

TEST INHIBICE POHYBLIVOSTI

Daphnia magna Straus
(Cladocera, Crustacea)

TEST AKUTNÍ TOXICITY

Brózman Ondřej
Kolářová Edita



OBEČNÉ INFORMACE

☐ Norma:

- ČSN EN ISO 6341:1996 přijatá CEN 28.1.1996

☐ Princip:

- Zjištění akutní toxicity látek pro planktonní organismy
- Stanovení koncentrace, která **imobilizuje 50%** exponovaných jedinců *Daphnia magna* za 24/48 hodin (**24/ 48h-EC50_i**)

☐ Provedení: *jedno nebo dvoustupňové provedení*

- Předběžný test (rozsah koncentrací)
- Vlastní test (přesná hodnota 24/48h-EC50_i nebo koncentrace odpovídající imobilizaci 0% a 100%)

*** S vlastním testem současně série kontrolních roztoků!!!**

PODMÍNKY TESTU

□ *Daphnia magna* Straus:

- Nejméně 3. generace, získaná acyklickou partenogenezí
- Stáří testovaných jedinců **maximálně 24h!!!**

□ Fotoperioda:

- Skladování roztoků a samotný test prováděny při **fotoperiodě 16h světla/8h tmy**
- U látek podléhajícím fotodegradaci je skladování a testování prováděno ve tmě

□ Ovzduší:

- **Teplota 20°C ± 2°C**
- Prosté výparů nebo prachu toxických pro *Daphnia magna*

PODMÍNKY TESTU

□ Chemikálie:

- Ředění chemikálií ve **vodě deionizované, popř. destilované nebo demineralizované** s měrnou elektrickou vodivostí maximálně $0,1 \mu\text{S/m}$
- Hodnota **pH ředící vody $7,8 \pm 2$**
- Suma koncentrací **Ca, Mg** v roztoku je **$250 \text{ mg/l} \pm 25 \text{ mg/l}$ v poměru 4:1**
- Koncentrace rozpuštěného **kyslíku nad 7 mg/l**
- Možnost využití rozpouštědel s nízkou toxicitou pro Dafnie, konečná **koncentrace rozpouštědla** v roztoku **max. $0,1 \text{ ml/l}$**
- Kultivační médium vhodné připravit den před testováním

TESTOVÁNÍ

- ❑ Do řady zkušebních nádob (nejčastěji 100 ml) se odměří **zvyšující se objemy koncentrace** testované látky a doplní ředící vodou
- ❑ Přidá se *Daphnia magna*, max. počet **20 jedinců na nádobu** a max. hustota **5 jedinců na 10 ml roztoku**
- ❑ **Kontrolní sada pro každou řadu zkoušek!!!**
- ❑ Během zkoušky se organismy nekrmí a teplota se udržuje na $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
- ❑ **U kontroly nesmí být imobilizace větší než 10% !!!**
- ❑ Na konci zkušební doby (24/48h) se spočítají **mobilní a imobilní jedinci** (nejsou schopni se po 15 vteřinách od rozmíchání samovolně rozplavat)

VYHODNOCENÍ

- ❑ Spočítání mobilních a imobilních jedinců v jednotlivých koncentracích testované látky
- ❑ Výpočet procenta imobilizovaných jedinců:

$$\% = \left[\frac{\text{počet imobilizovaných jedinců}}{\text{celkový počet jedinců}} \right] \times 100$$

- ❑ Grafickou interpolací je zjištěna 24/48h-EC50i
- ❑ Výsledek je pro odpadní vody vyjádřen v ml/l a pro chemické látky v mg/l
- ❑ **Jednotlivé hodnoty EC50 se nesmí lišit o více jak 30%!!!**

PŘÍKLAD

□ Předběžný test:

Ředění [%]	Počet mobilních jedinců
90	0
35	0
10	0
3,5	0
1	0
0,35	5
0,1	5
0,035	5
0,01	5

→ rozsah ředění,
za kterých má být
test proveden je od
0,35% do 1%

PŘÍKLAD

☐ Vlastní test:

Ředění %	Mobilní <i>Daphnia Magna</i> v baňce (počet jedinců)				Počet jedinců T	P %
	1	2	3	4	celkem	
0,00	5	5	5	5	20	0
(kontrola)	5	5	3	4	17	15
0,35	2	3	4	3	12	40
0,48	3	1	1	2	7	65
0,62	1	0	2	1	4	80
0,80	0	1	0	0	1	95
1,00						

T – počet mobilních jedinců *Daphnia magna* při každé koncentraci na konci zkoušky

P – procento imobilizovaných jedinců *Daphnia magna* při každé koncentraci