

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta



**Monitoring neurotoxinu β -N-methylamino-L-alaninu v
povrchových vodách**

Bakalářská práce

Jan Pixa

Školitelka: Ing. Pavla Fojtíková, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Karel Hořejší

České Budějovice, 2021

Pixa, J., 2021: Monitoring neurotoxinu β -N-methylamino-L-alaninu v povrchových vodách. [Monitoring of neurotoxin β -N-methylamin-L-alanin in freshwater bodies. Bc. Thesis, in Czech] – 44 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace

Tato bakalářská práce popisuje základní informace o sinicích a jejich toxinech, enviromentálních faktorech rozvoje vodního květu a shrnuje dosavadní poznatky o výskytu sekundárního metabolitu neurotoxinu β -N-methylamino-L-alaninu. Součástí této práce je návrh projektu monitoringu neurotoxinu β -N-methylamino-L-alaninu v rybníčních vodách a vodních nádržích.

Annotation

This bachelor thesis describes common information about cyanobacteria and cyanotoxins, environmental drivers of cyanobacterial blooms and summaries present knowledges of the occurrence of their secondary metabolite neurotoxin β -N-methylamin-L-alanin. The thesis includes a project proposal regarding monitoring of neurotoxin β -N-methylamin-L-alanin in fishponds and water reservoirs.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 12. dubna 2021

.....

Jan Pixa

Klíčová slova

Povrchové vody, vodní květ, sinicové toxiny, β -N-methylamino-L-alanin, neurodegenerativní onemocnění, kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie, monitoring

Key words

Freshwater bodies, cyanobacterial blooms, cyanotoxins, β -N-methylamin-L-alanin, neurodegenerative diseases, liquid chromatography, mass spectrometry, monitoring

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucí mé bakalářské práce Ing. Pavle Fojtíkové, PhD. za odborné vedení mé práce, cenné rady a zkušenosti, trpělivost a čas, které mi obětovala, aby tato práce mohla vzniknout. Dále bych chtěl poděkovat Mgr. Pepovi Juráňovi, PhD. za odborné rady ohledně sinic, RNDr. Jirkovi Kaňovi, PhD. za cenné připomínky při psaní literární rešerše a projektu. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat Vodohospodářské laboratoři státního podniku Povodí Vltavy v Českých Budějovicích za poskytnutí informací a rad ohledně odběru vzorků.

OBSAH

1	Shrnutí projektu.....	1
2	Literární řešerše.....	2
2.1	Úvod.....	2
2.2	Sinice	3
2.2.1	Ekologie sinic	4
2.2.2	Enviromentální podmínky vedoucí k rozvoji sinic	5
2.2.3	Definice vodního květu	7
2.2.3.1	Důsledky vodního květu	8
2.2.4	Sinicové toxiny	8
2.2.4.1	Cesty expozice	11
2.3	Neurotoxin BMAA	13
2.3.1	Izomery BMAA.....	13
2.3.2	Primární zdroje	14
2.3.3	Sekundární zdroje a akumulace v organismech	15
2.2.4	Toxicita BMAA.....	16
2.3.5	Metody stanovení	18
2.3.5.1	Kapalinová chromatografie s hmotností spektrometrií.....	18
2.4	Závěr	20
3	Cíle projektu.....	21
4	Hypotéza.....	21
5	Návrh monitoringu	22
5.1	Úvod.....	22
5.2	Metodika	23
5.2.1	Výběr lokalit.....	23
5.2.2	Odběr a uchování vzorků.....	24
5.2.3	Laboratorní analýzy	24
5.3	Časový harmonogram	28
5.4	Finanční náklady	29
6	Závěr.....	30
7	Seznam použité literatury	31
8	Seznam použitých zkratk a symbolů	44

1 Shrnutí projektu

Neproproteinogenní aminokyselina β -N-methylamino-L-alanin (BMAA) je neurotoxická látka produkovaná ve sladkovodních, mořských i suchozemských ekosystémech většinou sinicových druhů, ale rovněž rozsivkami a obrněnkami. Tento neurotoxin bývá spojován s výskytem některých neurodegenerativních onemocnění u člověka, jako je např. amyotrofická laterální skleróza (ALS), Alzheimerova nemoc nebo Parkinsonova nemoc. Vzhledem k antropogenní eutrofizaci povrchových vod dochází k významné expanzi sinicových květů v letních měsících a je zde tudíž potenciální riziko zvýšeného výskytu a koncentrace tohoto neurotoxinu ve sladkovodních vodách spolu s dalšími sinicovými toxiny (microcystin, anatoxin, saxitoxin atd.). Na základě publikovaných dat lze usuzovat na bioakumulaci neurotoxinu BMAA v potravním řetězci vodních organismů. Vzhledem k výskytu BMAA jak ve vodě, tak v potravě člověka, je důležité věnovat pozornost detekci, kvantifikaci a monitoringu tohoto neurotoxinu pro zajištění veřejného zdraví.

Cílem této bakalářské práce je návrh projektu efektivního monitoringu neurotoxinu BMAA v rybníčních vodách a významných vodních nádržích v lokalitě jižní Čechy, shrnutí současných poznatků o výskytu neurotoxinu BMAA a popis zdravotních rizik neurotoxinu BMAA na člověka a vodní organismy. Bude popsána analytická metoda HPLC/MS používaná pro stanovení koncentrace rozpuštěného BMAA ve vodě.

Tento projekt může být součástí metodiky pro včasnou detekci rozpuštěného neurotoxinu BMAA v povrchových vodách a přispět budoucím studiím informacemi ohledně výskytu neurotoxinu BMAA v povrchových vodách. Návrh monitoringu neurotoxinu BMAA je tedy zásadní pro ochranu zdrojů pitné vody a veřejného zdraví lidí.

2 Literární rešerše

2.1 Úvod

β -N-methylamino-L-alanin, dále už jen BMAA, je sekundární metabolit produkovaný pravděpodobně většinou sinicových druhů v sladkovodních, mořských a suchozemských ekosystémech (Cox et al. 2003). Dále jeho možný výskyt a produkci prokázaly studie v rozsivkách (Jiang et al. 2014a) a obrněnkách (Lage et al. 2014). BMAA byl poprvé objeven v roce 1967 na západě Tichého oceánu na ostrově Guam, kde byl izolován ze semen cykasů rodu *Cycas micronesica* (Vega a Bell 1967). Nejdříve se ale předpokládalo, že se jedná o rostlinný toxin produkovaný samotnými cykasy (Whiting 1963). Později však bylo prokázáno, že BMAA je syntetizován sinicemi rodu *Nostoc* žijícími symbioticky s rostlinou v kořenech cykasů (endosymbióza), odkud se následně BMAA dokáže hromadit v semenech a dalších částech této rostliny (Cox et al. 2003).

Neurotoxin BMAA je na základě mnoha studií považován za spouštěč několika neurodegenerativních onemocnění, konkrétně amyotrofická laterální skleróza (ALS), Alzheimerova nemoc (AD) nebo Parkinsonova nemoc (PD). Tato hypotéza vycházela z pozorování vysokého výskytu těchto neurodegenerativních onemocnění právě na ostrově Guam, kde se tento neurotoxin nacházel v potravě místních lidí (Spencer et al. 1987; Cox a Sacks 2002; Cox et al. 2003; Pablo et al. 2009; Banack et al. 2010b).

Z chemického hlediska se jedná o neproteinogenní polární bazickou aminokyselinu (Faassen et al. 2016) patřící do skupiny sinicových neurotoxinů jako jsou anatoxin, saxitocin a jiné (Aráoz et al. 2010).

Vzhledem k obohacování povrchových vod živinami a příznivým teplotním podmínkám zapříčiněným globálním oteplováním, dochází v posledních desetiletích k častějším výskytům sinicových květů. Následně to může vést k vyššímu výskytu látek, které jsou produkovány sinicemi a tedy i neurotoxinu BMAA v povrchových vodách a většímu riziku ohrožení vodních organismů a veřejného zdraví (Paerl a Paul 2012; Brookes a Carey 2011; Elliott 2012; Schindler et al. 2008).

Cílem této rešerše je popsat základní informace o sinicích a hlavních enviromentálních faktorech, které vedou k rozvoji vodního květu v povrchových vodách, shrnutí současných vědeckých poznatků o výskytu neurotoxinu BMAA a popsání možných zdravotních rizik

BMAA na člověka a vodní organismy. Pozornost je věnována zhodnocení vlivu měnících se environmentálních podmínek a parametrů prostředí na množství, rozvoj a dominanci sinic v eutrofních vodách. Chceme ověřit a doložit předpoklad, že neurotoxin BMAA se vyskytuje v sinicích a rovněž v eutrofních vodách s dominancí sinic.

2.2 Sinice

Sinice (cyanobacteria, angl. blue-green algae) jsou starodávné, 3,5 miliardy let staré, prokaryotické mikroorganismy rozšířené po celém světě (Whitton 2012). Kvantitativně patří mezi nejdůležitější organismy na Zemi. Střízlivý odhad jejich celosvětové biomasy je asi 3×10^{14} g C (Garcia-Pichel et al. 2009). Jsou zodpovědné za vytvoření kyslíkaté atmosféry planety Země před 2200-2400 miliony let prostřednictvím fotosyntézy, při které dochází k produkci kyslíku. Patří mezi hlavní činitele biochemických cyklů uhlíku, dusíku, a dalších prvků. Sinice jsou primárními kolonizátory, mají fotosyntetický způsob růstu, některé mají schopnost fixovat atmosférický dusík (Huisman et al. 2018). V podmínkách nadměrného výskytu bohatých zdrojů živin mají sinice schopnost ukládat základní živiny (fosfor, dusík, železo a stopové prvky), což jim umožňuje následně růst i v podmínkách s limitujícím množstvím živin (Oliver et al. 2012; Paerl a Paul 2012; Carey et al. 2012). Během evoluce se dokázaly adaptovat, aby odolaly a přežily extrémní vlivy prostředí, jako je vysoká salinita, vysoké a nízké teploty, přerušované vysychání a intenzivní sluneční záření. Sinice tvoří základ mnoha vodních a suchozemských potravních řetězců a nacházejí stále vyšší uplatnění v biotechnologiích, od výroby biohnojiv až po syntézu potenciálních léků (Whitton 2012).

Ve vodním prostředí se sinice mohou vyskytovat suspendované v rozptýlené formě nebo jako agregáty ve vodě, na vodní hladině, v sedimentech na dně nebo ulpívající na horninách, sedimentech a rostlinách na břehu moří, jezer a řek (Whitton 2012). Jsou rozšířené od polárních (Quesada a Vincent 2012) až po tropické oblasti severní a jižní polokoule (Mowe et al. 2007). Populace sinic v těchto místech mohou utvářet sinicové květy, povlaky a biofilmy nebo až husté nárosty sinic.

Dnes obecně víme, že vlivem lidské činnosti došlo ke zvýšení trofických podmínek neboli eutrofizaci vodních těles, způsobené obzvláště vyšším množstvím živin ve vodě, zejména dusíku a fosforu. Toto obohacení vodních zdrojů živinami je zapříčiněno ve velké míře zatížením zdroji z domácností, dále pak ze zemědělských, rybářských a průmyslových zdrojů,

zvýšenou erozí v povodí vodních ploch a zvýšenými odběry vody. Masivní nárůst květů sinic je do značné míry ovlivněn a podpořen příznivými teplotními podmínkami, pronikáním světla do vodního sloupce, příznivým pH vody, dobou zdržení vody v jezeře nebo průtokem vody korytem řeky (Giani et al. 2020; Huisman et al. 2018; Lampert a Sommer 2007; Schindler et al. 2008; Schindler 2006).

Masové populace sinic mohou nepříznivě ovlivňovat dostupnost, estetickou kvalitu, zdraví a bezpečnost, a také hodnotu vodních zdrojů pro použití člověkem. Mezi lidské potřeby a vodní aktivity, které mohou být nepříznivě ovlivněny, patří dodávky pitné vody, napájení hospodářských zvířat, zavlažování plodin, akvakultura, průmyslové zpracování, rekreace a turismus (Brookes a Carey 2011; Elliott 2012; Giani et al. 2020; Wagner a Adrian 2009).

2.2.1 Ekologie sinic

Sinice jsou s nadsázkou všudypřítomné organismy, kolonizující mnoho různých ekosystémů po celém světě a za všech klimatických podmínek (Whitton 2012). Vytvářejí symbiotická partnerství s širokou škálou eukaryotických hostitelů jako jsou třeba lišejníky, kořeny cykasů, korály, rozsivky a obrněnky. Poskytují hostiteli fixovaný dusík a tím umožňují hostitelům růst na místech s omezeným obsahem dusíku. Sinice díky hostitelům mohou žít v relativně chráněném prostředí bez predace a extrémních změn podmínek (Adams et al. 2012).

Morfologie sinic zahrnuje jednobuněčné, koloniální a mnohobuněčné vláknité formy. Jednotlivé buňky jsou obvykle mikroskopické, ale větší formy jako slizové kolonie (např. *Microcystis*), bentické nárosty (např. *Phormidium*) nebo vláknité formy (např. *Aphanizomenon*) jsou snadno viditelné i pouhým okem (Meriluoto et al. 2017).

Sinice využívají světelnou energii k syntéze organické hmoty z minerálních živin a CO₂ pomocí fotosyntézy stejně jako řasy a vyšší rostliny. Voda je během fotosyntézy donorem elektronů a dochází k produkci kyslíku (Huisman et al. 2018). Všechny druhy sinic syntetizují zelený pigment chlorofyl *a*. Sinice jsou schopné růst i za špatných světelných podmínek díky svým přídatným pigmentům, tzv. fykobilinům. Tyto fykobiliny jsou celkem tři, dva z nich jsou modré pigmenty (fykocyanin a allofykocyanin) a jeden červený (fykoerythrin). Značná citlivost těchto pigmentů umožňuje sinicím fotosyntetizovat i při velmi nízké hladině osvětlení – hluboko pod hladinou vody, v půdě, uvnitř kamenů a v jeskyních. Na druhou stranu nadnášivá schopnost sinic díky plynovým měchýřkům (aerotopům), které mají uvnitř buněk,

jim umožňuje plavat ve vodním sloupci a setrávat v horní několikacentimetrové vrstvě vodního sloupce, kde je největší světlo (např. *Microcystis*) (Oliver et al. 2012; Paerl a Paul 2012). V povrchové vrstvě vod jsou sinice vystavěny vysoké intenzitě světla a ultrafialovému (UV) záření. Ochrannými mechanismy fungujícími díky přítomnosti karotenoidových barviv a sekundárního metabolitu scytoneminu mohou zabránit případné fotoinhibici nebo poškození UV zářením (Castenholz a Garcia-Pichel 2012). Dále některé druhy sinic tvoří klidové buňky akinety, které jim slouží k přežití nepříznivých podmínek (změny intenzity světla, živin, teploty a potenciálního vysušení) (Carey et al. 2012).

Některé druhy sinic (např. rody *Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Nodularia* a *Cylindrospermopsis*) mohou fixovat dusík (N_2), což jim umožňuje přístup do rozsáhlé zásoby atmosférického dusíku (Huisman et al. 2018). Fixace dusíku probíhá za neúčasti kyslíku, tedy v anaerobním prostředí. Pro diazotrofické sinice je důležité, aby byl proces fixace dusíku oddělen od produkce fotosyntetického kyslíku za účelem zabránění ireverzibilní inaktivace enzymového komplexu fixace dusíku kyslíkem. K prostorovému oddělení mají sinice specializované buňky, tzv. heterocyty. Fixace dusíku je energeticky nákladný proces a mnoho sinic potlačuje fixaci dusíku, pokud jsou k dispozici jiné formy dusíku, jako je amonium a nitrát (dusičnany). Schopnost diazotrofických sinic fixovat dusík poskytuje ve vodách s nízkým obsahem dusíku kompetiční výhodu nad sinicemi, které nemají heterocyty a dalším eukaryotickým fytoplanktonem, pokud jsou k dispozici jiné živiny jako fosfor či železo (Oliver et al. 2012).

Eutrofizace vodních těles vedla k nárůstu množství sinic po celém světě. Vzhledem k tomu, že mnoho potenciálně toxických druhů sinic tvoří vodní květ, jsou pro adekvátní monitoring zapotřebí nezbytné informace o parametrech prostředí, které vedou k rozvoji a dominanci sinic v eutrofních vodách (Schindler et al. 2008; Meriluoto et al. 2017)

2.2.2 Enviromentální podmínky vedoucí k rozvoji sinic

Díky porozumění eutrofizaci je dnes všeobecně známo, že mnoho fyzikálně-chemických a biologických faktorů a procesů má vliv na populační dynamiku sinic a také na jejich vertikální a horizontální distribuci ve vodách.

Pozorovaný nárůst květů sinic v mnoha vodních ekosystémech souvisí s rostoucí koncentrací živin, zejména dusíku a fosforu (Elliott 2012; Giani et al. 2020), vyššími teplotami vody díky

globálnímu oteplování (Carey et al. 2012), změnami v tepelné stratifikaci a stabilitě vodního sloupce (Wagner a Adrian 2009; Paerl a Paul 2012). Dalším faktorem je množství a načasování srážek a jejich účinek na hydrologické cykly a odtoky, které mohou změnit přísun živin do povodí, dobu zdržení vody a kolísání hladiny vody (Romo et al. 2013; Brookes a Carey 2011). Společně tyto změny často vytvářejí vhodné podmínky pro růst a dominanci sinic.

V mírném podnebí se květy sinic obvykle vyskytují v letním období, kdy teplota vody je nad 20 °C (Giani et al. 2020). Na rozdíl od tropických jezer, kde výskyt vodního květu už existuje i celoročně, jsou jezera v mírném podnebí chráněna před sinicovými květy poklesem teplot během zimy. Oteplování povrchových vod zesiluje vertikální stratifikaci ve sladkovodních i mořských ekosystémech. Sezónní oteplování také prodlužuje období stratifikace. Ve sladkovodních systémech se stratifikace obvykle odehrává dříve na jaře, stratifikace se udržuje po celé léto a destratifikace probíhá později na podzim (Paerl a Paul 2012).

Dále bylo prokázáno, že optimální teplota pro dosažení maximální rychlosti růstu je u prokaryotických sinic vyšší než u jiných řas (Nalley et al. 2018), což naznačuje jednu z dalších kompetičních výhod jak překonat ostatní druhy fytoplanktonu. Tepelná stratifikace v eutrofních vodách může také vést k uvolnění fosforu ze sedimentu za anoxických podmínek v hypolimnionu a nepřímo tak ovlivnit dynamiku populací sinic (Meriluoto et al. 2017; Lampert a Sommer 2007; Carey et al. 2012). Zejména studie (Giani et al. 2020) ukazuje synergický účinek teploty vody a celkového fosforu (TP) ve vodě na rychlost růstu květů sinic.

Lidskou činností, zejména intenzivním zemědělstvím od šedesátých let dvacátého století, se dramaticky zvýšily vstupy dusíku a fosforu do vodních ekosystémů a zapříčinily výraznější rozvoj vodního květu a řas (Schindler 2006). Následně byla zavedena opatření, která měla snížit přísun těchto živin do vodních ekosystémů. Obecně je účinnější pro ovlivnění rozvoje vodního květu snižování vstupů fosforu než snižování vstupů dusíku, proto dusíkatá hnojiva předčila používání fosforečných hnojiv. V důsledku toho dnes stoupá poměr dusíku k fosforu v mnoha jezerech, řekách a pobřežních vodách, což může vést ke změnám v druhovém složení zastoupených sinic. Zejména se může zvýšit výskyt sinic nefixujících dusík, jako je *Microcystis spp.* a *Planktothrix spp.*, na úkor sinic fixujících dusík (Huisman et al. 2018).

Předpokládá se, že globální oteplování ovlivňuje některé faktory životního prostředí, které mají vliv na tvorbu vodního květu. Klíčovým faktorem globálního oteplování je rostoucí koncentrace oxidu uhličitého (CO₂) v atmosféře, který je emitován například spalováním fosilních paliv a biomasy nebo produkcí oceli. Rostoucí koncentrace atmosférického oxidu

uhličitého (CO₂) zvyšuje koncentraci CO₂ v povrchových vodách pokrytých květy sinic, což zintenzivní vývoj sinicových květů. Vysoké teploty napomáhají stabilnější teplotní stratifikaci. Změna klimatu také zvyšuje variabilitu počasí, intenzivnější bouře a srážky, způsobující větší vstupy živin do vod a dlouhá období sucha způsobující delší dobu zdržení vody (Paerl a Paul 2012; Huisman et al. 2018).

Důležitou roli mají i některé charakteristiky jejich metabolismu a fyziologie. Například mnoho druhů sinic má schopnost regulovat svůj vztlak (angl. buoyancy) tvorbou a kontrolou aerotopů (plynových měchýřků), které jim umožňují pohybovat se a upevnit svoji polohu ve stratifikovaném vodním sloupci. To poskytuje kompetitivní výhodu sinic s plynovými měchýřky tím, že využijí zdroj světla ve svrchní vrstvě vodního sloupce a zastíňují ostatní fytoplanktoní organismy ve větší hloubce (Huisman et al. 2018; Giani et al. 2020; Oliver et al. 2012).

Při výskytu sinic může také hrát roli hojnost velkého zooplanktonu, který se živí sinicemi. Jejich výskyt je však do značné míry určován složením a biomasou rybí obsádky, zejména planktonovorních a bentivorních druhů (Huisman et al. 2018). Naproti tomu, chemická obrana sinic může hrát významnou roli při tvorbě a vytrvalosti vodního květu tím, že omezuje konzumační aktivitu zooplanktonu (angl. grazing), neboli schopnost zooplanktonu se živit na sinicích či jiném fytoplankton (Paerl a Paul 2012).

2.2.3 Definice vodního květu

Vodní květ je nárůst biomasy sinic ve vodním sloupci (měřený například koncentrací chlorofylu-*a*) za relativně krátkou dobu (několik dní až dva týdny) a vyznačuje se dominancí (> 80%) pouze jednoho nebo několika druhů sinic v rámci společenstva fytoplanktonu (Meriluoto et al. 2017). Mezi běžné rody tvořící vodní květ patří *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Planktothrix* a *Trichodesmium* (Huisman et al. 2018). V mezotrofních nebo méně eutrofních jezerech odpovídají biomasy velkých květů koncentracím chlorofylu-*a* od 30 do 50 µg.l⁻¹, zatímco v eutrofních a hypereutrofních jezerech lze nalézt biomasy přesahující koncentrace chlorofylu-*a* 300 až 400 µg.l⁻¹ (Meriluoto et al. 2017).

2.2.3.1 Důsledky vodního květu

Květy sinic mohou způsobovat velké problémy s kvalitou vody. Zvyšují zákal a potlačují vodní vegetaci. Zejména vyčerpání kyslíku mikrobiální degradací sinicového květu může vyvolat hypoxii a anoxii v hypolimnionu a způsobit smrt ryb a bentických bezobratlých (Huisman et al. 2018; Lampert a Sommer 2007). Anoxické podmínky také mohou vést k některým chemickým a mikrobiálním procesům, které by jinak neproběhly. Zejména jde o tyto procesy: DNRA (disimilační redukce dusičnanů na amonium), denitrifikaci a desulfurizaci. Dále při anoxických podmínkách v sedimentech dochází k uvolňování vázaného fosforu, což může podpořit přirozenou eutrofizaci (Lampert a Sommer 2007; Schindler et al. 2008). Sinice produkují chuťové a pachové sloučeniny, které narušují rekreační funkci jezer a využívání nádrží pro pitnou vodu, jak už bylo zmíněno výše (Meriluoto et al. 2017). Kromě toho mohou sinice produkovat různé sekundární metabolity, které mohou nepříznivě ovlivňovat vodní organismy, bioakumulovat se v potravním řetězci a tedy ohrožovat zdraví ptáků, savců a hlavně lidí (Zanchett a Oliveira-Filho 2013; Metcalf a Codd 2012; Brookes a Carey 2011).

2.2.4 Sinicové toxiny

Sinice mají schopnost tvořit širokou škálu sekundárních metabolitů, které se nazývají cyanotoxiny. Tyto metabolity vykazují různé typy biologických nebo biochemických aktivit a některé z těchto látek jsou toxické pro rostliny, bezobratlé a obratlovce, včetně ohrožení zdraví lidí. Vzhledem k opakovanému resp. každoročnímu výskytu sinicových květů ve vodních ekosystémech mohou být lidé chronicky vystaveni sinicovým toxinům v relativně nízkých dávkách (Buratti et al. 2017; Bláha et al. 2009). Známé toxiny, jako jsou microcystiny, nodulariny a cylindrospermopsiny, mohou způsobit poškození jater a ledvin, cytotoxicitu, neurotoxicitu, kožní problémy, gastrointestinální poruchy a mnohé další problémy (Huisman et al. 2018; Zanchett a Oliveira-Filho 2013; Metcalf a Codd 2012).

Produkce toxinů sinicemi je velmi proměnlivá v místě a čase, nelze ji snadno předpovědět dle druhového složení a četnosti sinic. Rovněž je velká variabilita v obsahu cyanotoxinů mezi rozdílnými kmeny stejného druhu sinic. Sinicové květy jsou často složeny ze směsi toxických a netoxických kmenů (Huisman et al. 2018; Metcalf a Codd 2012).

Proč sinice produkují tyto sekundární metabolity zatím není známo. Jednou z úvah by mohlo být, že cyanotoxiny fungují jako obranný mechanismus proti konzumaci zooplanktonem (grazing) (Paerl a Paul 2012; Huisman et al. 2018). Účinek sinicových toxinů vždy ale závisí na druhu sinic, typu produkovaného toxinu a koncentraci toxinu ve vodním prostředí (Zanchett a Oliveira-Filho 2013).

Cyanotoxiny lze rozdělit na základě dvou hlavních kritérií. Podle mechanismu účinku cyanotoxinů u suchozemských obratlovců, zejména savců dělíme do tří hlavních tříd: hepatotoxiny, neurotoxiny, dermatotoxiny; nebo podle jejich chemické struktury jako cyklické peptidy, alkaloidy, lipopolysacharidy a aminokyseliny. Příklady jednotlivých sinicových toxinů jsou spolu s chemickou strukturou a krátkou charakteristikou způsobu působení a toxických účinků uvedeny v Tab. I. Cyanotoxiny jsou důležitou skupinou chemických látek z hlediska ekotoxikologie, toxikologie a chemie životního prostředí (Zanchett a Oliveira-Filho 2013; Huisman et al. 2018; Meriluoto et al. 2017).

Tab. I: Sinicové toxiny (převzato z Huisman et al. 2018; Meriluoto et al. 2017; Bláha et al. 2009).

SINICOVÝ TOXIN	CHEMICKÁ STRUKTURA	RODY HLAVNÍCH PRODUCENTŮ SINIC	ZPŮSOBY PŮSOBNÍ	TOXICKÉ ÚČINKY
Microcystin	Cyklické heptapeptidy	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Phormidium</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Radiocystis</i> , <i>Gloeoetrichia</i> , <i>Anabaenopsis</i> , <i>Rivularia</i> , <i>Tolypothrix</i> , <i>Hapalosiphon</i> , <i>Plectonema</i>	Inhibice eukaryotických proteinových fosfatáz.	Hepatotoxický, poškození jater a ledvin, gastroenteritida, podpora nádorů, snížená oprava DNA a reprodukční toxicita.
Nodularin	Cyklické pentapeptidy	<i>Nodularia</i> , <i>Nostoc</i>	Inhibice eukaryotických proteinových fosfatáz.	Podobný účinek jako u microcystinu, slabá karcinogenita.
Cylindrospermopsin	Tricyklické guanidinové alkaloidy	<i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Umezakia</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Raphidiopsis</i> , <i>Aphanizomenon</i>	Inhibice syntézy bílkovin, poškození DNA a buněčná smrt.	Poškození více orgánů, gastroenteritida a genotoxicita, neurotoxicita.
Anatoxin-a	Bicyklické alkaloidy	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Phormidium</i> , <i>Cuspidothrix</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Phormidium</i>	Agonista nikotinových acetylcholinových receptorů na neuromuskulárních spojkách.	Neurotoxický, ztráta koordinace, třes svalů a selhání.
Anatoxin-a(S)	Fosforylované cyklické N-hydroxiguaniny	<i>Anabaena</i> , <i>Dolichospermum</i>	Inhibitor acetylcholinesterázy.	Neurotoxický, slinění, inkontinence, třes svalů a selhání dýchání.
Saxitoxin	Alkaloidy	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Planktothrix</i>	Blok napětově řízených sodíkových kanálů neuronů.	Neurotoxický, parestázie, necitlivost, paralýza a respirační selhání
Lyngbyatoxin, Aplysiatoxin	Indolové alkaloidy	<i>Lyngbya</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Schizothrix</i>	Váže se na eukaryotický protein kinázu C.	Podpora nádorů.
BMAA, DAB	Aminokyseliny	<i>Microcystis</i> <i>Nostoc</i> a mnoho dalších rodů	Nadměrná stimulace glutamátových receptorů v neuronech a asociace s bílkoviny.	Ztráta koordinace, svalová atrofie a možné přispěvky k neurodegenerativním onemocněním (např. amyotrofická laterální skleróza a Alzheimerova choroba).
LPS	Lipopolysacharidy	Všechny sinice	Zánět a podpora produkce cytokinů.	Podráždění kůže, horečka a gastrointestinální potíže.

2.2.4.1 Cesty expozice

Účinek sinicových toxinů na živý organismus začíná interakcí mezi toxiny a organismem. Analýza míry rizika těchto látek nutně vyžaduje znalost a porozumění možným podmínkám expozice. Cesty expozice a média možného přenosu cyanotoxinů jsou uvedeny v Tab. II. Nejběžnějším a pro lidi nejdostupnějším expozičním médiem pro cyanotoxiny je pravděpodobně voda. Protože většina lidí v rozvinutém světě pije ošetřenou pitnou vodu, k expozici cyanotoxinům pitím užitkové vody pravděpodobně dojde během rekreačních aktivit. Možný obsah cyanotoxinů v pitné vodě, závisí i na účinnosti odstraňování během úpravy vody. Základní informace ohledně managementu úpravy povrchových vod zasažených vodním květem jsou uvedeny v instrukcích od Světové zdravotnické organizace (WHO 2015).

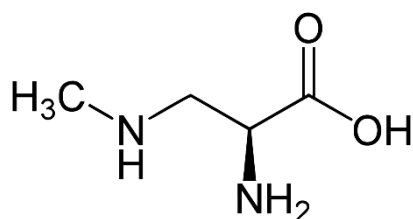
Problematika cyanotoxinů v pitné vodě je řešena v mnoha zemích na celém světě a rovněž v rámci WHO. Kromě řady doporučení, jak postupovat při sledování cyanobakterií a jejich toxinů, je zatím doporučena limitní hodnota pouze pro microcystin-LR v pitné vodě a to $1 \mu\text{g.l}^{-1}$ (WHO 2003). Protože se v povrchových vodách České republiky každoročně vyskytují sinice a v případě jejich zvýšeného výskytu mohou ohrozit kvalitu pitné vody, byl do vyhlášky č. 252/2004 Sb. zařazen ukazatel microcystin-LR s nejvyšší mezní hodnotou $1 \mu\text{g.l}^{-1}$. Jelikož jiné směrné hodnoty pro cyanotoxiny neexistují, je současnou praxí aplikovat limitní hodnoty pro microcystin-LR na všechny ostatní cyanotoxiny (Meriluoto et al. 2017). Pro sledování sinic a cyanotoxinů vzniklo metodické doporučení od Státního zdravotnického ústavu (SZÚ 2005). Monitoring cyanotoxinů je zásadní pro informování vodohospodářů o provozní efektivnosti jejich čistíren v období vývoje a perzistence sinic, aby se zabránilo možnému poškození zdraví lidí (Metcalf a Codd 2012; Meriluoto et al. 2017).

Tab. II: Cesty expozice, expoziční média a činnosti s rizikem kontaktu nebo požitím sinic a cyanotoxinů (převzato z Meriluoto et al. 2017; Metcalf a Codd 2012).

CESTA EXPOZICE	EXPOZIČNÍ MEDIUM	RIZIKOVÉ ČINNOSTI
Pozřením	Voda	Denní pití užitkové vody nebo nedostatečně upravené vody. Neúmyslné pití vody během rekreačních aktivit. Napájení hospodářských zvířat. Konzumace ryb, měkkýšů, korýšů; rostlinné stravy, pokud je zavlažována vodou obsahující sinice
	Potrava	
	Doplňky stravy	
Kůží	Voda	Kontakt kůže a sliznic s květy sinic během rekreace a práce. Sprchování užitkovou vodou nebo nedostatečně upravenou vodou.
Vdechnutím	Voda, aerosoly	Sprej obsahující sinice, výtažky ze sinic, cyanotoxiny během rekreace, sprchování, práce.
	Prachové částice	Vdechování prachových částic vzduchem sušené biomasy sinic, biogenní pouštní kůry, vojenské nasazení
Hemodialýza	Voda	Kontakt s nedostatečně upravenou hemodialyzační vodou.

2.3 Neurotoxin BMAA

BMAA je neproteinogenní aminokyselina (to znamená, že není od přírody zakódována ani nalezena v žádném genetickém kódu organismů) s molekulární hmotností 118.13 g.mol⁻¹. Molekula BMAA se skládá z karboxylové a aminové skupiny na alfa uhlíku s připojeným postranním methyl-aminovým řetězcem (viz. Obr. 1). Je to polární a ve vodě rozpustná látka s nízkým rozdělovacím koeficientem oktanol/voda (Manolidi et al. 2019). Vzhledem k těmto vlastnostem by se BMAA nemělo hromadit v tukových tkáních. BMAA se může vyskytovat ve dvou formách, a to buď ve formě volné nebo vázané na bílkoviny (Faassen et al. 2016).



Obrázek 1: Strukturální vzorec BMAA

2.3.1 Izomery BMAA

Stanovování BMAA ve vzorcích z životního prostředí pomocí hmotnostní spektrometrie je často doprovázeno detekcí řady strukturálních izomerů, které se přirozeně vyskytují v sinicích a mohou vyvolat neurotoxicitu (Banack et al. 2011). Z 260 teoretických strukturálních izomerů BMAA je celkově sedm považováno za biologicky relevantní a splňující požadavky chemické stability (Jiang et al. 2012). Mezi nejčastěji detekované izomery BMAA patří kyselina 2,4-diaminomásečná (2,4-DAB), N-(2-aminoethyl) glycin (AEG) a β -amino-N-methylalanin (BAMA). Zejména izomer 2,4-DAB se považuje za hepatotoxickou a neurotoxickou neproteinogenní aminokyselinu, která se vyskytuje v sinicích a je často detekován spolu s BMAA (Banack et al. 2011; Réveillon et al. 2016; Violi et al. 2019b; Main a Rodgers 2018; Bishop et al. 2018). Za použití moderní kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií lze na základě retenčního času a náboje m/z tyto izomery ve zkoumané matrici rozlišit a stanovit (Jiang et al. 2012).

2.3.2 Primární zdroje

Neurotoxin BMAA byl poprvé izolován ze semen cykasů *Cycas Circinalis* (Vega a Bell 1967). Později bylo zjištěno, že BMAA je produkován endosymbioticky žijícími sinicemi rodu *Nostoc* v koraloidních kořenech cykasů *Cycas Micronesica* (Cox et al. 2003). Od roku 2005, kdy Cox et al. (2005) informoval o produkci tohoto neurotoxinu širokou škálou druhů sinic, se začalo víc a víc studií zabývat přítomností BMAA v životním prostředí po celém světě. BMAA bylo detekováno v sinicích mořských i sladkovodního ekosystémů, ale rovněž v sinicích žijících v půdě a vápencových jeskyních (Cox et al. 2005).

Postupně byla přítomnost BMAA prokázána ve vzorcích volně žijících sinic z terestrických a vodních ekosystémů, ale také u laboratorních kultur sinic. BMAA bylo stanovováno buď ve formě volné nebo ve formě vázané na bílkoviny. Konkrétně se jedná o studie z USA, kde byly koncentrace obou forem BMAA stanovovány v několika vodních nádržích v Nebrasce (Al-Sammak et al. 2014), dále z jižní Afriky (Scott et al. 2014; Esterhuizen a Downing 2008; Scott et al. 2018), z Britských vodních toků (Metcalf et al. 2008), z Číny (Li et al. 2010); z Holandských městských vod (Faassen et al. 2009), z oblasti Baltského moře (Jonasson et al. 2010), ze Švédska (Lage et al. 2015), z Peru (Johnson et al. 2008), z Arábie (Cox et al. 2009; Chatziefthimiou et al. 2018), jezera Winnipeg v Kanadě (Bishop et al. 2018), a dále z Austrálie (Violi et al. 2019b; Main et al. 2018). Stanovení koncentrace BMAA ve vzorcích povrchových vod v těchto studiích vychází z extraktu biomasy sinic, ne tedy rozpuštěného BMAA ve vzorku vody. Koncentrace BMAA se pohybují v rozmezí od ng.g^{-1} do mg.g^{-1} .

Původně byly sinice považovány za jediný primární zdroj neurotoxinu BMAA, pozdější studie však tuto domněnku vyvracejí. Dalšími producenty jsou eukaryotní organismy, konkrétně rozsivky (Lage et al. 2016; Wang et al. 2021; Jiang et al. 2014a; Réveillon et al. 2015; 2016) a obrněnky (Lage et al. 2014). BMAA bylo detekováno jednak v uměle pěstovaných mořských kulturách rozsivek, ale i u rozsivek odebraných ze západního pobřeží Švédska (Jiang et al. 2014a). Přítomnost BMAA byla rovněž prokázána ve vzorcích mořských rozsivek z laguny Thau na jihu Francie (Réveillon et al. 2015). Jedna z nejnovějších studií ukazuje přítomnost BMAA v rozsivkách a jeho následné šíření v potravní síti mořského ekosystému u pobřeží Číny (Wang et al. 2021). V nedávné době byly poprvé koncentrace BMAA a jeho dvou izomerů (AEG a 2,4-DAB) prokázány i u laboratorních kultur sladkovodních druhů rozsivek v Austrálii (Violi et al. 2019a). Přítomnost BMAA byla dále prokázána v laboratorní

kultuře mořské obrněnky *Gymnodium catenatum*, která se hojně vyskytuje v portugalských lagunách (Lage et al. 2014). Větší počet druhů producentů BMAA tak rozšiřuje možné zdroje expozice této neurotoxické látky.

Přesto, že neurotoxin BMAA je dle studií produkován prokaryotickými i eukaryotickými organismy, není zcela jasné, z jakého důvodu je BMAA produkován a zda má nějakou funkční vlastnost v těchto organismech. Jeden z možných důvodů by mohlo být, že produkce BMAA je ovlivněna dostupností dusíku (Downing et al. 2011). Dle Downing et al. (Downing et al. 2011), je produkce BMAA v jednobuněčných sinicích nezávislá na dostupnosti dusíku a zároveň potlačena zvýšením koncentrace dusičnanového aniontu (NO_3^-) nebo amonného kationtu (NH_4^+). Obdobný průběh by mohl být i u rozsivek (Lage et al. 2016).

2.3.3 Sekundární zdroje a akumulace v organismech

Vzhledem ke schopnosti BMAA vázat se na bílkoviny, dochází k šíření v potravním řetězci a možnosti přetrvání BMAA ve zvířecích tkání (Murch et al. 2004). Může být tedy jedním z možných příčin ohrožení veřejného zdraví.

Poprvé byla bioakumulace, resp. ukládání BMAA popsáno u cykasů a kaloňů na ostrově Guam (Cox et al. 2003). V kaloních byly naměřeny vyšší koncentrace BMAA (průměrná koncentrace BMAA $3565 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) než v semenech (průměrná koncentrace BMAA $1161 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), kterými se živí. Byla popsána biomagnifikace BMAA, kdy docházelo ke zvyšování koncentrace tohoto neurotoxinu potravním řetězcem od symbioticky žijících sinic, přes cykasy a jejich semena, až po kaloně (Cox et al. 2003; Cox a Sacks 2002).

V návaznosti na tuto zprávu o bioakumulaci a biomagnifikaci BMAA na ostrově Guam, byl BMAA stanovován v potravních sítích vodních živočichů (ryby, korýši, měkkýši), které jsou obecně konzumované a mohou být tedy zdrojem příjmu BMAA pro člověka. Kromě ostrova Guam byly vyšší koncentrace BMAA zjištěny ve vzorcích zooplanktonu, bezobratlých (mušle, ústřice) a obratlovců (ryby) odebraných v oblasti s pravidelným výskytem sinic v Baltském moři (Jonasson et al. 2010). Vysoké koncentrace BMAA byly nalezeny ve svalových tkáních vodních organismů žijících v jižní Floridě, a to v modrém krabovi ($6976 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), ústřicích ($305 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), krevetách ($942 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a u různých druhů ryb (Brand et al. 2010). V dalších studiích bylo BMAA detekováno u nižších řádů, a to u měkkýšů z Francie (Réveillon et al.

2015; Masseret et al. 2013), Portugalska (Lage et al. 2014), Číny (Wang et al. 2021; Li et al. 2018; 2016). Kromě toho, analýzy mořských plodů ze Švédského rybího trhu odhalily BMAA ve slávce jedlé, ústřicích, krevetách, platýsovi a sled'ovi, ale BMAA nebylo detekováno ve vzorcích lososa, tresky, okouna a raka (Jiang et al. 2014b). BMAA bylo dále detekováno v mořských plodech pocházející ze čtyř kontinentů zakoupených ve Švédských obchodech s potravinami (Salomonsson et al. 2015).

Predátoři, např. žraloci mají díky své dlouhověkosti schopnost bioakumulovat mnoho toxinů a mohou být tedy potenciálním zdrojem BMAA pro člověka (Hammerschlag et al. 2016; Mondo et al. 2012). Koncentrace BMAA (od 144 od 1836 ng.mg⁻¹) byly prokázány u několika druhů žraloků z jižní Floridy (Mondo et al. 2012) a dle očekávání bylo BMAA detekováno u kladivounů (Hammerschlag et al. 2016; Mondo et al. 2012), kteří se primárně živí bentickými organismy, u kterých byly nalezeny velmi vysoké koncentrace BMAA (Brand et al. 2010). Zjištění, že se koncentrace BMAA vyskytují u vodních živočichů různé trofické úrovně, naznačují možné riziko expozice BMAA konzumací vodních organismů.

Významným zjištěním z hlediska možnosti bioakumulace a biomagnifikace neurotoxinu BMAA je studie z jižní Afriky, ukazující, že výskyt sinicových květů v letních měsících nemusí být dostatečným indikátorem a korelovat s množstvím BMAA v rybích tkáních (Scott et al. 2018). Byla potvrzena tendence vyššího výskytu koncentrace BMAA u bentických ryb, ale detekce BMAA v rybích tkáních byla častější u vzorků odebraných v zimních měsících.

2.2.4 Toxicita BMAA

Toxicita BMAA je historicky spojována s neurodegenerativními onemocněními na ostrově Guam v Tichém oceánu (Vega a Bell 1967). Zdejší obyvatelé Chamoro totiž vykazovali mnohem větší výskyt komplexu Amyotrofické laterální sklerózy/Parkinsonovy demence (ALS/PDC) než jinde ve světě (Cox et al. 2003). Příznaky této nemoci se podobají Parkinsonově chorobě (PD), Alzheimerově chorobě (AD) a amyotrofické laterální skleróze (ALS) (Scott a Downing 2018). Rozvoj komplexu neurodegenerativních onemocnění u těchto lidí byl pravděpodobně ovlivněn biomagnifikací BMAA v potravním řetězci, zejména konzumací mouky vyráběné ze semen cykasů, konzumací kaloňů, divoké zvěře a prasat, které se živí semeny cykasů. Jak ukázaly studie, pravidelnou konzumací těchto potravin, kde byl

BMAA vázán na bílkoviny, došlo až k 10 000x násobné biomagnifikaci BMAA ze sinic do mozkové tkáně lidí Chamoro, což mohlo poté vést k rozvoji neurodegenerativních onemocnění. BMAA bylo dále detekováno v mozkové tkáni u kanadských pacientů s Alzheimerovou nemocí, ale ne u kontrolních pacientů bez neurologických onemocnění (Cox et al. 2003; Murch et al. 2004). Toto zjištění výskytu BMAA u pacientů s neurologickými poruchami bylo potvrzeno ve studii od Pablo et al. (2009), kde přítomnost BMAA byla v mozkové tkáni pacientů s ALS a AD, ale ne u pacientů s Huntingtonovou chorobou a kontrolních vzorků mozkové tkáně.

BMAA je někdy označováno jako „pomalý toxin“ kvůli pozorované dlouhé době latence ALS. U emigrantů z Guamu se ALS vyvinula až 34 let po odchodu z Guamu. To naznačuje možnou dobu latence delší než 30 let, pravděpodobně v důsledku schopnosti BMAA vázat se s bílkovinami (Manolidi et al. 2019). V lidském těle se tak vytvoří „rezervoár“ a následně při metabolismu bílkovin dochází k uvolňování BMAA (Murch et al. 2004; Cox et al. 2005).

Neurotoxické působení BMAA na buňky probíhá různými mechanismy. Nejčastěji navrhovaným mechanismem působení BMAA na buněčné úrovni je jeho schopnost excitotoxicity (tj. buněčná smrt vyplývající z hyperaktivity excitačních aminokyselin). Následně dochází ke stimulaci glutamátových receptorů. Tento mechanismus vystihuje spíše akutní než chronický efekt BMAA. Jiný mechanismus neurotoxické aktivity BMAA probíhá přes interakci molekuly BMAA s molekulou neuromelaninu, pigmentu přítomného v nervovém systému. Důležitou roli hraje rovněž možnost inkorporace do buněčných proteinů. Tyto mechanismy se společně mohou podílet na rozvoji neurodegenerativních onemocnění (Delcourt et al. 2018; Banack et al. 2010a).

Pouze několik studií se zabývalo působením BMAA na vodní organismy (Cox et al. 2018; Purdie et al. 2009a; Carion et al. 2020; Wang et al. 2020; Frøyset et al. 2016; Esterhuizen-Londt et al. 2015). Expozice zooplanktonu neurotoxinu BMAA snížila přežití, reprodukci, populační růst a způsobila oxidační stres u *Daphnia magna*. Vícegenerační expozice snížila životaschopnost plodů a hmotnost potomků. BMAA byl přenesen i do dalších generací, což by mohlo naznačovat na možnost přenosu BMAA do vyšších řádů v potravním řetězci díky zooplanktonu (Faassen et al. 2015; Esterhuizen-Londt et al. 2015). Ve většině studií byly sledovány neurodegenerativní změny u modelového organismu *Danio rerio* (Wang et al. 2020; Purdie et al. 2009b; 2009a).

2.3.5 Metody stanovení

Pro relevantní posouzení zdravotních rizik plynoucích z expozice neurotoxinu BMAA a jeho izomerům ve vodním prostředí je nezbytná jednoznačná identifikace a kvantitativní analýza. Metody používané pro analýzy sinicových toxinů musí být ekonomické, rychlé a vysoce citlivé. Proto je zásadní vývoj robustní a spolehlivé analytické metody, která umožní spolehlivou identifikaci BMAA. Bylo vyvinuto mnoho různých analytických metod s využitím kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí (LC-FLD), kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS), kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) nebo plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) (Jiang et al. 2012; Manolidi et al. 2019). Vzhledem k selektivitě a dostatečně nízké hodnotě meze detekce jsou za nejvhodnější považovány metody LC-MS/MS, v současnosti nejčastěji používaná technika pro stanovení BMAA (Faassen 2014; Faassen et al. 2016; Manolidi et al. 2019).

Mnoho studií se věnuje stanovení koncentrace BMAA v povrchových vodách (Violi et al. 2019b; Wu et al. 2019; Main et al. 2018; Scott et al. 2018; Bishop et al. 2018), ale je nutné zmínit, že jde o metody stanovení BMAA v extraktu ze vzorku sinic separovaných z povrchových vod nebo laboratorních kultur sinic. Nejedná se tedy o monitoring výskytu rozpuštěného BMAA přímo v povrchové vodě. Výzkumy ohledně stanovení koncentrace BMAA čistě ze vzorku vody z vodních těles zasažených sinicovým květem jsou zatím nedostatečné (Duy et al. 2019). Koncentrace rozpuštěného BMAA byla stanovena pouze v 1/82 odebraných vzorků a to v rozmezí $<5-110 \text{ ng.l}^{-1}$ (Duy et al. 2019).

2.3.5.1 Kapalinová chromatografie s hmotností spektrometrií

Kapalinová chromatografie (LC, liquid chromatography) patří mezi základní fyzikálně-chemické analytické metody, při které dochází k opakovanému ustavování rovnovážné distribuce složek analyzovaného vzorku mezi dvěma fázemi – mobilní a stacionární fází. Mobilní fáze je kapalná a tvoří ji čisté rozpouštědlo, nebo směs rozpouštědel. Mezi používaná rozpouštědla patří např. hexan, acetonitril, methanol a voda. Její volba vždy závisí na typu analyzované látky a na typu stacionární fáze. Stacionární fáze je nepohyblivá a je ukotvena v koloně. Často se jedná o alkyly (oktyl, oktadecyl, fenyl), které jsou chemicky vázány na silikagel jako nosič. Na základě rozdílných fyzikálně-chemických vlastností analytů

dochází při průchodu kolonou k jejich separaci. Rozdílná afinita stanovovaných látek ke stacionární fázi, vede k jejich různému zadržování v koloně. Vlivem tohoto různého zadržování látek dochází na koloně k postupnému rozdělování složek analyzovaného vzorku. Po separaci jsou analyty unášeny tokem mobilní fáze do detektoru, kde je měřena některá z jejich fyzikálně-chemických vlastností – např. absorbance, fluorescence, nebo specifická hmotnost náboje.

Hmotnostní spektrometrie (MS, mass spectrometry) je analytická metoda založená na rozdělení iontů v plynné fázi podle jejich poměru hmotnosti a náboje (nábojového čísla) a analýze jejich četnosti. Ionty jsou charakterizovány bezrozměrným m/z , kde m je hmotnostní číslo (nukleonové číslo) a z je nábojové číslo, které je poměrem náboje iontu a elementárního náboje. Hmotnostní spektrometrie poskytuje informace o studovaném analytu jak pro kvalitativní (strukturní) analýzu, tak i pro kvantitativní analýzu až na úroveň stopových (méně než 10^{-6} g) a ultrastopových (méně než 10^{-15} g) množství. Základním předpokladem pro úspěšnou separaci iontů je vysoké vakuum (10^{-3} až 10^{-5} Pa), aby nedocházelo k výměně energie mezi jednotlivými částicemi jejich vzájemnými kolizemi (Záruba 2016; Hořejší 2016).

Výhodou techniky LC-MS je spojení účinné separační techniky kapalinové chromatografie s velmi citlivou a selektivní detekční metodou hmotnostní spektrometrie (Záruba 2016; Hořejší 2016)

2.4 Závěr

Během posledních desetiletí dochází k častějšímu rozvoji vodního květu v povrchových vodách. Nejsilnější efekt na rozvoj sinic má pravděpodobně rostoucí přísun živin, způsobený lidskou činností a globální oteplování. Sinice produkují sekundární metabolity, které mohou nepříznivě ovlivnit kvalitu povrchových vod a ohrozit lidské zdraví. Mezi tyto sekundární metabolity patří neurotoxin BMAA, kterému se přisuzuje rozvoj různých neurodegenerativních onemocnění u lidí. Vzhledem k častějšímu výskytu sinic, a tedy i riziku výskytu BMAA je důležitý kvalitní monitoring povrchových vod.

Cílem dále navrhovaného projektu je zejména monitoring rozpuštěného neurotoxinu BMAA, stanovení vnějších faktorů rozvoje sinic a jednotlivých druhů sinic v povrchových vodách za účelem ochrany vod a zdraví lidí, rozvoje vědeckých poznatků o výskytu neurotoxinu BMAA v povrchových vodách ve vybrané lokalitě. Výsledky monitoringu neurotoxinu BMAA a určení vnějších faktorů rozvoje sinic mohou poskytnout cenné informace pro hodnocení kvality vodních zdrojů, u nichž je potenciální riziko nepříznivých účinků neurotoxinu BMAA na zdraví v důsledku expozice vodního květu.

3 Cíle projektu

- Zmapovat vodní tělesa jižních Čech, kde v letních měsících dochází k pravidelnému rozvoji vodního květu
- Stanovit vnější faktory, které mohou ovlivnit výskyt vodního květu a neurotoxinu BMAA v povrchových vodách
- Určit taxonomické složení sinic
- Stanovit koncentrace rozpuštěného BMAA ve vzorcích rybníčních vod a významných vodních nádrží jižních Čech.

4 Hypotéza

- Rozpuštěný neurotoxin BMAA se vyskytuje v eutrofních vodách v důsledku častého rozvoje vodního květu

5 Návrh monitoringu

5.1 Úvod

Rozvoj vodního květu je ovlivňován působením mnoha vnějších faktorů. Mezi tyto faktory patří zejména zvýšená koncentrace dusíku a fosforu v povrchových vodách, teplota a změny v tepelné stratifikaci. Rozvoj vodního květu v letních měsících působí negativně na vodní organismy, snižuje kvalitu vody pro rekreaci a může ohrožovat zdraví lidí. Pro kvalitní monitoring neurotoxinu BMAA je zapotřebí identifikace základních fyzikálně-chemických parametrů, které mají vliv na rozvoj sinic v povrchových vodách. Dále pak pravidelný odběr vzorků a následná analýza zastoupených sinicových druhů a koncentrace BMAA ve vodě. Tento projekt je zaměřen na zjištění koncentrace rozpuštěného BMAA ze vzorků povrchových vod odebraných ve vybraných lokalitách. K analýze bude použita validovaná metoda na Katedře chemie Přírodovědecké fakulty JČU. Projekt bude probíhat ve spolupráci s Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy v Českých Budějovicích.

5.2 Metodika

5.2.1 Výběr lokalit

Ve spolupráci se státním podnikem Povodí Vltavy je vytipováno 21 odběrových míst na základě předchozího dokumentovaného výskytu sinic v povodí Vltavy v jižních Čechách. Výzkum se bude soustředit na rybníční vody, které jsou silně eutrofizované, ale i významné vodní nádrže, které jsou důležité z hlediska rekreace a dodávek pitné vody a mohou být možným zdrojem výskytu rozpuštěného neurotoxinu BMAA. Seznam jednotlivých lokalit je uveden v Tab. III.

Tab. III: Seznam odběrových lokalit.

Lokalita	Odběrové místo	Souřadnice GPS
vodní nádrž Lipno I	Hráz	48.6333555424313°, 14.2360950915370°
	Frymburk	48.6616750982139°, 14.1610051612111°
	Dolní Vltavice	48.6922086428306°, 14.0806002148520°
	Horní Planá	48.7446585225780°, 14.0432240514937°
	rybník Olšina	48.7785004610690°, 14.1000500596760°
Českobudějovicko	v.n. Římov	48.8495774309498°, 14.4907843940434°
	rybník Dehtář	49.0095802888145°, 14.3055917167840°
	rybník Vyšatov	48.9985105746099°, 14.3746189872974°
	Novohaklovský rybník	48.9938976421182°, 14.4003588602039°
	rybník Bezdrev	49.0360655014026°, 14.4064825722202°
	Munický rybník	49.0446237650685°, 14.4290476344707°
vodní nádrž Orlík	Hráz	49.6032053459863°, 14.1810391735856°
	Žďákovský most	49.5037406030282°, 14.1844553620038°
	Hrad Zvíkov	49.4405574351437°, 14.1927299507551°
	Podolský most	49.3564032370990°, 14.2734430139198°
Třeboňsko	rybník Svět	48.9906745819033°, 14.7509013337696°
	rybník Rožmberk	49.0478871395525°, 14.7632351043299°
	rybník Káňov	49.0392620240224°, 14.7512081191306°
	Horusický rybník	49.1648560579756°, 14.6922076025735°
	Opatovický rybník	48.9874978603096°, 14.7766372262755°
Záblatský rybník	49.1081123888524°, 14.6822916103132°	

5.2.2 Odběr a uchování vzorků

Odběr vzorků bude probíhat ve spolupráci se státním podnikem Povodí Vltavy. Vzorky vody budou odebírány z volné vody v době největšího rozvoje vodního květu (červen, červenec, srpen, září, říjen) buď z rybářského člunu nebo ze břehu u odtoku, z mola či výběžku pevniny. V případě větších vodních nádrží bude použita loď správců povodí na dané lokalitě. Den odběru vzorků vody bude vybrán tak, aby bylo jasné a slunečné počasí.

Ke stanovení celkového dusíku (TN), amoniakálního dusíku (N-NH₃), dusičnanového dusíku (N-NO₃), celkového fosforu (TP), fosforečnanového fosforu (P-PO₄), fytoplanktonu (řas a sinic) a chlorofylu-a bude odebrán vzorek vody do příslušné PE vzorkovnice z každé lokality. Vzorek vody bude odebrán ze svrchní vrstvy vodního sloupce (0–30 cm) pomocí odběráku typu Andělova tyč. Na odběrovém místě se odeberou podle heterogenity lokality nejméně 3 dílčí vzorky z okruhu 3–4 m, slíjí se, promíchají a naplní se jimi vzorkovnice. Vzorky vody budou analyzovány Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy v Českých Budějovicích. Vzorky budou zpracovány co nejdříve, nejpozději do 24 h po odběru, uchovávány budou v temnu při teplotě 1–5 °C.

Dále z této vrstvy vodního sloupce bude stejným postupem odebrán vzorek vody ke stanovení koncentrace rozpuštěného BMAA do 15 ml centrifugační zkumavky. Všechny odebrané vzorky budou po dobu odběru skladovány na ledu v chladícím boxu do dalšího zpracování.

5.2.3 Laboratorní analýzy

Stanovení celkového dusíku (TN), amoniakálního dusíku (N-NH₃), dusičnanového dusíku (N-NO₃), celkového fosforu (TP), fosforečnanového fosforu (P-PO₄), fytoplanktonu (řas a sinic) a chlorofylu-a bude analyzováno Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy v Českých Budějovicích. Jednotlivá stanovení proběhnou vždy druhý den po odběru.

Vzorky vody pro stanovení koncentrace rozpuštěného BMAA budou ihned po odebrání uloženy do chladících boxů. Následně budou vzorky v den odběru v laboratoři centrifugovány. Po oddělení pevné fáze, odměření přesného objemu a přidání vnitřního standardu, budou vzorky vody uchovávány v hlubokomrazícím boxu (-85 °C) a následně analyzovány.

Stanovení koncentrace BMAA za použití kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) bude probíhat na Katedře chemie Přírodovědecké fakulty JČU.

- **Stanovení celkového dusíku (TN)**

Vzorky vody se odebírají do standardně připravených PE vzorkovnic. Celkový dusík se stanovuje oxidací na oxidy dusíku. Anorganický dusík se stanoví dopočtem. Princip metody vychází z normy ČSN EN 12260: 2004 (75 7524). Stanovení bude provedeno Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy.

- **Stanovení amoniakálního dusíku (N-NH₄)**

Vzorky vody se filtrují při odběru přes membránové filtry (velikost pórů 0,45 μm) do standardně připravených PE vzorkovnic. Amoniakální dusík se stanovuje metodou automatické diskretní fotometrie. Amonné ionty se stanovují dopočtem. Princip metody vychází z normy ČSN ISO 7150-1:1994 (75 7451). Stanovení bude provedeno Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy.

- **Stanovení dusičnanového dusíku (N-NO₃)**

Vzorky vody se filtrují při odběru přes membránové filtry (velikost pórů 0,45 μm) do standardně připravených PE vzorkovnic. Ke stanovení dusičnanů se používá metoda kapalinové iontové chromatografie. Dusičnanový dusík se stanovuje dopočtem. Princip metody vychází z normy ČSN EN ISO 10304-1:2009 (75 7391). Stanovení bude provedeno Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy.

- **Stanovení celkového fosforu (TP)**

Vzorky vody se odebírají do standardně připravených PE 25 ml vzorkovnic. Celkový fosfor se stanovuje metodou ICP-MS (hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem). Princip metody vychází z normy ČSN EN ISO 17294-1,2 a je použitelná pro vzorky sedimentů, zemin, a kalů. Stanovení bude provedeno Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy.

- **Stanovení fosforečnanového fosforu (P-PO₄)**

Vzorky vody se filtrují při odběru přes membránové filtry (velikost pórů 0,45 μm) do standardně připravených PE vzorkovnic. Fosforečnanový fosfor se stanovuje metodou automatické diskretní fotometrie. Fosforečnanové ionty se stanovují dopočtem. Princip této

metody vychází z normy ČSN EN ISO 6878: 2005 (75 7465). Stanovení bude provedeno Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy.

- **Taxonomické stanovení fytoplanktonu (řas a sinic)**

K taxonomickému stanovení fytoplanktonu bude odebrán vzorek vody do čisté 100 ml tmavé skleněné vzorkovnice se zábrusovým hrdlem a fixován 0,5 ml Lugolovým roztokem. Pro tyto účely lze též fixovat formaldehydem na výslednou koncentraci cca 0,5 %. Princip této metody vychází z normy ČSN 75 7717:2013. Taxonomické stanovení fytoplanktonu bude provedeno Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy.

- **Stanovení chlorofylu-*a* (Chla)**

Vzorky vody ke stanovení chlorofylu-*a* budou odebrány do PE láhvi o objemu 1 l. Koncentrace chlorofylu-*a* se stanovuje spektrofotometricky. Princip této metody vychází z normy ČSN ISO 10 260: 1996 (75 7575). Stanovení bude provedeno Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy.

- **Stanovení vnějších podmínek prostředí**

Při odběru vzorků bude dále zaznamenána teplota vodního sloupce, průhlednost a aktuální stav počasí.

Stanovení těchto základních parametrů prostředí ve spolupráci s Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy je zásadní ohledně výskytu vodního květu a přispěje k lepšímu porozumění výskytu neurotoxinu BMAA.

- **Stanovení koncentrace BMAA – kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS)**

Ke stanovení koncentrace rozpuštěného BMAA ve vzorcích povrchových vod bude použita validovaná metoda kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) (Hořejší 2016). Stanovení koncentrace BMAA bude provedeno na Katedře chemie Přírodovědecké fakulty JČU.

Vzorky odebrané vody v 15 ml centrifugačních zkumavkách budou po příjezdu do laboratoře centrifugovány 15 minut při 10 000 otáčkách/min, čímž dojde k usazení pevné fáze na dně zkumavky. Poté bude vzorek vody o objemu 450 μ l odpipetován automatickou pipetou do krimpovací vialky. Ke vzorku vody bude přidáno 50 μ l pracovního roztoku vnitřního standardu (o koncentraci 1000 μ g.l⁻¹). Z každého vzorku vody budou připraveny tři opakování

k analýze (tzv. triplikát). Vzorčky ve vialkách budou uchovávány v hlubokomrazím boxu při teplotě -83 °C do doby analýzy.

K stanovení koncentrace rozpuštěného BMAA ve vzorku vody bude použit kapalinový chromatograf UltiMate 3000 (Thermo) s hmotnostním spektrometrem VelosPro vybavený vyhřívaným elektrosprejem (Thermo). K separaci látek v kapalinovém chromatografu bude použita chromatografická kolona ZIC® -HILIC o délce 150 mm, vnitřním průměru 2,1 mm a velikosti částic 3,5 µm. Jako mobilní fáze bude použita směs voda-acetonitril v poměru 40/60 s obsahem 0,1 obj. % kyseliny mravenčí. Ke stanovení BMAA bude připravena řada kalibračních roztoků v koncentračním rozsahu od 0,1 µg.l⁻¹ do 100 µg.l⁻¹. Tato metoda vychází z bakalářské práce, která se zabývala vývojem, optimalizací a validací analytické metody na stanovení neurotoxinu BMAA ve vodě pomocí LC/MS (Hořejší 2016). Detaily pro stanovení koncentrace BMAA jsou shrnuty v Tab. IV. Mez detekce zvolené metody je 10 ng.l⁻¹ a mez stanovitelnosti 40 ng.l⁻¹, což jsou dostatečně nízké hodnoty vzhledem k mezní hodnotě 1 µg.l⁻¹ ukazatele microcystin-LR dle vyhlášky č. 252/2004.

Tab. IV: Parametry pro stanovení koncentrace BMAA.

Parametr	Specifikace parametru
Kapalinový chromatograf	UltiMate 3000 (Thermo)
Hmotnostní spektrometr	VelosPro vybavený vyhřívaným elektrosprejem (Thermo)
Vnitřní standard	DL-2,4-diaminomásečná-3,3,4,4-d4 kyselina dihydrochlorid čistota ≈ 98 % (Sigma-Aldrich)
Standard	β-N-methylamino-L-alanin hydrochlorid čistota ≥ 97 % (Sigma-Aldrich)
Mobilní fáze	Voda (0,1 obj. % HCOOH)-acetonitril (0,1 obj. % HCOOH) v poměru 40/60
Průtok mobilní fáze	0,4 ml.min ⁻¹
Chromatografická kolona	ZIC® -HILIC o délce 150 mm, vnitřním průměru 2,1 mm a velikosti částic 3,5 µm
Teplota kolony	30 °C

5.3 Časový harmonogram

Projekt bude probíhat od ledna do konce listopadu roku 2022. Celková plánovaná doba trvání projektu je tedy 11 měsíců (viz. Tab. V). Příprava projektu zahrnuje vypracování literární rešerše, seznámení s problematikou a návrh projektu monitoringu. Po obdržení dotačních prostředků dojde k sjednání spolupráce s Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy. Dále dojde ke kontrole vybraných lokalit k odběru vzorků a nákupu potřebného materiálu ke stanovení BMAA ve vzorcích vody. Terénní odběry vody budou probíhat jednou měsíčně od začátku června do konce října (na každou lokalitu bude dohromady pět výjezdů). Stanovení koncentrace živin, chlorofylu-a a taxonomické určení fytoplanktonu proběhne vždy druhý den po odběru Vodohospodářskou laboratoří Povodí Vltavy. Zpracování vzorků ke stanovení koncentrace BMAA proběhne v den odběru, stanovení BMAA v odebraných a zpracovaných vzorcích proběhne v jednom setu měření v pozdější fázi projektu (říjen). Vyhodnocení a prezentování výsledků proběhne v listopadu.

Tab. V: Časový harmonogram projektu.

	Měsíc										
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.
Příprava projektu	■	■	■								
Sjednání spolupráce				■							
Kontrola vybraných lokalit					■						
Nákup potřebného materiálu					■						
Terénní odběry vody						■	■	■	■	■	
Zpracování a analýza vzorků VH laboratoří						■	■	■	■	■	
Zpracování vzorků BMAA						■	■	■	■	■	
Analýza vzorků BMAA										■	
Vyhodnocení výsledků											■
Prezentace výsledků											■

5.4 Finanční náklady

Celkové náklady projektu činí 492 000,- Kč. Pro účely projektu nebude pořizován žádný dlouhodobý hmotný a nehmotný majetek. Náklady projektu zahrnují pouze ceny za analýzy, odběry vzorků, dopravu, materiál a mzdu koordinátora projektu.

Cena analýzy jednoho vzorku vody ke stanovení koncentrace BMAA činí 1000,- Kč (včetně DPH). Náklady již zahrnují mzdu analytického chemika, zpracování, přípravu třech opakování a všechny náklady spojené s analýzou vzorku pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Tato cena je vyčíslena dle Katedry chemie a děkanátu Přírodovědecké fakulty.

Cena rozboru vzorku vody dle požadovaného rozsahu Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy činí 1640,- Kč (bez DPH). Práce lidí je zahrnuta v ceně analýzy. Cena za jeden odběr vzorků k požadovanému rozsahu činí 170,- Kč (bez DPH). Odběry vzorků jsou rozděleny na 4 lokality (vodní nádrž Lipno I, Českobudějovicko, vodní nádrž Orlík, Třeboňsko). V rámci pravidelných měsíčních odběrů vzorků Vodohospodářské laboratoře v lokalitách v.n. Lipno I a v.n. Orlík budou odebrány i vzorky pro tento projekt a dojde tak k ušetření nákladů na dopravu a půjčení lodi. V těchto lokalitách se tedy počítá jen s náklady spojenými s odběrem a analýzou vzorků. Cena za dopravu platí pouze pro lokality Českobudějovicko (74 km) a Třeboňsko (96 km) a činí za 1 km 16,- Kč (bez DPH). Veškeré náklady na stanovení požadovaného rozsahu, odběry a dopravu vzorků jsou vyčísleny v rámci spolupráce s Vodohospodářskou laboratoří státního podniku Povodí Vltavy.

Položka materiál zahrnuje zejména pořízení centrifugačních zkumavek (15 ml) k odběru a zpracování vzorků ke stanovení koncentrace BMAA. Mzdové náklady zahrnují koordinátora projektu s 30 % úvazkem (Jan Pixa), který zpracovává projekt a zároveň se podílí na sběru vzorků vody ke stanovení koncentrace BMAA.

Tab. VI: Celkové náklady projektu.

Položka		Požadováno (v Kč)
Služby	Analýzy vzorků ke stanovení koncentrace BMAA (včetně 21 % DPH)	105 000
	Analýzy vzorků dle požadovaného rozsahu (včetně 21 % DPH)	173 000
	Doprava (včetně 21 % DPH)	17 000
	Odběr vzorků (včetně 21 % DPH)	18 000
Materiál		5 000
Mzdové náklady	Mzdy	100 000
	Povinné zákonné odvody	34 000
Celkové náklady projektu		492 000

6 Závěr

Uskutečnění navrhovaného projektu poskytne nové poznatky o výskytu rozpuštěného neurotoxinu BMAA v eutrofních povrchových vodách. Projekt umožní posouzení souvislostí mezi vnějšími podmínkami, výskytem různých druhů sinic a výskytem neurotoxinu BMAA v povrchových vodách ve vybraných lokalitách. Přidanou hodnotou projektu budou informace o taxonomickém složení sinic a zmapování vodních těles jižních Čech, kde v letních měsících dochází k rozvoji vodního květu. Tento projekt může přispět svými daty k ochraně vod a lidského zdraví.

7 Seznam použité literatury

ADAMS, David G., Paula S. DUGGAN a Owen JACKSON, 2012. *Cyanobacterial symbioses* [online]. 1. vyd. B.m.: Springer Netherlands. ISBN 9789400738553.

Dostupné z: doi:10.1007/978-94-007-3855-3_23

AL-SAMMAK, Maitham A., Kyle D. HOAGLAND, David CASSADA a Daniel D. SNOW, 2014. Co-occurrence of the cyanotoxins BMAA, DABA and anatoxin-a in Nebraska reservoirs, fish, and aquatic plants. *Toxins* [online]. **6**(2), 488–508. ISSN 20726651.

Dostupné z: doi:10.3390/toxins6020488

ARÁOZ, Rómulo, Jordi MOLGÓ a Nicole TANDEAU DE MARSAC, 2010. Neurotoxic cyanobacterial toxins. *Toxicon* [online]. **56**(5), 813–828. ISSN 00410101.

Dostupné z: doi:10.1016/j.toxicon.2009.07.036

BANACK, Sandra A., Tracie A. CALLER a Elijah W. STOMMEL, 2010a. The cyanobacteria derived toxin beta-N-methylamino-L-alanine and amyotrophic lateral sclerosis. *Toxins* [online]. **2**(12), 2837–2850. ISSN 20726651.

Dostupné z: doi:10.3390/toxins2122837

BANACK, Sandra A., Tim G. DOWNING, Zdeněk SPÁČIL, Esme L. PURDIE, James S. METCALF, Simoné DOWNING, Maranda ESTERHUIZEN, Geoffrey A. CODD a Paul A. COX, 2010b. Distinguishing the cyanobacterial neurotoxin β -N-methylamino-l-alanine (BMAA) from its structural isomer 2,4-diaminobutyric acid (2,4-DAB). *Toxicon* [online]. **56**(6), 868–879. ISSN 00410101. Dostupné z: doi:10.1016/j.toxicon.2010.06.006

BANACK, Sandra A., James S. METCALF, Zdeněk SPÁČIL, Tim G. DOWNING, Simoné DOWNING, Alanna LONG, Peter B. NUNN a Paul A. COX, 2011. Distinguishing the cyanobacterial neurotoxin β -N-methylamino-l-alanine (BMAA) from other diamino acids. *Toxicon* [online]. **57**(5), 730–738. ISSN 00410101.

Dostupné z: doi:10.1016/j.toxicon.2011.02.005

BISHOP, Stephanie L., Jeff K. KERKOVIOUS, Frederic MENARD a Susan J. MURCH, 2018. N- β -Methylamino-L-Alanine and Its Naturally Occurring Isomers in Cyanobacterial Blooms in Lake Winnipeg. *Neurotoxicity Research* [online]. **33**(1), 133–142.

ISSN 14763524. Dostupné z: doi:10.1007/s12640-017-9820-z

- BLÁHA, Luděk, Pavel BABICA a Blahoslav MARŠÁLEK, 2009. Toxins produced in cyanobacterial water blooms - toxicity and risks. *Interdisciplinary Toxicology* [online]. **2**(2), 36–41. ISSN 13379569. Dostupné z: doi:10.2478/v10102-009-0006-2
- BRAND, Larry E., John PABLO, Angela COMPTON, Neil HAMMERSCHLAG a Deborah C. MASH, 2010. Cyanobacterial blooms and the occurrence of the neurotoxin, beta-N-methylamino-L-alanine (BMAA), in South Florida aquatic food webs. *Harmful Algae* [online]. **9**(6), 620–635. ISSN 15689883. Dostupné z: doi:10.1016/j.hal.2010.05.002
- BROOKES, Justin D. a Cayelan C. CAREY, 2011. Ecology: Resilience to blooms. *Science* [online]. **334**(6052), 46–47. ISSN 10959203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1207349
- BURATTI, Franca M., Maura MANGANELLI, Susanna VICHI, Mara STEFANELLI, Simona SCARDALA, Emanuela TESTAI a Enzo FUNARI, 2017. Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Archives of Toxicology* [online]. **91**(3), 1049–1130. ISSN 14320738. Dostupné z: doi:10.1007/s00204-016-1913-6
- CAREY, Cayelan C., Bas W. IBELINGS, Emily P. HOFFMANN, David P. HAMILTON a Justin D. BROOKES, 2012. Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water Research* [online]. **46**(5), 1394–1407. ISSN 18792448. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2011.12.016
- CARION, Alessandra, Angèle MARKEY, Julie HÉTRU, Camille CARPENTIER, Victoria SUAREZ-ULLOA, Mathieu DENOËL, Ryan L. EARLEY a Frédéric SILVESTRE, 2020. Behavior and gene expression in the brain of adult self-fertilizing mangrove rivulus fish (*Kryptolebias marmoratus*) after early life exposure to the neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine (BMAA). *NeuroToxicology* [online]. **79**(May), 110–121. ISSN 18729711. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuro.2020.04.007
- CASTENHOLZ, Richard W. a Ferran GARCIA-PICHEL, 2012. *Cyanobacterial responses to UV radiation* [online]. 1. vyd. B.m.: Springer Netherlands. ISBN 9789400738553. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-007-3855-3_19

CHATZIEFTHIMIOU, Aspasia D., Eric J. DEITCH, William B. GLOVER, James T. POWELL, Sandra Anne BANACK, Renee A. RICHER, Paul A. COX a James S. METCALF, 2018. Analysis of Neurotoxic Amino Acids from Marine Waters, Microbial Mats, and Seafood Destined for Human Consumption in the Arabian Gulf. *Neurotoxicity Research* [online]. **33**(1), 143–152. ISSN 14763524.

Dostupné z: doi:10.1007/s12640-017-9772-3

COX, Paul A., Sandra A. BANACK a Susan J. MURCH, 2003. Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among the Chamorro people of Guam. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **100**(23), 13380–13383. ISSN 00278424.

Dostupné z: doi:10.1073/pnas.2235808100

COX, Paul A., Sandra A. BANACK, Susan J. MURCH, Ulla RASMUSSEN, Georgia TIEN, Robert R. BIDIGARE, James S. METCALF, Louise F. MORRISON, Geoffrey A. CODD a Birgitta BERGMAN, 2005. Diverse taxa of cyanobacteria produce β -N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **102**(14), 5074–5078. ISSN 00278424.

Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0501526102

COX, Paul A., Richard M. KOSTRZEWA a Gilles J. GUILLEMIN, 2018. BMAA and Neurodegenerative Illness. *Neurotoxicity Research* [online]. **33**(1), 178–183.

ISSN 14763524. Dostupné z: doi:10.1007/s12640-017-9753-6

COX, Paul A., Renee RICHER, James S. METCALF, Sandra A. BANACK, Geoffrey A. CODD a Walter G. BRADLEY, 2009. Cyanobacteria and BMAA exposure from desert dust: A possible link to sporadic ALS among Gulf War veterans. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* [online]. **10**(SUPPL. 2), 109–117. ISSN 17482968.

Dostupné z: doi:10.3109/17482960903286066

COX, Paul A. a Oliver W. SACKS, 2002. *Cycad neurotoxins, consumption of flying foxes, and ALS-PDC disease in Guam* [online]. 26. března 2002. B.m.: Lippincott Williams and Wilkins. ISSN 00283878. Dostupné z: doi:10.1212/WNL.58.6.956

DELCOURT, Nicolas, Thomas CLAUDEPIERRE, Thomas MAIGNIEN, Nathalie ARNICH a César MATTEI, 2018. Cellular and molecular aspects of the β -N-Methylamino-L-alanine (BMAA) mode of action within the neurodegenerative pathway: Facts and controversy. *Toxins* [online]. **10**(1). ISSN 20726651.

Dostupné z: doi:10.3390/toxins10010006

DOWNING, S., Sandra A. BANACK, James S. METCALF, Paul A. COX a Tim G. DOWNING, 2011. Nitrogen starvation of cyanobacteria results in the production of β -N-methylamino-L-alanine. *Toxicon* [online]. **58**(2), 187–194. ISSN 00410101.

Dostupné z: doi:10.1016/j.toxicon.2011.05.017

DUY, Sung V., Gabriel MUNOZ, Quoc T. DINH, Dat T. DO, Dana F. SIMON a Sébastien SAUVÉ, 2019. Analysis of the neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) and isomers in surface water by FMOc derivatization liquid chromatography high resolution mass spectrometry. *PLoS ONE* [online]. **14**(8), 1–23. ISSN 19326203.

Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0220698

ELLIOTT, J. Alex, 2012. Is the future blue-green? A review of the current model predictions of how climate change could affect pelagic freshwater cyanobacteria. *Water Research* [online]. **46**(5), 1364–1371. ISSN 18792448. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2011.12.018

ESTERHUIZEN-LONDT, Maranda, Claudia WIEGAND a Tim G. DOWNING, 2015. β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) uptake by the animal model, *Daphnia magna* and subsequent oxidative stress. *Toxicon* [online]. **100**, 20–26. ISSN 18793150.

Dostupné z: doi:10.1016/j.toxicon.2015.03.021

ESTERHUIZEN, Maranda a Tim G. DOWNING, 2008. β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) in novel South African cyanobacterial isolates. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online]. **71**(2), 309–313. ISSN 01476513.

Dostupné z: doi:10.1016/j.ecoenv.2008.04.010

FAASSEN, Elisabeth J., 2014. Presence of the neurotoxin BMAA in aquatic ecosystems: What do we really know? *Toxins* [online]. **6**(3), 1109–1138. ISSN 20726651.

Dostupné z: doi:10.3390/toxins6031109

FAASSEN, Elisabeth J., Maria G. ANTONIOU, Wendy BEEKMAN-LUKASSEN, Lucie BLAHOVA, Ekaterina CHERNOVA, Christophoros CHRISTOPHORIDIS, Audrey COMBES, Christine EDWARDS, Jutta FASTNER, Joop HARMSSEN, Anastasia HISKIA, Leopold L. ILAG, Triantafyllos KALOUDIS, Srdjan LOPICIC, Miquel LÜRLING, Hanna MAZUR-MARZEC, Jussi MERILUOTO, Cristina POROJAN, Yehudit VINER-MOZZINI a Nadezda ZGUNA, 2016. A collaborative evaluation of LC-MS/MS based methods for BMAA analysis: Soluble bound BMAA found to be an important fraction. *Marine Drugs* [online]. **14**(3). ISSN 16603397. Dostupné z: doi:10.3390/md14030045

FAASSEN, Elisabeth J., María GARCÍA-ALTARES, Mariana MENDES E MELLO a Miquel LÜRLING, 2015. Trans generational effects of the neurotoxin BMAA on the aquatic grazer *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology* [online]. **168**, 98–107. ISSN 18791514. Dostupné z: doi:10.1016/j.aquatox.2015.09.018

FAASSEN, Elisabeth J., Frits GILLISSEN, Hans A.J. ZWEERS a Miquel LRLING, 2009. Determination of the neurotoxins BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) and DAB (α -, γ -diaminobutyric acid) by LC-MSMS in Dutch urban waters with cyanobacterial blooms. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* [online]. **10**(SUPPL. 2), 79–84. ISSN 17482968. Dostupné z: doi:10.3109/17482960903272967

FRØYSET, Ann K., Essa A. KHAN a Kari E. FLADMARK, 2016. Quantitative proteomics analysis of zebrafish exposed to sub-lethal dosages of β -methyl-amino-L-alanine (BMAA). *Scientific Reports* [online]. **6**(June), 1–9. ISSN 20452322. Dostupné z: doi:10.1038/srep29631

GARCIA-PICHEL, Ferran, Jayne BELNAP, Susanne NEUER a Ferdinand SCHANZ, 2009. Estimates of global cyanobacterial biomass and its distribution. *Algological Studies* [online]. **109**(1), 213–227. ISSN 18641318. Dostupné z: doi:10.1127/1864-1318/2003/0109-0213

GIANI, Alessandra, Zofia E. TARANU, Gabriela VON RÜCKERT a Irene GREGORY-EAVES, 2020. Comparing key drivers of cyanobacteria biomass in temperate and tropical systems. *Harmful Algae* [online]. **97**(March). ISSN 18781470. Dostupné z: doi:10.1016/j.hal.2020.101859

HAMMERSCHLAG, Neil, Davida DAVIS, Kiyu MONDO, Matthews SEELY, Susanj MURCH, William BROCGLOVER, Timothy DIVOLL, Davidc EVERS a Deborah C. MASH, 2016. Cyanobacterial neurotoxin bmaa and mercury in sharks. *Toxins* [online]. **8**(8), 1–14. ISSN 20726651. Dostupné z: doi:10.3390/toxins8080238

HOŘEJŠÍ, Karel, 2016. *Vývoj , optimalizace a validace analytické metody na sta novení neurotoxinu β -N-methylamino-L-alaninu ve vodě pomocí LC / MS*. B.m. Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

HUISMAN, Jef, Geoffrey A. CODD, Hans W. PAERL, Bas W. IBELINGS, Jolanda M.H. VERSPAGEN a Petra M. VISSER, 2018. Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology* [online]. **16**(8), 471–483. ISSN 17401534. Dostupné z: doi:10.1038/s41579-018-0040-1

JIANG, Liying, Benoit AIGRET, Wim M. DE BORGGRAEVE, Zdenek SPACIL a Leopold L. ILAG, 2012. Selective LC-MS/MS method for the identification of BMAA from its isomers in biological samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. **403**(6), 1719–1730. ISSN 16182642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-012-5966-y

JIANG, Liying, Johan ERIKSSON, Sandra LAGE, Sara JONASSON, Shiva SHAMS, Martin MEHINE, Leopold L. ILAG a Ulla RASMUSSEN, 2014a. Diatoms: A novel source for the neurotoxin BMAA in aquatic environments. *PLoS ONE* [online]. **9**(1). ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0084578

JIANG, Liying, Nadezda KISELOVA, Johan ROSÉN a Leopold L. ILAG, 2014b. Quantification of neurotoxin BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) in seafood from Swedish markets. *Scientific Reports* [online]. **4**, 1–7. ISSN 20452322. Dostupné z: doi:10.1038/srep06931

JOHNSON, Holly E., Steven R. KING, Sandra A. BANACK, Christopher WEBSTER, Wilson J. CALLANAUPA a Paul Alan COX, 2008. Cyanobacteria (*Nostoc commune*) used as a dietary item in the Peruvian highlands produce the neurotoxic amino acid BMAA. *Journal of Ethnopharmacology* [online]. **118**(1), 159–165. ISSN 03788741. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2008.04.008

JONASSON, Sara, Johan ERIKSSON, Lotta BERNTZON, Zdeněk SPÁČCIL, Leopold L. ILAG, Lars O. RONNEVI, Ulla RASMUSSEN a Birgitta BERGMAN, 2010. Transfer of a cyanobacterial neurotoxin within a temperate aquatic ecosystem suggests pathways for human exposure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **107**(20), 9252–9257 [vid. 2019-11-14]. ISSN 00278424.

Dostupné z: doi:10.1073/pnas.09144171107

LAGE, Sandra, Heléne ANNADOTTER, Ulla RASMUSSEN a Sara RYDBERG, 2015. Biotransfer of β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) in a eutrophicated freshwater lake. *Marine Drugs* [online]. **13**(3), 1185–1201. ISSN 16603397.

Dostupné z: doi:10.3390/md13031185

LAGE, Sandra, Pedro R. COSTA, Teresa MOITA, Johan ERIKSSON, Ulla RASMUSSEN a Sara J. RYDBERG, 2014. BMAA in shellfish from two Portuguese transitional water bodies suggests the marine dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* as a potential BMAA source. *Aquatic Toxicology* [online]. **152**, 131–138. ISSN 18791514.

Dostupné z: doi:10.1016/j.aquatox.2014.03.029

LAGE, Sandra, Linnea STRÖM, Anna GODHE a Sara RYDBERG, 2016. The effect of exogenous β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) on the diatoms *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira weissflogii*. *Harmful Algae* [online]. **58**, 85–92. ISSN 18781470.

Dostupné z: doi:10.1016/j.hal.2016.08.005

LAMPERT, Winfried a Ulrich SOMMER, 2007. *Limnoecology: The Ecology of Lakes and Streams*. 2. vyd. ISBN 9780199213931.

LI, Aifeng, Yang HU, Jialiang SONG, Shuqin WANG a Longji DENG, 2018. Ubiquity of the neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine and its isomers confirmed by two different mass spectrometric methods in diverse marine mollusks. *Toxicon* [online]. **151**(July), 129–136.

ISSN 18793150. Dostupné z: doi:10.1016/j.toxicon.2018.07.004

LI, Aifeng, Jialiang SONG, Yang HU, Longji DENG, Ling DING a Meihui LI, 2016. New typical vector of neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) in the marine benthic ecosystem. *Marine Drugs* [online]. **14**(11). ISSN 16603397.

Dostupné z: doi:10.3390/md14110202

LI, Aifeng, Zhijia TIAN, Jing LI, Rencheng YU, Sandra Anne BANACK a Zhenyu WANG, 2010. Detection of the neurotoxin BMAA within cyanobacteria isolated from freshwater in China. *Toxicon* [online]. **55**(5), 947–953. ISSN 00410101.

Dostupné z: doi:10.1016/j.toxicon.2009.09.023

MAIN, Brendan J., Lee C. BOWLING, Matthew P. PADULA, David P. BISHOP, Simon M. MITROVIC, Gilles J. GUILLEMIN a Kenneth J. RODGERS, 2018. Detection of the suspected neurotoxin β -methylamino-L-alanine (BMAA) in cyanobacterial blooms from multiple water bodies in Eastern Australia. *Harmful Algae* [online]. **74**, 10–18.

ISSN 18781470. Dostupné z: doi:10.1016/j.hal.2018.03.004

MAIN, Brendan J. a Kenneth J. RODGERS, 2018. Assessing the Combined Toxicity of BMAA and Its Isomers 2,4-DAB and AEG In Vitro Using Human Neuroblastoma Cells. *Neurotoxicity Research* [online]. **33**(1), 33–42. ISSN 14763524.

Dostupné z: doi:10.1007/s12640-017-9763-4

MANOLIDI, Korina, Theodoros M. TRIANTIS, Triantafyllos KALOUDIS a Anastasia HISKIA, 2019. Neurotoxin BMAA and its isomeric amino acids in cyanobacteria and cyanobacteria-based food supplements. *Journal of Hazardous Materials* [online]. **365**, 346–365. ISSN 18733336. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2018.10.084

MASSERET, Estelle, Sandra BANACK, Farid BOUMÉDIÈNE, Eric ABADIE, Luc BRIENT, Fabrice PERNET, Raoul JUNTAS-MORALES, Nicolas PAGEOT, James METCALF, Paul COX, William CAMU, Gerard BESSON, Vincent BONNETERRE, Philippe COURATIER, Michel DRUET-CABANAC, Emmeline LAGRANGE, Benoit MARIN, Annick MEJEAN a Pierre M. PREUX, 2013. Dietary BMAA exposure in an amyotrophic lateral sclerosis cluster from southern France. *PLoS ONE* [online]. **8**(12), 1–9. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0083406

MERILUOTO, Jussi, Lisa SPOOF a Geoffrey A. CODD, 2017. *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis* [online]. 1. vyd. B.m.: John Wiley & Sons, Ltd. ISBN 9781119068686. Dostupné z: doi:10.1002/9781119068761

METCALF, James S., Sandra A. BANACK, Jaime LINDSAY, Louise F. MORRISON, Paul A. COX a Geoffrey A. CODD, 2008. Co-occurrence of β -N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid with other cyanobacterial toxins in British waterbodies, 1990-2004. *Environmental Microbiology* [online]. **10**(3), 702–708. ISSN 14622912.

Dostupné z: doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01492.x

METCALF, James S. a Geoffrey A. CODD, 2012. *Cyanotoxins* [online]. 1. vyd. B.m.: Springer Netherlands. ISBN 9789400738553.

Dostupné z: doi:10.1007/978-94-007-3855-3_24

MONDO, Kiyoo, Neil HAMMERSCHLAG, Margaret BASILE, John PABLO, Sandra A. BANACK a Deborah C. MASH, 2012. Cyanobacterial neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) in Shark Fins. *Marine Drugs* [online]. **10**(2), 509–520. ISSN 16603397.

Dostupné z: doi:10.3390/md10020509

MOWE, Maxine A. D., Simon M. MITROVIC, Richard P. LIM, Ambrose FUREY a Darren C. J. YEO, 2007. REVIEW Tropical cyanobacteria blooms: a review [online].

Dostupné z: doi:10.4081/jlimnol.2014.

MURCH, Susan J., Paul A. COX a Sandra A. BANACK, 2004. A mechanism for slow release of biomagnified cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease in Guam. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online].

101(33), 12228–12231. ISSN 00278424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0404926101

NALLEY, Jakob O., Daniel R. O'DONNELL a Elena LITCHMAN, 2018. Temperature effects on growth rates and fatty acid content in freshwater algae and cyanobacteria. *Algal Research* [online]. **35**(September), 500–507. ISSN 22119264.

Dostupné z: doi:10.1016/j.algal.2018.09.018

OLIVER, Roderick L., David P. HAMILTON, Justin D. BROOKES a George G. GANF, 2012. *Physiology, blooms and prediction of planktonic cyanobacteria* [online]. 1. vyd. B.m.: Springer Netherlands. ISBN 9789400738553.

Dostupné z: doi:10.1007/978-94-007-3855-3_6

PABLO, John, Sandra A. BANACK, Paul A. COX, Tricia E. JOHNSON, Spyridon PAPAPETROPOULOS, Walter G. BRADLEY, Andreas BUCK a Deborah C. MASH, 2009. Cyanobacterial neurotoxin BMAA in ALS and Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica* [online]. **120**(4), 216–225. ISSN 00016314.

Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0404.2008.01150.x

PAERL, Hans W. a Valerie J. PAUL, 2012. Climate change: Links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water Research* [online]. **46**(5), 1349–1363. ISSN 18792448.

Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2011.08.002

PURDIE, Esme L., James S. METCALF, Shereen KASHMIRI a Geoffrey A. CODD, 2009a. Toxicity of the cyanobacterial neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine to three aquatic animal species. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* [online]. **10**(SUPPL. 2), 67–70. ISSN 17482968. Dostupné z: doi:10.3109/17482960903273551

PURDIE, Esme L., Syakirah SAMSUDIN, Brian F. EDDY a Geoffrey A. CODD, 2009b. Effects of the cyanobacterial neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine on the early-life stage development of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology* [online]. **95**(4), 279–284. ISSN 0166445X. Dostupné z: doi:10.1016/j.aquatox.2009.02.009

QUESADA, Antonio a Warwick F. VINCENT, 2012. *Cyanobacteria in the cryosphere: Snow, ice and extreme cold* [online]. 1. vyd. B.m.: Springer Netherlands.

ISBN 9789400738553. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-007-3855-3_14

RÉVEILLON, Damien, Eric ABADIE, Véronique SÉCHET, Estelle MASSERET, Philipp HESS a Zouher AMZIL, 2015. β -N-methylamino-l-alanine (BMAA) and isomers: Distribution in different food web compartments of Thau lagoon, French Mediterranean Sea. *Marine Environmental Research* [online]. **110**, 8–18. ISSN 18790291.

Dostupné z: doi:10.1016/j.marenvres.2015.07.015

RÉVEILLON, Damien, Véronique SÉCHET, Philipp HESS a Zouher AMZIL, 2016. Production of BMAA and DAB by diatoms (*Phaeodactylum tricorutum*, *Chaetoceros* sp., *Chaetoceros calcitrans* and, *Thalassiosira pseudonana*) and bacteria isolated from a diatom culture. *Harmful Algae* [online]. **58**, 45–50. ISSN 18781470.

Dostupné z: doi:10.1016/j.hal.2016.07.008

ROMO, Susana, Juan SORIA, Francisca FERNÁNDEZ, Youness OUAHID a Ángel BARÓN-SOLÁ, 2013. Water residence time and the dynamics of toxic cyanobacteria. *Freshwater Biology* [online]. **58**(3), 513–522. ISSN 00465070.

Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2427.2012.02734.x

SALOMONSSON, Matilda L., Elisabeth FREDRIKSSON, Anders ALFJORDEN, Mikael HEDELAND a Ulf BONDESSON, 2015. Seafood sold in Sweden contains BMAA: A study of free and total concentrations with UHPLC-MS/MS and dansyl chloride derivatization. *Toxicology Reports* [online]. **2**, 1473–1481. ISSN 22147500.

Dostupné z: doi:10.1016/j.toxrep.2015.11.002

SCHINDLER, David W., 2006. Recent advances in the understanding and management of eutrophication. *Limnology and Oceanography* [online]. **51**(1 II), 356–363. ISSN 00243590.

Dostupné z: doi:10.4319/lo.2006.51.1_part_2.0356

SCHINDLER, David W., Robert E. HECKY, David L. FINDLAY, Michael P. STANTON, Brian R. PARKER, Michael J. PATERSON, Kenneth G. BEATY, Mark LYNG a Susan E.M. KASIAN, 2008. Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: Results of a 37-year whole-ecosystem experiment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **105**(32), 11254–11258.

ISSN 00278424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0805108105

SCOTT, Laura L., Simoné DOWNING a Tim DOWNING, 2018. Potential for dietary exposure to β -N-methylamino-L-alanine and microcystin from a freshwater system. *Toxicon* [online]. **150**, 261–266. ISSN 18793150. Dostupné z: doi:10.1016/j.toxicon.2018.06.076

SCOTT, Laura L., Simoné DOWNING, Richard R. PHELAN a Tim G. DOWNING, 2014. Environmental modulation of microcystin and β -N-methylamino-l-alanine as a function of nitrogen availability. *Toxicon* [online]. **87**, 1–5. ISSN 18793150.

Dostupné z: doi:10.1016/j.toxicon.2014.05.001

SCOTT, Laura L. a Timothy G. DOWNING, 2018. A single neonatal exposure to BMAA in a rat model produces neuropathology consistent with neurodegenerative diseases. *Toxins* [online]. **10**(1), 18–23. ISSN 20726651. Dostupné z: doi:10.3390/toxins10010022

SPENCER, Peter S., Peter B. NUNN, Jacques HUGON, Albert C. LUDOLPH, Stephen M. ROSS, Dwijendra N. ROY a Richard C. ROBERTSON, 1987. Guam amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia linked to a plant excitant neurotoxin. *Science* [online]. **237**(4814), 517–522. ISSN 00368075. Dostupné z: doi:10.1126/science.3603037

SZÚ, 2005. *Metodické doporučení SZÚ – Národního referenčního centra pro pitnou vodu k ukazateli microcystin-LR a vyhláše č. 252/2004 Sb.* [online]. Dostupné z: <http://www.sinice.cz/res/file/docs/microcystin-metodickedoporuceni.pdf>

VEGA, Armando a Arthur E. BELL, 1967. α -Amino- β -methylaminopropionic acid, a new amino acid from seeds of *Cycas circinalis*. *Phytochemistry* [online]. **6**(5), 759–762. ISSN 00319422. Dostupné z: doi:10.1016/S0031-9422(00)86018-5

VIOLI, Jake P., Jordan A. FACEY, Simon M. MITROVIC, Anne COLVILLE a Kenneth J. RODGERS, 2019a. Production of β -methylamino-L-alanine (BMAA) and its isomers by freshwater diatoms. *Toxins* [online]. **11**(9). ISSN 20726651. Dostupné z: doi:10.3390/toxins11090512

VIOLI, Jake P., Simon M. MITROVIC, Anne COLVILLE, Brendan J. MAIN a Kenneth J. RODGERS, 2019b. Prevalence of β -methylamino-L-alanine (BMAA) and its isomers in freshwater cyanobacteria isolated from eastern Australia. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online]. **172**(January), 72–81. ISSN 10902414. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecoenv.2019.01.046

WAGNER, Carola a Rita ADRIAN, 2009. Cyanobacteria dominance: Quantifying the effects of climate change. *Limnology and Oceanography* [online]. **54**(6 PART 2), 2460–2468. ISSN 00243590. Dostupné z: doi:10.4319/lo.2009.54.6_part_2.2460

WANG, Chao, Chen YAN, Jiangbing QIU, Chao LIU, Yeju YAN, Ying JI, Guixiang WANG, Hongju CHEN, Yang LI a Aifeng LI, 2021. Food web biomagnification of the neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine in a diatom-dominated marine ecosystem in China. *Journal of Hazardous Materials* [online]. **404**(PB), 124217. ISSN 18733336. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2020.124217

WANG, Shuqin, Jiangbing QIU, Mingyue ZHAO, Fangxiao LI, Rencheng YU a Aifeng LI, 2020. Accumulation and distribution of neurotoxin BMAA in aquatic animals and effect on the behavior of zebrafish in a T-maze test. *Toxicon* [online]. **173**(July 2019), 39–47. ISSN 18793150. Dostupné z: doi:10.1016/j.toxicon.2019.11.005

WHITING, Marjorie G., 1963. Toxicity of cycads. *Economic Botany* [online]. **17**(4), 270–302. ISSN 00130001. Dostupné z: doi:10.1007/BF02860136

WHITTON, Brian A., 2012. *Ecology of cyanobacteria II: Their diversity in space and time* [online]. 1. vyd. B.m.: Springer Netherlands. ISBN 9789400738553.

Dostupné z: doi:10.1007/978-94-007-3855-3

WHO, 2003. *Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR in drinking water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality*. [online].

Dostupné z: https://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/guidelines/chemicals/microcystin/en/

WHO, 2015. *Management of Cyanobacteria in drinking-water supplies: Information for regulators and water suppliers* [online].

Dostupné z: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/153970>

WU, Xiang, Hao WU, Xiaoxiao GU, Rongfei ZHANG, Jinyun YE a Qiang SHENG, 2019.

Biomagnification characteristics and health risk assessment of the neurotoxin BMAA in freshwater aquaculture products of Taihu Lake Basin, China. *Chemosphere* [online]. **229**, 332–340. ISSN 18791298. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2019.04.210

ZANCHETT, Giliane a Eduardo C. OLIVEIRA-FILHO, 2013. Cyanobacteria and cyanotoxins: From impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. *Toxins* [online]. **5**(10), 1896–1917. ISSN 20726651.

Dostupné z: doi:10.3390/toxins5101896

ZÁRUBA, Kamil, 2016. *Analytická chemie 1. díl*. 1. vyd. Praha: VŠCHT.

ISBN 978-80-7080-950-1.

8 Seznam použitých zkratek a symbolů

2,4-DAB	kyselina 2,4-diaminomásečná
AD	Alzheimerova nemoc
AEG	N-(2-aminoethyl)glycin
ALS	amyotrofická laterální skleróza
ALS/PDC	komplex amyotrofická laterální skleróza/Parkinsonova demence
BAMA	β -amino-N-methylalanin
BMAA	β -N-methylamino-L-alanin
DNRA	disimilační redukce dusičnanů na amonium
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
Chl a	chlorofyl- a
LC-FLD	kapalinová chromatografie s fluorescenční detekcí
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí
LC-MS/MS	kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí
N-NH $_3$	amoniakální dusík
N-NO $_3$	dusičnanový dusík
PD	Parkinsonova nemoc
P-PO $_4$	fosforečnanový fosfor
SZÚ	Státní zdravotnický ústav
TN	celkový dusík
TP	celkový fosfor
UV	ultrafialové záření
WHO	Světová zdravotnická organizace