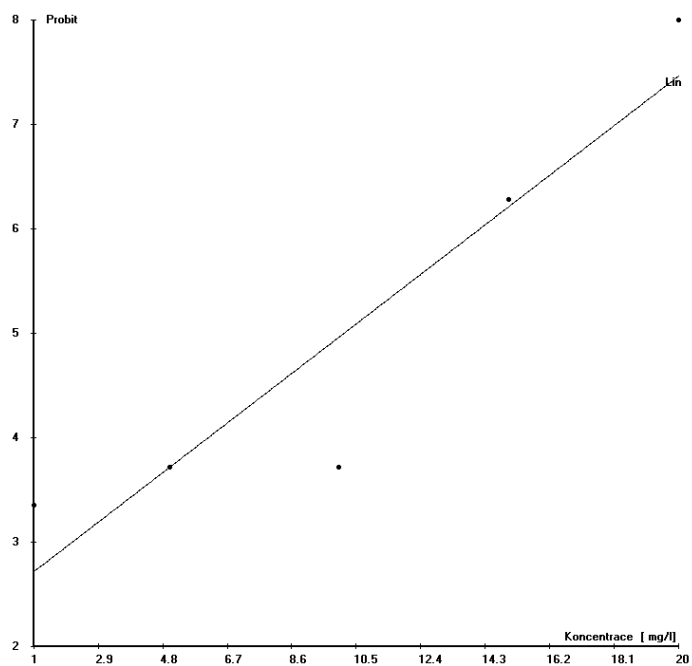
Obr. č. 17: Základní test s *Desmodemus subspicatus* (vzorek č. 3)

### 5.3.3 Vzorek č. 4 - Prací prostředek, bílý prášek

Tab. č. 16: Základní test s *Artemia salina* (vzorek č. 4)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
20,0	1,301	20	20	100	7,90
15,0	1,176	20	18	90	6,28
10,0	1	20	2	10	3,72
5,0	0,699	20	2	10	3,72
1,0	0	20	1	5	3,36
kontrola	-	20	1	5	-

**48h EC 50 = 10,1 mg/l**

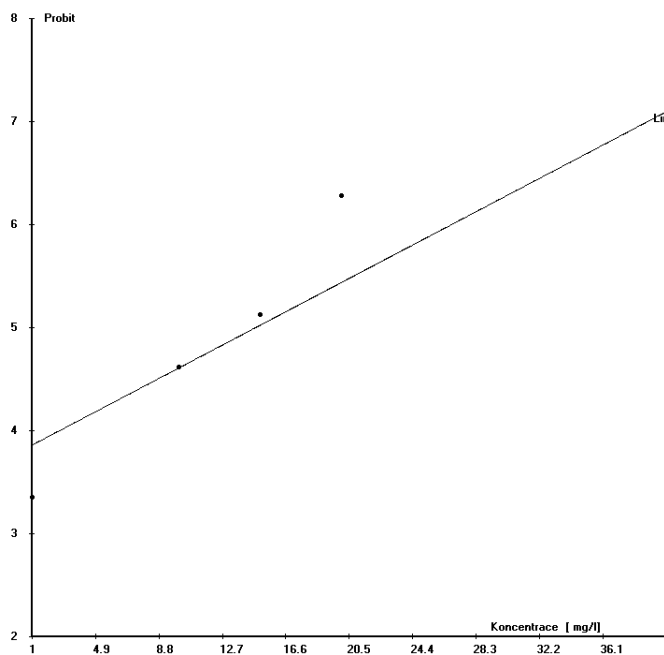


Obr. č. 18: Základní test s *Artemia salina* (vzorek č. 4)

Tab. č. 17: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 4)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
40,0	1,602	20	19	95	6,65
20,0	1,301	20	18	90	6,28
15,0	1,176	20	11	55	5,13
10,0	1	20	7	35	4,62
1,0	0	20	1	5	3,36
kontrola	-	20	0	0	-

**48h EC 50 = 14,7 mg/l**

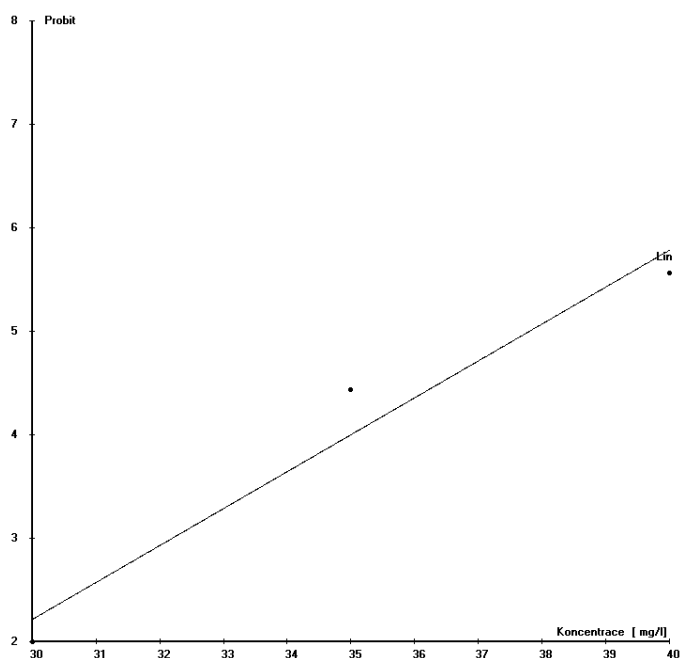


Obr. č. 19: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 4)

Tab. č. 18: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 4)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
40,0	1,602	7	5	71,4	5,55
35,0	1,544	7	2	28,6	4,45
30,0	1,477	7	0	0	0
25,0	1,398	7	0	0	0
20,0	1,301	7	0	0	0
kontrola	-	7	0	0	-

**96h LC 50 = 37,8 mg/l**

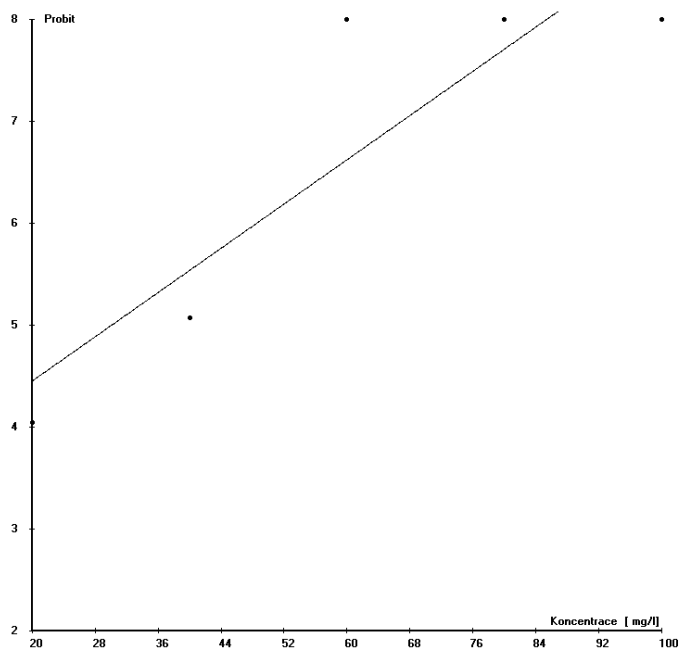


Obr. č. 20: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 4)

Tab. č. 19: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 4)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	100
80	1,903	100
60	1,778	100
40	1,602	52,8
20	1,301	16,9
kontrola	-	-

**72h IC 50 = 30,1 mg/l**



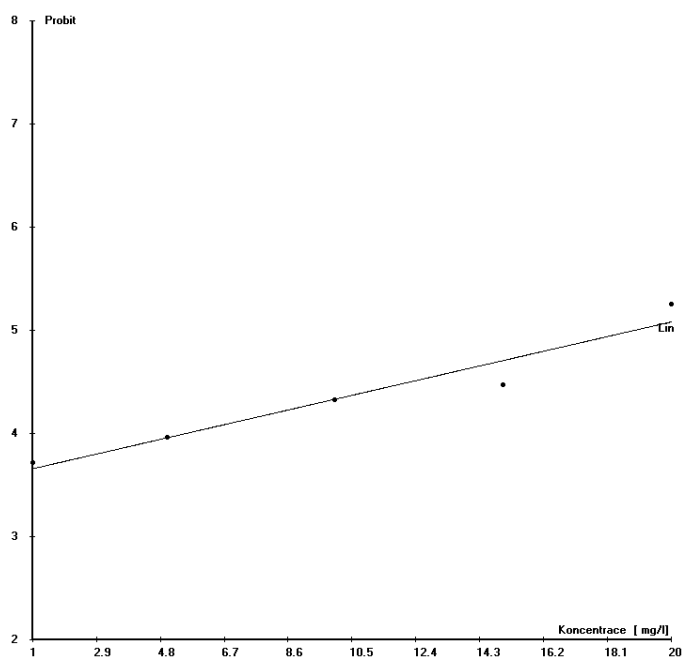
Obr. č. 21: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 4)

### 5.3.4 Vzorek č. 5 - Prací prostředek, bílý prášek s barevnými granulemi

Tab. č. 20: Základní test s *Artemia salina* (vzorek č. 5)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
20,0	1,301	20	12	60	5,25
15,0	1,176	20	6	30	4,48
10,0	1	20	5	25	4,33
5,0	0,699	20	3	15	3,96
1,0	0	20	2	10	3,72
kontrola	-	20	2	10	-

**48h EC 50 = 18,9 mg/l**



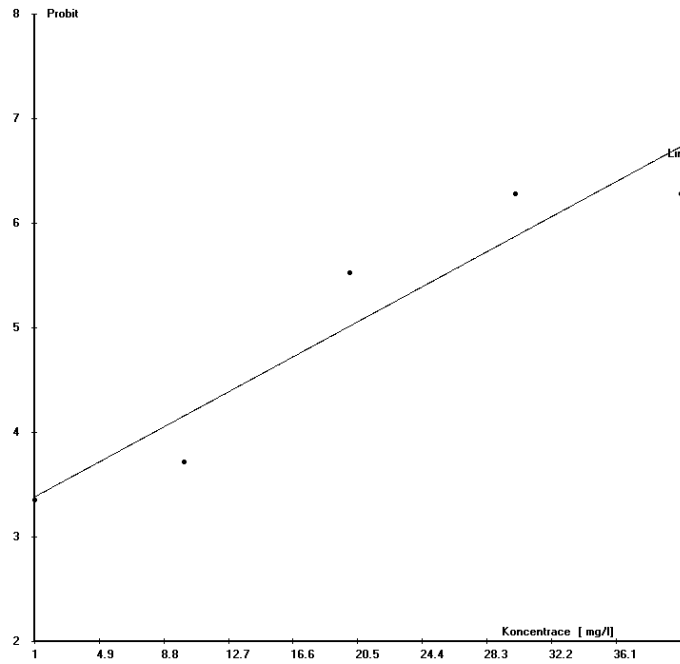
Obr. č. 22: Základní test s *Artemia salina* (vzorek č. 5)



Tab. č. 21: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 5)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
40,0	1,602	20	18	90	6,28
30,0	1,477	20	18	90	6,28
20,0	1,301	20	14	70	5,52
10,0	1	20	2	10	3,72
1,0	0	20	1	5	3,36
kontrola	-	20	0	0	-

**48h EC 50 = 19,8 mg/l**

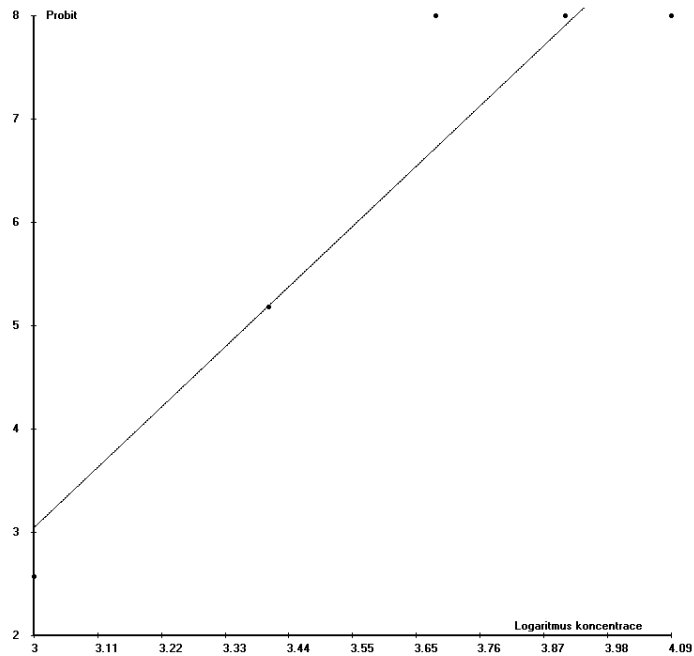


Obr. č. 23: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 5)

Tab. č. 22: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 5)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
60,0	1,778	7	7	100	7,90
50,0	1,699	7	7	100	7,90
40,0	1,602	7	7	100	7,90
30,0	1,477	7	4	57,1	5,18
20,0	1,301	7	0	0	0
kontrola	-	7	0	0	-

**96h LC 50 = 28,9 mg/l**

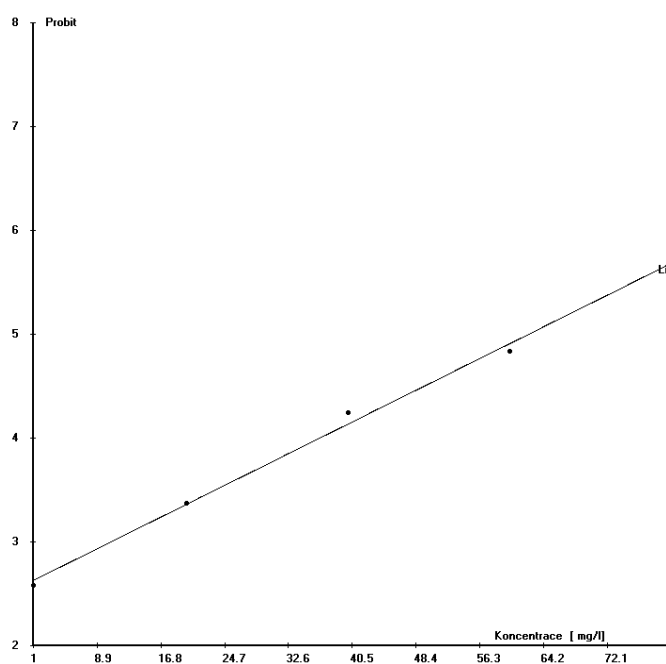


Obr. č. 24: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 5)

Tab. č. 23: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 5)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
80	1,903	75,2
60	1,778	43,4
40	1,602	22,7
20	1,301	7,1
1	0	1,0
kontrola	-	-

**72h IC 50 = 62,4 mg/l**



Obr. č. 25: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 5)

### 5.3.5 Vzorek č. 6 - prací prostředek, modrý gel

Tab. č. 24: Limitní test s *Artemia salina* (vzorek č. 6)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	3	10
kontrola	30	2	6,7

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 25: Limitní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 6)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	0	0
kontrola	30	0	0

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 26: Limitní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 6)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	21	0	0
kontrola	21	0	0

**96h LC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 27: Limitní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 6)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	-0,36 (stimulace)
kontrola	-	-

**72h IC 50 > 100 mg/l**

### 5.3.6 Vzorek č. 7 - prací prostředek, modrý gel

Tab. č. 28: Limitní test s *Artemia salina* (vzorek č. 7)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	4	13,3
kontrola	30	2	6,7

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 29: Limitní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 7)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	0	0
kontrola	30	0	0

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 30: Limitní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 7)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	21	0	0
kontrola	21	0	0

**96h LC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 31: Limitní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 7)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	-1,41 (stimulace)
kontrola	-	-

**72h IC 50 > 100 mg/l**

### 5.3.7 Vzorek č. 8 - Prací prostředek, bílý prášek

Tab. č. 32: Limitní test s *Artemia salina* (vzorek č. 8)

Koncentrace testované látky (c) mg/l	Počet nasazených org. ks	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
100,0	30	5	16,7
kontrola	30	2	6,7

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 33: Limitní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 8)

Koncentrace testované látky (c) mg/l	Počet nasazených org. ks	Imobilizace testovacích org. za 48 h	
		ks	%
100,0	30	0	0
kontrola	30	0	0

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 34: Limitní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 8)

Koncentrace testované látky (c) mg/l	Počet nasazených org. ks	Mortalita testovacích org. za 96 h	
		ks	%
100,0	21	0	0
kontrola	21	0	0

**96h LC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 35: Limitní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 8)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	-2,55 (stimulace)
kontrola	-	-

**72h IC 50 > 100 mg/l**

### 5.3.8 Vzorek č. 9 - Prací prostředek, bílý prášek s barevnými granulemi

Tab. č. 36: Limitní test s *Artemia salina* (vzorek č. 9)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	6	20
kontrola	30	2	6,7

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 37: Limitní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 9)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	0	0
kontrola	30	0	0

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 38: Limitní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 9)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	21	0	0
kontrola	21	0	0

**96h LC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 39: Limitní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 9)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	-2,4 (stimulace)
kontrola	-	-

**72h IC 50 > 100 mg/l**

## 5.4 Testy toxicity na pesticidech

Byla otestována čtveřice pesticidů. Průběh testů na čtyřech použitých organismech je zaznamenán v tabulkách 41 – 56.

### 5.4.1 Vzorek č. 10 – Přípravek na ochranu rostlin – herbicid SENCOR 70 WG

Tab. č. 40: Limitní test s *Artemia salina* (vzorek č. 10)

Koncentrace testované látky (c) mg/l	Počet nasazených org. ks	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
100,0	30	4	13,3
kontrola	30	1	3,3

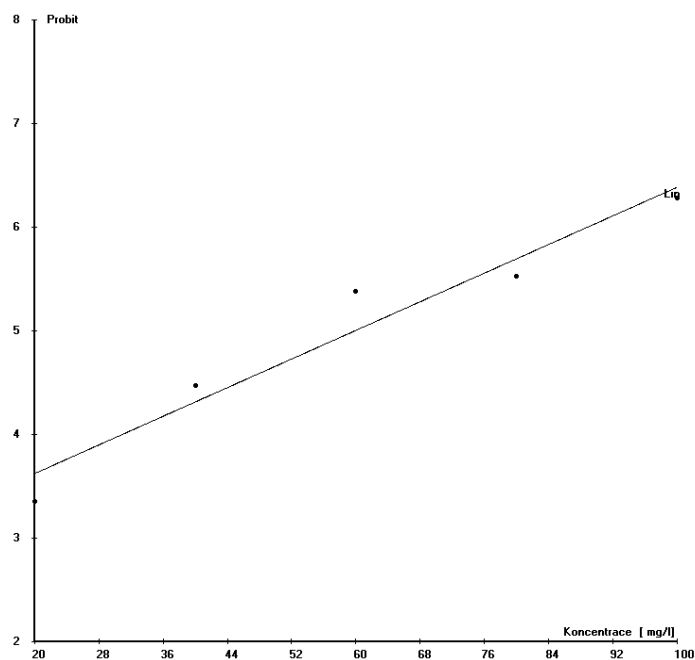
**48h EC 50 > 100 mg/l**



Tab. č. 41: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 10)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
100	2	20	18	90	6,28
80	1,903	20	14	70	5,52
60	1,778	20	13	65	5,39
40	1,602	20	6	30	4,48
20	1,301	20	1	5	0
kontrola	-	20	0	0	-

**48h EC 50 = 59,9 mg/l**

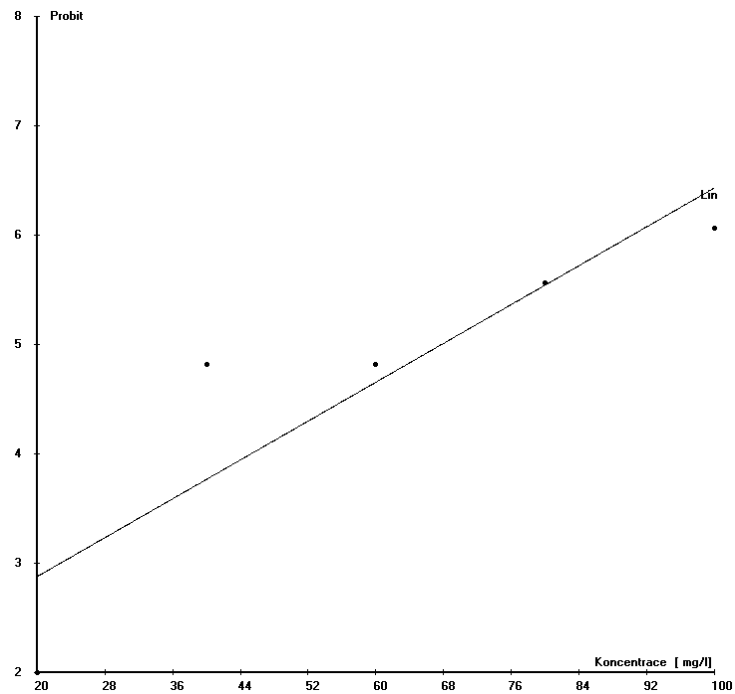


Obr. č. 26: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 10)

Tab. č. 42: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 10)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
100	2	7	6	85,7	6,08
80	1,903	7	5	71,4	5,55
60	1,778	7	3	42,9	4,82
40	1,602	7	3	42,9	4,82
20	1,301	7	0	0	0
kontrola	-	7	0	0	-

**96h LC 50 = 67,8 mg/l**

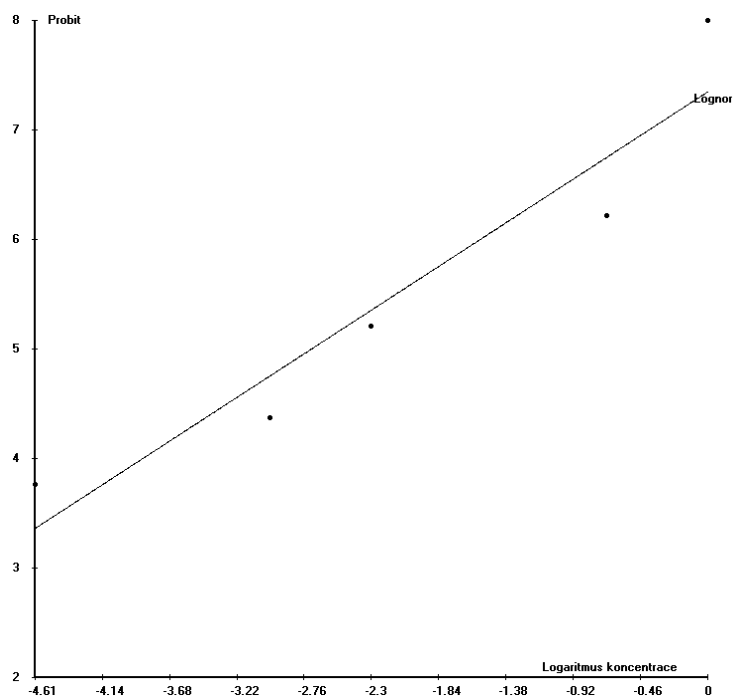


Obr. č. 27: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 10)

Tab. č. 43: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 10)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
1	0	100
0,5	-0,301	88,9
0,1	-1	58,3
0,05	-1,301	26,5
0,01	-2	10,8
kontrola	-	-

**72h IC 50 = 0,1 mg/l**



Obr. č. 28: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 10)

**5.4.2 Vzorek č. 11 – Přípravek na ochranu rostlin – herbicid  
CLICK 500 SC**

*Tab. č. 44: Limitní test s Artemia salina (vzorek č. 11)*

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	4	13,3
kontrola	30	2	6,7

**48h EC 50 > 100 mg/l**

*Tab. č. 45: Limitní test s Daphnia magna (vzorek č. 11)*

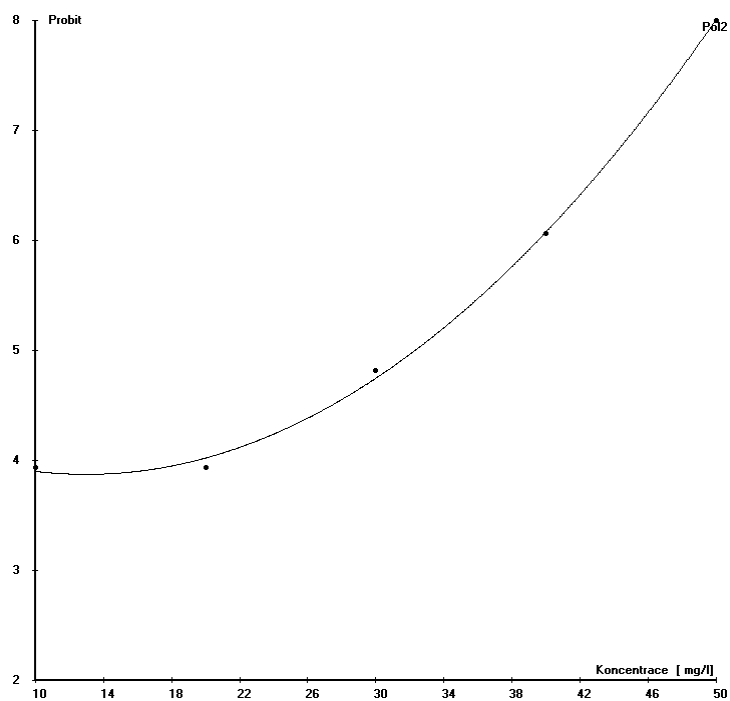
Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	0	0
kontrola	30	0	0

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 46: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 11)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
50	1,699	7	7	100	7,90
40	1,602	7	6	85,7	6,08
30	1,477	7	3	42,9	4,82
20	1,301	7	1	14,3	3,93
10	1	7	1	14,3	3,93
kontrola	-	7	0	0	-

96h LC 50 = 32,3 mg/l

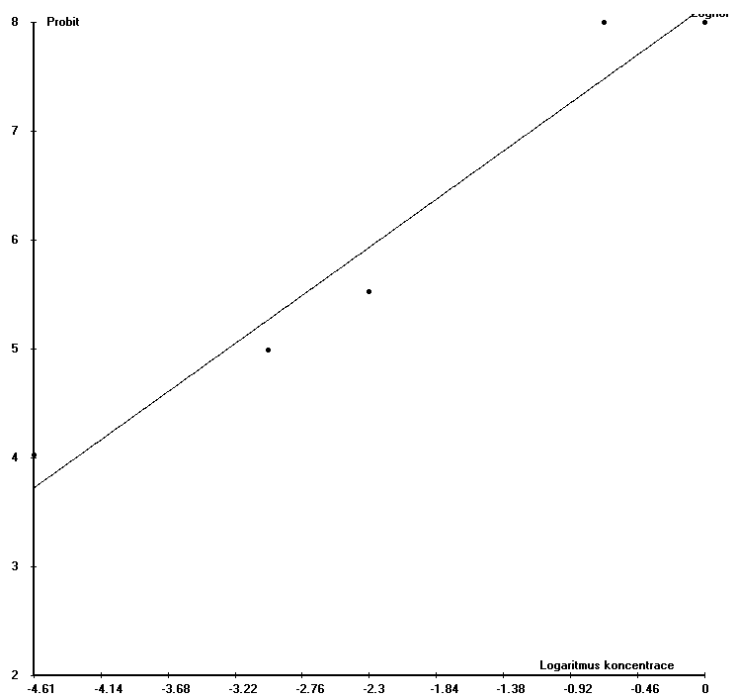


Obr. č. 29: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 11)

Tab. č. 47: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 11)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
1	0	100
0,5	-0,301	100
0,1	-1	70,1
0,05	-1,301	49,8
0,01	-2	16,6
kontrola	-	-

72h IC 50 = 0,04 mg/l



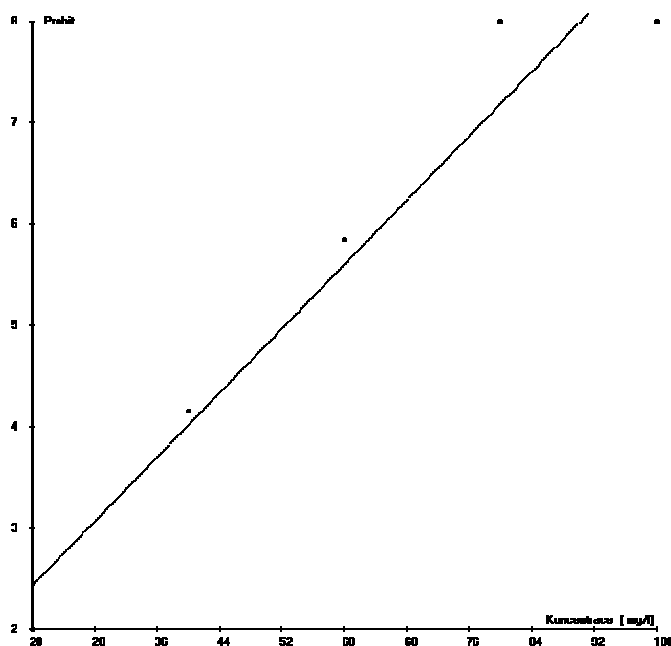
Obr. č. 30: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 11)

### 5.4.3 Vzorek č. 12 – Přípravek na ochranu rostlin – herbicid DUAL GOLD 960 EC

Tab. č. 48: Základní test s *Artemia salina* (vzorek č. 12)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
100	2	20	20	100	7,90
80	1,903	20	20	100	7,90
60	1,778	20	16	80	5,84
40	1,602	20	4	20	4,16
20	1,301	20	0	0	0
kontrola	-	20	1	5	-

**48h EC 50 = 52,4 mg/l**

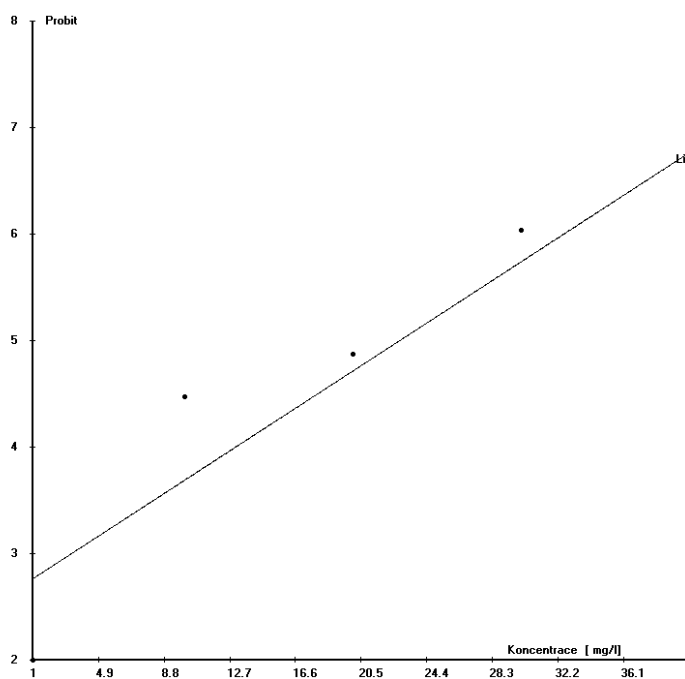


Obr. č. 31: Základní test s *Artemia salina* (vzorek č. 12)

Tab. č. 49: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 12)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
40	1,602	20	18	90	6,28
30	1,477	20	17	85	6,04
20	1,301	20	9	45	4,87
10	1	20	6	30	4,48
1	0	20	0	0	0
kontrola	-	20	0	0	-

**48h EC 50 = 22,8 mg/l**



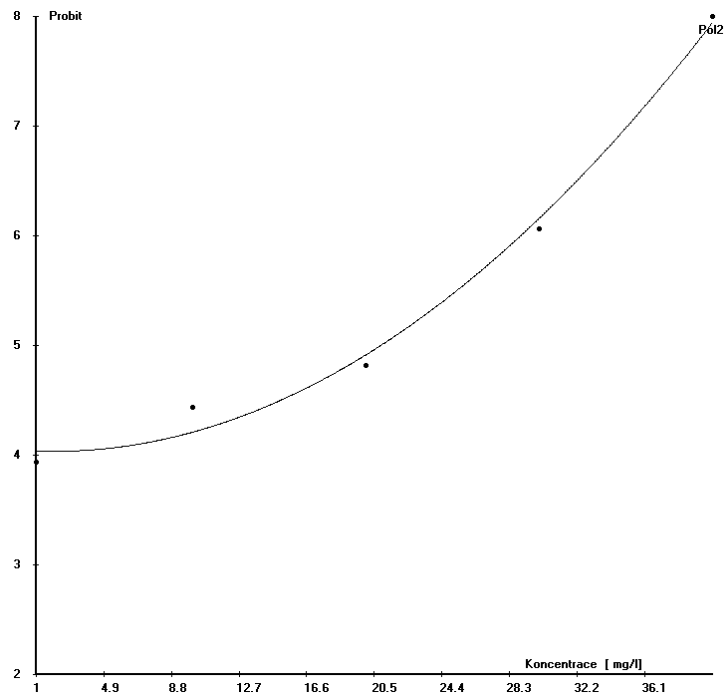
Obr. č. 32: Základní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 12)



Tab. č. 50: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 12)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
40	1,602	7	7	100	7,90
30	1,477	7	6	85,7	6,08
20	1,301	7	3	42,9	4,82
10	1	7	2	28,6	4,45
1	0	7	1	14,3	3,93
kontrola	-	7	0	0	-

**96h LC 50 = 20,8 mg/l**

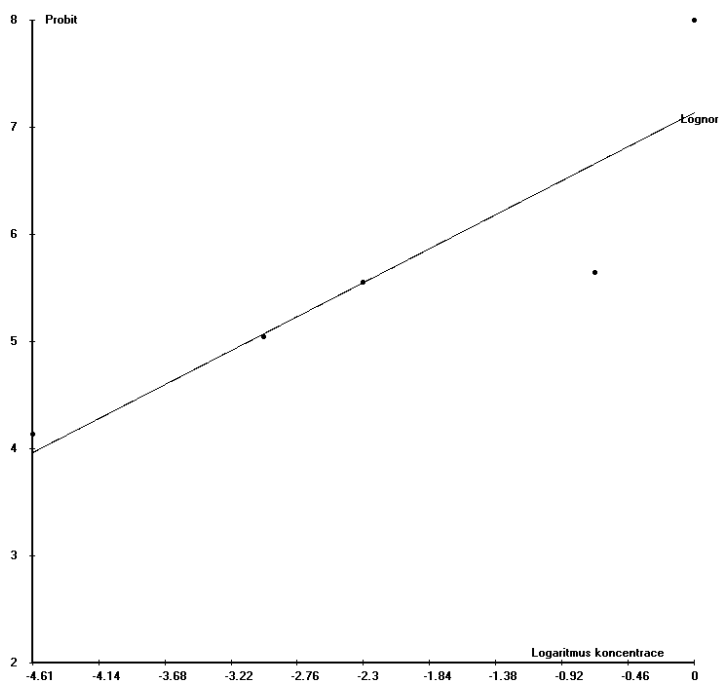


Obr. č. 33: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 12)

Tab. č. 51: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 12)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
1	0	100
0,5	-0,301	74,2
0,1	-1	71,0
0,05	-1,301	51,7
0,01	-2	19,3
kontrola	-	-

72h IC 50 = 0,05 mg/l



Obr. č. 34: Základní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 12)

**5.4.4 Vzorek č. 13 – Přípravek na ochranu rostlin – insekticid  
CALYPSO 480 SC**

*Tab. č. 52: Limitní test s Artemia salina (vzorek č. 13)*

Koncentrace testované látky (c) mg/l	Počet nasazených org. ks	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
100,0	30	3	10
kontrola	30	2	6,7

**48h EC 50 > 100 mg/l**

*Tab. č. 53: Limitní test s Daphnia magna (vzorek č. 13)*

Koncentrace testované látky (c) mg/l	Počet nasazených org. ks	Imobilizace testovacích org. za 48 h	
		ks	%
100,0	30	4	13,3
kontrola	30	0	0

**48h EC 50 > 100 mg/l**

*Tab. č. 54: Limitní test s Poecilia reticulata (vzorek č. 13)*

Koncentrace testované látky (c) mg/l	Počet nasazených org. ks	Mortalita testovacích org. za 96 h	
		ks	%
100,0	7	0	0
kontrola	7	0	0

**96h LC 50 > 100 mg/l**

*Tab. č. 55: Limitní test s Desmodesmus subspicatus (vzorek č. 13)*

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	6,02
kontrola	-	-

**72h IC 50 > 100 mg/l**

## 5.5 Testy toxicity na hnojivech

Bylo otestováno pět hnojiv. Průběh testů na čtyřech použitých organismech je zaznamenán v tabulkách 57 – 76.

### 5.5.1 Vzorek č. 14 - Hnojivo - MOČOVINA

Tab. č. 56: Limitní test s *Artemia salina* (vzorek č. 14)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	3	10
kontrola	30	3	10

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 57: Limitní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 14)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	0	0
kontrola	30	0	0

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 58: Limitní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 14)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	7	0	0
kontrola	7	0	0

**96h LC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 59: Limitní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 14)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	-1,2 (stimulace)
kontrola	-	-

**72h IC 50 > 100 mg/l**

### 5.5.2 Vzorek č. 15 - Hnojivo – LEDEK AMONNÝ S DOLOMITEM

Tab. č. 60: Limitní test s *Artemia salina* (vzorek č. 15)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	5	16,7
kontrola	30	3	10

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 61: Limitní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 15)

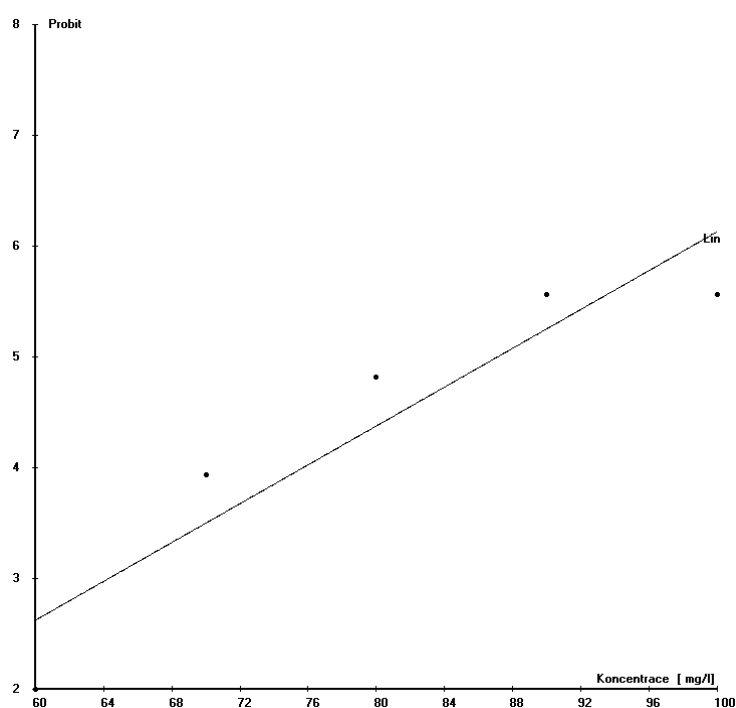
Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	0	0
kontrola	30	0	0

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 62: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 15)

Koncentrace testované látky (c)		Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h		Probity
mg/l	log c	ks	ks	%	
100	2	7	5	71,4	5,55
90	1,954	7	5	71,4	5,55
80	1,903	7	3	42,9	4,82
70	1,845	7	1	14,3	3,93
60	1,778	7	0	0	0
kontrola	-	7	0	0	-

**96h LC 50 = 87,1 mg/l**



Obr. č. 35: Základní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 15)

Tab. č. 63: Limitní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 15)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	14,05
kontrola	-	-

**72h IC 50 > 100 mg/l**

### 5.5.3 Vzorek č. 16 - Hnojivo – BOROSAN Forte

Tab. č. 64: Limitní test s *Artemia salina* (vzorek č. 16)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	5	16,7
kontrola	30	3	10

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 65: Limitní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 16)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	0	0
kontrola	30	0	0

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 66: Limitní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 16)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	7	0	0
kontrola	7	0	0

**96h LC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 67: Limitní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 16)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	14,53
kontrola	-	-

**72h IC 50 > 100 mg/l**

### 5.5.4 Vzorek č. 17 - Hnojivo - DAM

Tab. č. 68: Limitní test s *Artemia salina* (vzorek č. 17)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	3	10
kontrola	30	3	10

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 69: Limitní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 17)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	0	0
kontrola	30	0	0

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 70: Limitní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 17)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	7	0	0
kontrola	7	0	0

**96h LC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 71: Limitní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 17)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	11,34
kontrola	-	-

**72h IC 50 > 100 mg/l**



### 5.5.5 Vzorek č. 18 - Hnojivo – WUXAL SUS Kombi Mg

Tab. č. 72: Limitní test s *Artemia salina* (vzorek č. 18)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	1	3,3
kontrola	30	3	10

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 73: Limitní test s *Daphnia magna* (vzorek č. 18)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Imobilizace testovacích org. za 48 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	30	0	0
kontrola	30	0	0

**48h EC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 74: Limitní test s *Poecilia reticulata* (vzorek č. 18)

Koncentrace testované látky (c)	Počet nasazených org.	Mortalita testovacích org. za 96 h	
		ks	%
mg/l	ks	ks	%
100,0	7	0	0
kontrola	7	0	0

**96h LC 50 > 100 mg/l**

Tab. č. 75: Limitní test s *Desmodesmus subspicatus* (vzorek č. 18)

Koncentrace c (mg/l)	log c	Inhibice růstu (%)
100	2	1,5
kontrola	-	-

**72h IC 50 > 100 mg/l**

## 6 Diskuse

### 6.1 Optimalizace metody

Žábřonožky solné prokazují vysokou odolnost pro rozmezí hodnot pH od 5 do 9 (viz Obr. č. 7). Pro ostatní organismy je předepsáno optimální pH kontrolních vzorků 7,6 - 8. U *Artemia salina* by podle výsledků mohla být tato hodnota snížena i o dva stupně.

Délku testu u žábřonožek jsem zvolila 48 hodin. Tato doba se v podmínkách laboratoře zdála jako nejideálnější a zároveň se shodovala s délkou testu na druhém testovaném bezobratlém organismu, kterým byla dafnie. Dalším důvodem byla velká mortalita žábřonožek v kontrolních stanoveních po delším časovém úseku (KOČÍ et al., 2001).

Je však možné upravit složení ředící vody a žábřonožky přikrmovat a tím prodloužit dobu testování (DVOŘÁK et ŠUCMAN, 2001).

### 6.2 Citlivost žábřonožek na referenční látku

Testy s referenční látkou (dichroman draselný) na žábřonožkách vyplňují velký skok v citlivosti mezi rybami a dafniemi (řasami). U ryb vychází toxicita na tomto standardním toxikantu o řád až dva vyšší, kdežto u dafnií jsou výsledky v desetinách  $\text{mg.l}^{-1}$ .

### 6.3 Srovnání citlivosti jednotlivých testovaných organismů

Nejméně citlivým testovacím organismem je ten, který poskytuje nejvyšší hodnoty EC50 (LC50, IC50). Bylo zjištěno, že na pracích prostředcích nejvyšší hodnoty LC50 a IC50 poskytují testy na rybách a řasách, tudíž jsou tyto testovací organismy nejméně citlivé k testované látce.

Dle zjištěných hodnot EC50 bych jako nejvíce citlivé organismy na prací prostředky označila dafnie a žábřonožky.

Žábřonožky v těchto testech prokázaly poměrně stejnou odolnost jako dafnie.

U pesticidů byla situace podstatně jiná. Jako nejvíce odolné se prokázaly žábřonožky. Nejhůře dopadly řasy, což je pochopitelné z hlediska toho, že se převážně jednalo o herbicidy.

Nejméně škodlivou skupinou látek se pro testované organismy jeví hnojiva. Kromě jednoho ukazatele (viz *Tab. č. 76*) leží výsledná EC (LC, IC) 50 nad hodnotou 100 mg/l.

*Tab. č. 76: Přehled výsledků*

Toxikant	<i>A. salina</i> 48h EC 50 mg/l	<i>D. magna</i> 48h EC 50 mg/l	<i>P. reticulata</i> 96h LC 50 mg/l	<i>D. subspicatus</i> 72h IC 50 mg/l
Vzorek č. 2	12,8	14,1	30,0	44,2
Vzorek č. 3	9,6	14,5	29,9	36,6
Vzorek č. 4	10,1	14,7	37,8	30,1
Vzorek č. 5	18,9	19,8	28,9	64,4
Vzorek č. 6	> 100	> 100	> 100	> 100
Vzorek č. 7	> 100	> 100	> 100	> 100
Vzorek č. 8	> 100	> 100	> 100	> 100
Vzorek č. 9	> 100	> 100	> 100	> 100
Vzorek č. 10	> 100	59,9	67,8	0,1
Vzorek č. 11	> 100	> 100	32,3	0,04
Vzorek č. 12	52,4	22,8	20,8	0,05
Vzorek č. 13	> 100	> 100	> 100	> 100
Vzorek č. 14	> 100	> 100	> 100	> 100
Vzorek č. 15	> 100	> 100	87,1	> 100
Vzorek č. 16	> 100	> 100	> 100	> 100
Vzorek č. 17	> 100	> 100	> 100	> 100
Vzorek č. 18	> 100	> 100	> 100	> 100

#### 6.4 Test s *Artemia salina* z hlediska nákladů

Test akutní toxicity na žábřonožkách je z ekonomického hlediska pro užití v ekotoxikologických laboratořích velice vhodný. Vajíčka *Artemia salina* se dají bez problému zakoupit v akvaristických potřebách. Pořizovací cena je, s ohledem na to, že vajíčka za vhodných podmínek vydrží celý rok, zanedbatelná. Žábřonožky se v laboratořích nechovají, jako je tomu např. u dafnií a ryb, proto odpadá práce s jejich obhospodařováním (krmení atd.). Manuální práce při provádění testů však vyžaduje přesnost a soustředění. To je hlavním faktorem, který udává cenu za testy pro potenciální zákazníky.

O používání těchto finančně i časově nenáročných testů je dobré do budoucna uvažovat.

## 7 Závěr

V rámci této diplomové práce bylo otestováno osm pracích prostředků, čtyři pesticidy a pět hnojiv pomocí čtyř ekotoxikologických testů (test na žábronožkách, dafniích, rybách a řasách).

K ověření správné reakce testovaných organismů byly dále provedeny testy s referenční látkou dichromanem draselným.

Tři testované prací prostředky (vzorky č. 2, 4 a 5) lze dle celkové ekotoxicity klasifikovat jako škodlivé pro vodní organismy, což vyjadřuje R věta R-52. Jednomu pracímu prostředku (konkrétně se jedná o vzorek č. 3) by se podle výsledku testu na žábronožkách musela přiřadit R věta R-51, která značí, že látka je toxická pro vodní organismy. Zbylé polovině pracích prostředků nelze přiřadit žádnou z R vět a nejsou pro vodní organismy škodlivé.

Ze skupiny pesticidů jsou herbicidy vysoce toxické pro vodní organismy (R – 50), i když žábronožky v těchto testech dopadly relativně dobře. Jediný z testovaných insekticidů nemá škodlivý vliv na žábronožky ani na žádný z ostatních testovaných organismů.

Hnojiva dopadla ze všech skupin otestovaných látek nejlépe. Pouze o jednom lze říci, že je škodlivé pro vodní organismy.

V neposlední řadě bylo zjištěno optimální pH pro žábronožky, které se nachází v rozmezí hodnot 5 - 9.

Tato diplomová práce prokázala, že každá chemická látka působí na každý organismus jinak a je tedy nezbytné jejich testování a rozšiřování souboru testů.

Žábronožky solné jsou vhodným organismem, který by se mohl využívat v ekotoxikologii. Pro masové využití je však potřebná standardizace metody.

V této diplomové práci bylo dosaženo všech předem definovaných cílů bez větších problémů.

## 8 Přehled literatury a použitých zdrojů

- ANONIMUS, 2008: Dichroman draselný. online: <http://www.lipoland.com/r-s-vety-chemikalii/d/dichroman-draselny/>, cit. 1.4.2010.
- ANONIMUS, 2008: Practical Fishkeeping. online: [http://www.practicalfishkeeping.co.uk/pfk/pages/show\\_article.php?article\\_id=492](http://www.practicalfishkeeping.co.uk/pfk/pages/show_article.php?article_id=492), cit. 1.3.2008.
- BARAHOVA M. V., SÁNCHEZ-FORTÚN S., 1996: Comparative Sensitivity of Tree Age Classes of *Artemia salina* Larvae to Several Phenolic Compounds. In Bull. Environ. Contam. Toxicol. 56: 271 – 278.
- CLARE J., 2008: *Daphnia*: An Aquarist's guide. online: <http://www.caudata.org>, cit. 1.3.2008.
- CREMLYN R., 1985: Pesticidy. SNTL - Nakladatelství technické literatury, n. p., Praha, 244 s.
- ČSN EN ISO 6341, 1997: Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* Straus, zkouška akutní toxicity.
- ČSN EN ISO 7346, 1999: Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby.
- ČSN EN ISO 8692, 2005: Zkouška inhibice růstu sladkovodních zelených řas *Scenedesmus subspicatus*.
- DOKOUPIL N., 1981: Živorodky: Technika chovu, biologie druhů, standardy. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 264 s.
- DVOŘÁK P., ŠUCMAN E., 1996: Interakce nízkých koncentrací cizorodých látek testem *Artemia salina*. VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Brno.
- DVOŘÁK P. et ŠUCMAN E., 2001: Desetidenní biotest na *Artemia salina*. In: MÁCHOVÁ J., SVOBODOVÁ Z., RANDÁK T. [eds]: Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí. Sborník referátů z 10. konference s mezinárodní účastí. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech, České Budějovice, 248 s.

- DVOŘÁK P., ŠUCMAN E., ČERVENÁKOVÁ D., KOŘÍNEK K., BLECHOVÁ R., 1999: Využití biotitu s *Artemia salina* pro farmakotoxikologii. In: DOČKAL P. et MASZJAROVÁ E. [eds]: Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí. Sborník referátů z 9. Konference Soláň 13. – 15. 9. 1999. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech, České Budějovice, 232 s.
- HARTMAN P., PŘIKRYL I., ŠTĚDRONSKÝ E., 1998: Hydrobiologie. Informatorium, spol. s r. o., Praha, 336 s.
- HEGNER P., VERNER V., SCHOEDLBAUER V., 1990: Kapalná hnojiva a způsob jejich využívání. SNTL - Nakladatelství technické literatury, n. p., Praha, 200 s.
- HETEŠA J. et SUKOP I., 1985: Aplikovaná hydrobiologie II. Státní pedagogické nakladatelství, Praha, 84 s.
- HIERONIMUS H., 1999: Živorodky. Nakladatelství Jan Vašut, Praha, 72 s.
- HOCHMUT R., JANČAŘÍK V., KUDELA M., MENTBERGER J., 1968: Pesticidy v lesním hospodářství. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 258 s.
- KOČÍ V. et HALOUŠKOVÁ O., 2002: Ekotoxikologické biotesty 1. Vodní zdroje EKOMONITOR spol. s r. o. VŠCHT, Praha.
- KOČÍ V., RAKOVICKÝ T., ŠVAGR A., 2001: Test akutní toxicity na žábřonožkách *Artemia salina*. Vysoká škola chemicko – technologická v Praze, Fakulta technologie ochrany prostředí, Ústav chemie ochrany prostředí, Praha, 4 s.
- KOZUMPLÍKOVÁ M., 2006: Ekotoxikologické posouzení komerčního probiopreparátu a ověření jeho vlivu na příjem fosforu směsnou kulturou aktivovaného kalu a sladkovodní řasou. Diplomová práce. nepublikováno, dep.: knihovna Univerzity Pardubice, Pardubice, 87 s.
- KROUPOVÁ H., 2004: Posouzení toxického vlivu dusitanů na rybí obsádku. Diplomová práce. nepublikováno, dep.: knihovna Vysoké školy chemicko – technologické v Praze, Praha.
- MC GOWAN S., BRITTON G., HAWORTH E., MOSS B., 1999: Ancient blue-green blooms. *Limnology and Oceanography*: 436-439.

- NAŘÍZENÍ VLÁDY č. 258/2001 Sb., kterým se mění nařízení vlády č. 25/1999 Sb., kterým se stanoví postup hodnocení nebezpečnosti chemických látek a chemických přípravků, způsob jejich klasifikace a označování a vydává Seznam dosud klasifikovaných nebezpečných chemických látek. Sbírka zákonů 2001, částka 99.
- NUNES B. S., CARVALHO F. D., GUILHERMINO L. M., VAN STAPPEN G., 2006: Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environ. Pol.* 144: 433 – 462.
- PITTER P., 1999: *Hydrochemie*. VŠCHT, Praha, 568 s.
- RICHTER R. et HLUŠEK J., 1996: *Průmyslová hnojiva, jejich vlastnosti a použití*. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství České republiky, Praha, 50 s.
- SMETKOVÁ V., 2004: *Vývoj metod pro stanovení forem ekotoxikologicky významných prvků v přírodních systémech*. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Brno, 28 s.
- SUKOP I., 1998: *Aplikovaná hydrobiologie*. MZLU, Brno, 145 s.
- SVOBODOVÁ Z., MÁCHOVÁ J., BEKLOVÁ M., CUPÁKOVÁ Š., MINKS J., 2000: *Ekotoxikologie - praktická cvičení část I. Testy toxicity na organismech vodního prostředí*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech, Brno, 72 s.
- SVOBODOVÁ Z., GELNAROVÁ J., JUSTÝN J., KRUPAUER V., MÁCHOVÁ J., SIMANOV L., VALENTOVÁ L., VYKUSOVÁ B., WOHLGEMUTH E., 1987: *Toxikologie vodních živočichů*. MZVŽ, Český rybářský svaz, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 232 s.
- SVOBODOVÁ Z., MÁCHOVÁ J., VESELÝ V., MODRÁ H., SVOBODA M., 2003: *Veterinární toxikologie: Praktická cvičení část I*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno, 179 s.
- ŠTAMBERGOVÁ A. et PROKEŠ J., 1996: *Toxické látky v jednotlivých složkách životního prostředí*. In: PROKEŠ J., BALÍKOVÁ M., BARTONÍČEK F., BRANIŠ M., ČERNÝ B., NOVÁKOVÁ E., POUČKOVÁ P., ŠTABLOVÁ R., ŠTAMBERGOVÁ A., VEČERKOVÁ J., VULTERIN K., WENKE M.:



Základy toxikologie I. Obecná toxikologie a ekotoxikologie. Karolinum, Praha, 165 s.

- ŠTĚPÁNEK M. et ČERVENKA R., 1974: Problémy eutrofizace v praxi. Avicenum, zdravotnické nakladatelství, n. p., Praha, 232 s.
- ŠTĚRBA O., 1986: Pramen života. Panorama, Praha, 224 s.
- TOGULGA M., 1998: The Short-Term Toxicity of Two Toxicants to *Artemia* Nauplia. In Tr. J. of Zoology, 22: 259 – 266.
- VISMARA C., 1998: Effects of Methanol, Ethanol and N-propanol on Development of *Artemia salina* Cysts. In Chemosphere, Vol. 37: 3027 - 3034.
- VOLTERRA L., BOUALAM M., MÉNESGUEN A., DUGUET J. P., DUCHEMIN J., BONNEFOY X., 2002: Eutrofizace a zdraví. Státní zdravotní ústav, Praha, 28 s.
- VRÁBLÍKOVÁ J. et VRÁBLÍK P., 2006: Úvod do agroekologie. UJEP FŽP, Ústí nad Labem, 106 s.
- VYHLÁŠKA č. 389/2005 Sb., vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 222/2004 Sb., kterou se u chemických látek a chemických přípravků stanoví základní metody pro zkoušení fyzikálně-chemických vlastností, výbušných vlastností a vlastností nebezpečných pro životní prostředí. Sbírka zákonů 2005, částka 134.
- VYHLÁŠKA Ministerstva zemědělství č. 120/1999 Sb., kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 84/1997 Sb., kterou se upravuje registrace přípravků na ochranu rostlin a zacházení s nimi a technické a technologické požadavky na mechanizační prostředky na ochranu rostlin a jejich kontrolní testování. Sbírka zákonů 1999, částka 44.
- WITLINGEROVÁ Z. et JONÁŠ F., 2002: Ochrana životního prostředí. Credit, Praha, 132 s.