



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

Hodnocení ekologických rizik

04 – Hodnocení účinků

Mgr. Jana Vašíčková, Ph.D.

vasickova@recetox.muni.cz

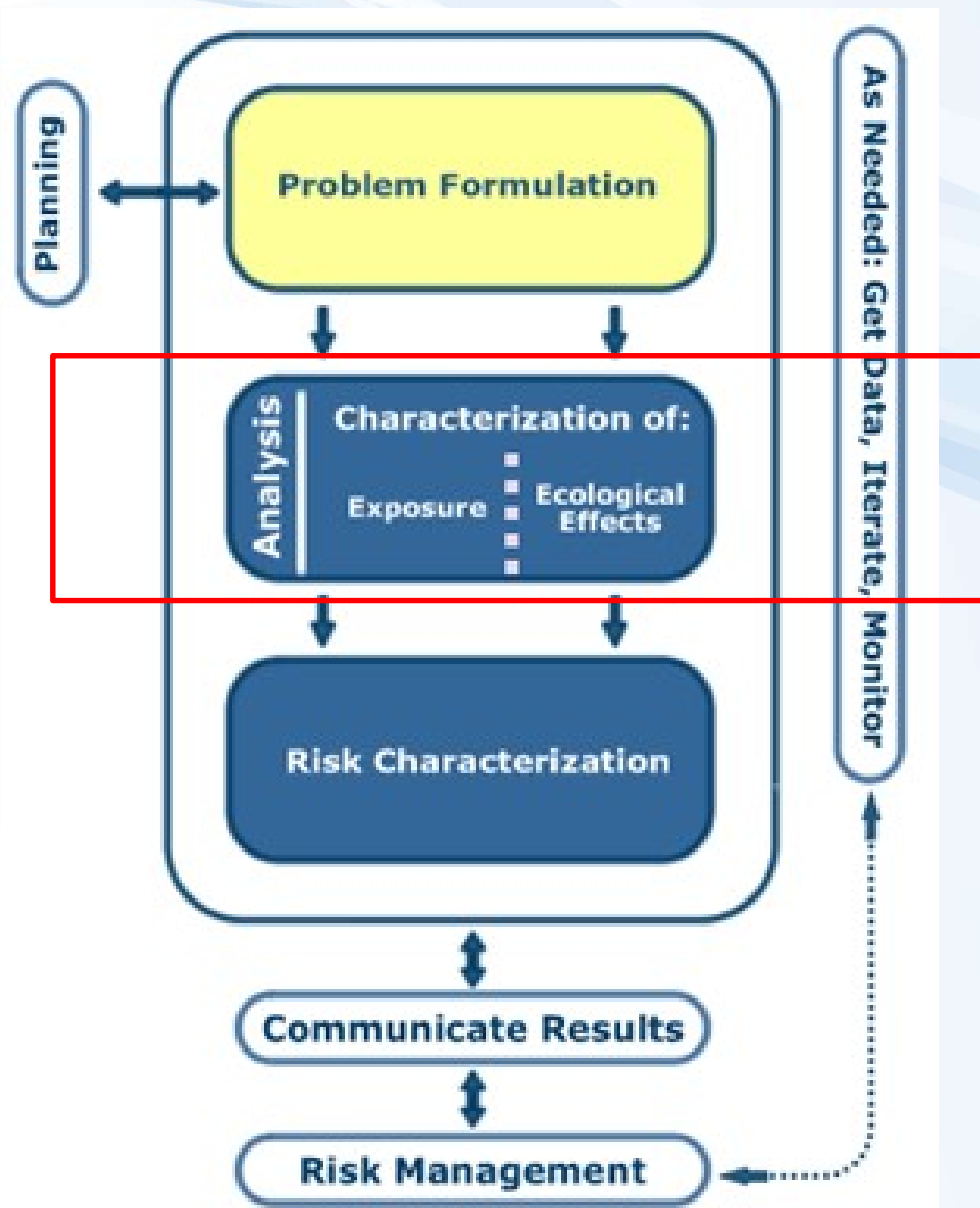
Osnova

Hodnocení účinků:

- Obecné zákonitosti
- Závislosti dávka - odpověď
- Testy toxicity - vodní, sedimentové a akvatické testy
- Hodnocení účinků - populace, ekosystémy



Hodnocení účinků



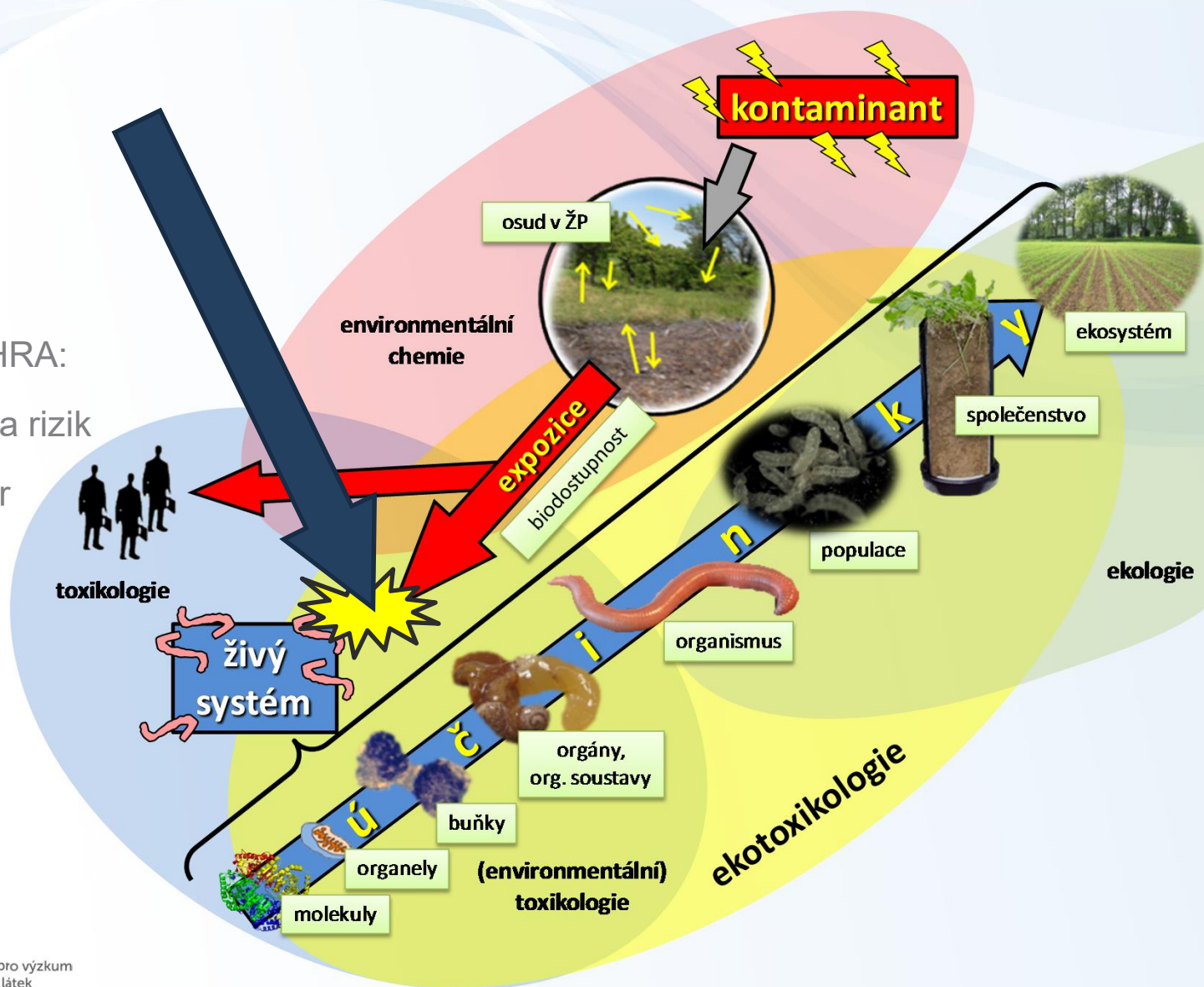
Fáze Analýzy rizik

- Analýza je proces, který zkoumá dvě hlavní složky rizika, expozice a účinků a jejich vztahy mezi sebou navzájem
- Cílem je poskytnout data nezbytné pro stanovení nebo předpovídání ekologické odezvy na stresory za podmínek expozice
- Produktem fáze analýzy jsou souhrnné profily, které popisují expozici a vztah mezi stresorem a odpovědí.
- Tyto profily tvoří základ pro odhad a popis rizika v charakterizaci rizik.
- Průběh fáze analýzy:
 - Selektace dat, která budou použita na základě jejich užitečnosti pro vyhodnocení hypotéz
 - Analýza expozice - zkoumání zdroje stresorů, distribuci stresorů v životním prostředí a míru společného výskytu nebo kontakt
 - **Analýza dopadu** - zkoumání vztahu stresor-odpověď, důkazy kauzality a vztah mezi měřenými efekty a hodnocenými endpointy



Expozice v ekotoxikologii a v EcoRA

expoze v HHRA:
C8580 Analýza rizik
Dr. Pavel Čupr



Chemikálie v prostředí



Hladiny, osud, procesy



Biodostupnost



Chemikálie v organismu
biomonitoring



Toxikokinetika

Biotransformace, bioaktivace, metabolismus, vylučování ...

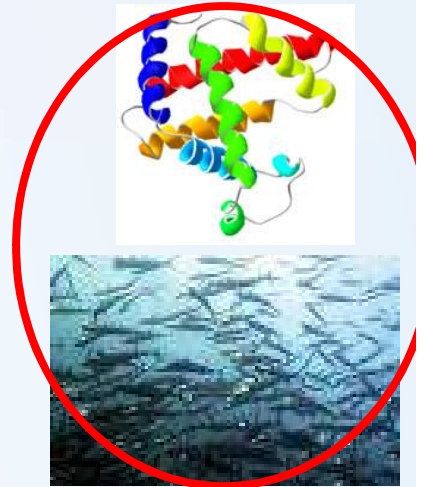
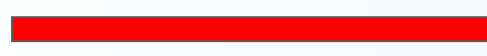
Cílové místo

“Efekt”

“Expozice”

akutní

chronická



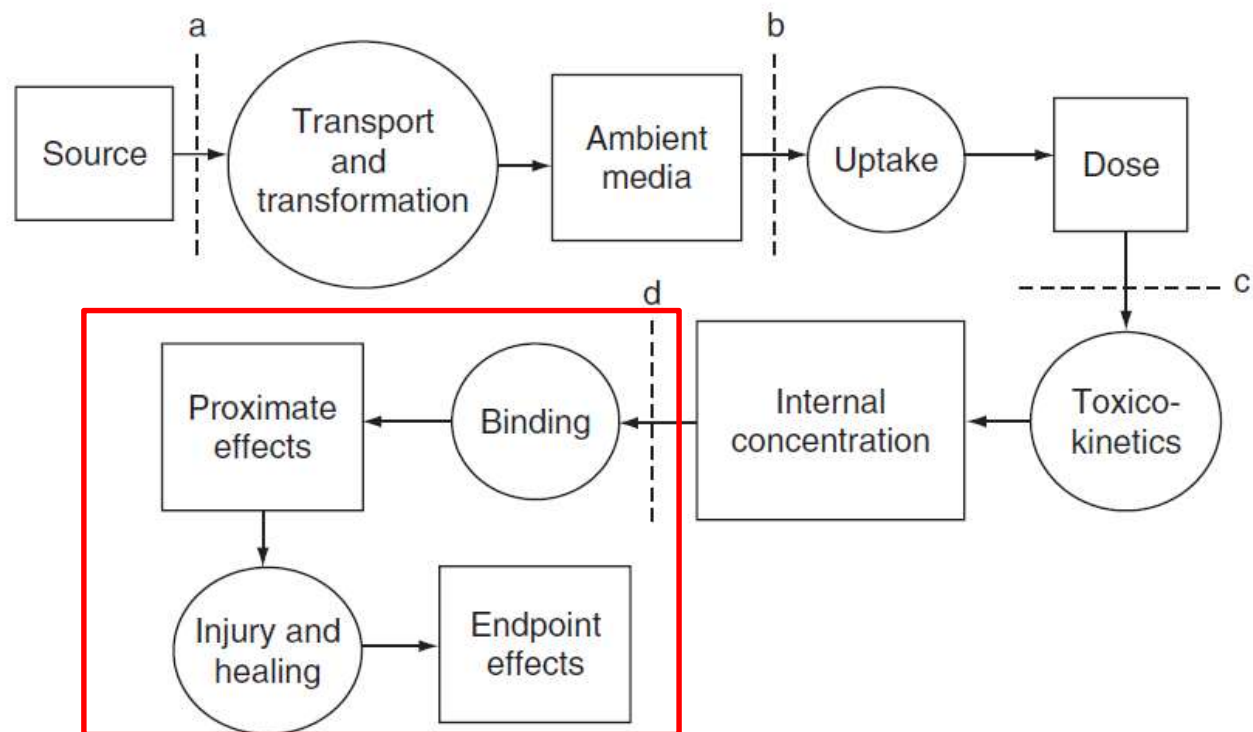


FIGURE 17.1 Generic conceptual model of toxicological risks to organisms, showing four points (*dashed lines [a–d]*) at which the causal chain may be divided into exposure and effects. The model is presented as alternating states (*rectangles*) and processes (*ovals*).

Hodnocení účinků

- Hodnocením účinků se rozumí posouzení vlivu stresoru (a jeho různé míry působení, různé doby a časování) na živý organismus - receptor.
- Nezbytným zjištěním je jaký účinek má kontaminant na sledovaný receptor
- Hodnocený biologický receptor = biologický systém, který bude využit jednak k identifikaci existujících nebo potenciálních účinků stresoru (fáze hodnocení účinků) a na kterém bude dokumentovaná nebezpečnost stresoru pro hodnocené zájmové území a jeho ekosystémy (fáze formulace problému nebo hodnocení účinků).
- Před vlastním posuzováním účinku je nutné definovat (ve fázi formulace problému EcoRA) organismy (receptory), pro které bude hodnocení účinku provedeno.



Základní kritéria pro výběr vhodných biologických receptorů

- Výběr indikátorových systémů pro daný environmentální problém musí probíhat podle standardizovaných postupů a musí být obhajitelný především jako reprezentativní pro hodnocenou situaci.
- Citlivost a způsob zastoupení vybraných modelů musí při hodnocení vylučovat falešně negativní výsledky, vybraná sada biologických receptorů musí vést k interpretacím závažným pro zájmové území a v něm zahrnuté ekosystémy.
- Hodnoceným biologickým receptorem myslíme biologický systém, který bude využit jednak k identifikaci existujících nebo potenciálních účinků stresoru a na kterém bude dokumentována nebezpečnost stresoru pro hodnocené zájmové území a jeho ekosystémy.
- Cílovým parametrem (endpointem) hodnocení je mině znak hodnoceného biologického systému, kterému je podřizena metodika hodnocení, a který je jednoznačně parametrizován.
- Jeden typ modelového biologického receptoru může být současně hodnocen více cílovými parametry nebo tyto mohou být členěny na primární a sekundární dle priority poskytované informace.



Hodnocení účinků

- Bude účinek téže dávky u daného druhu stejný organismu vždy stejný?
- Liší se v citlivosti jednotlivé druhy mezi sebou?
- Jaký vliv na účinek mají další ekologické faktory?

- Typ účinku se liší jednak podle chemické látky, jednak podle sledovaného receptoru
 - Nutno vybrat vhodný receptor
 - účinek kontaminantu odpovídajícím způsobem charakterizovat a kvantifikovat

- Hodnocení účinků kvantitativně spojuje koncentrace kontaminantů se škodlivými účinky v receptorech, dále podává informace o vztahu dávka odpověď.



Vztahy Dávka - Odpověď

Toxikant působí škodlivý efekt v biologickém systému

- po vstupu do prostředí dosahuje látka určitých **koncentrací** v prostředí
- toxický efekt je vyvolán **dávkou v těle** (působení koncentrace látky v těle po definovanou dobu – viz toxikodynamika)

Toxikologie – práce s dávkami v těle

mg/kg hmotnosti (mg/kg b.w. - *body weight*), mg/kg b.w./day

Ekotoxikologie – spíše práce s koncentracemi v prostředí
v prostředí měříme koncentrace ne dávky



Vztahy Dávka - Odpověď

Toxikant působí škodlivý efekt v biologickém systému

Příklady efektů?

- změna zdravotního stavu
- pokles příjmu potravy
- snížení reprodukční schopnosti
- mortalita

V experimentu se hodnotí **POZOROVATELNÝ (měřitelný) PARAMETR = ENDPOINT**

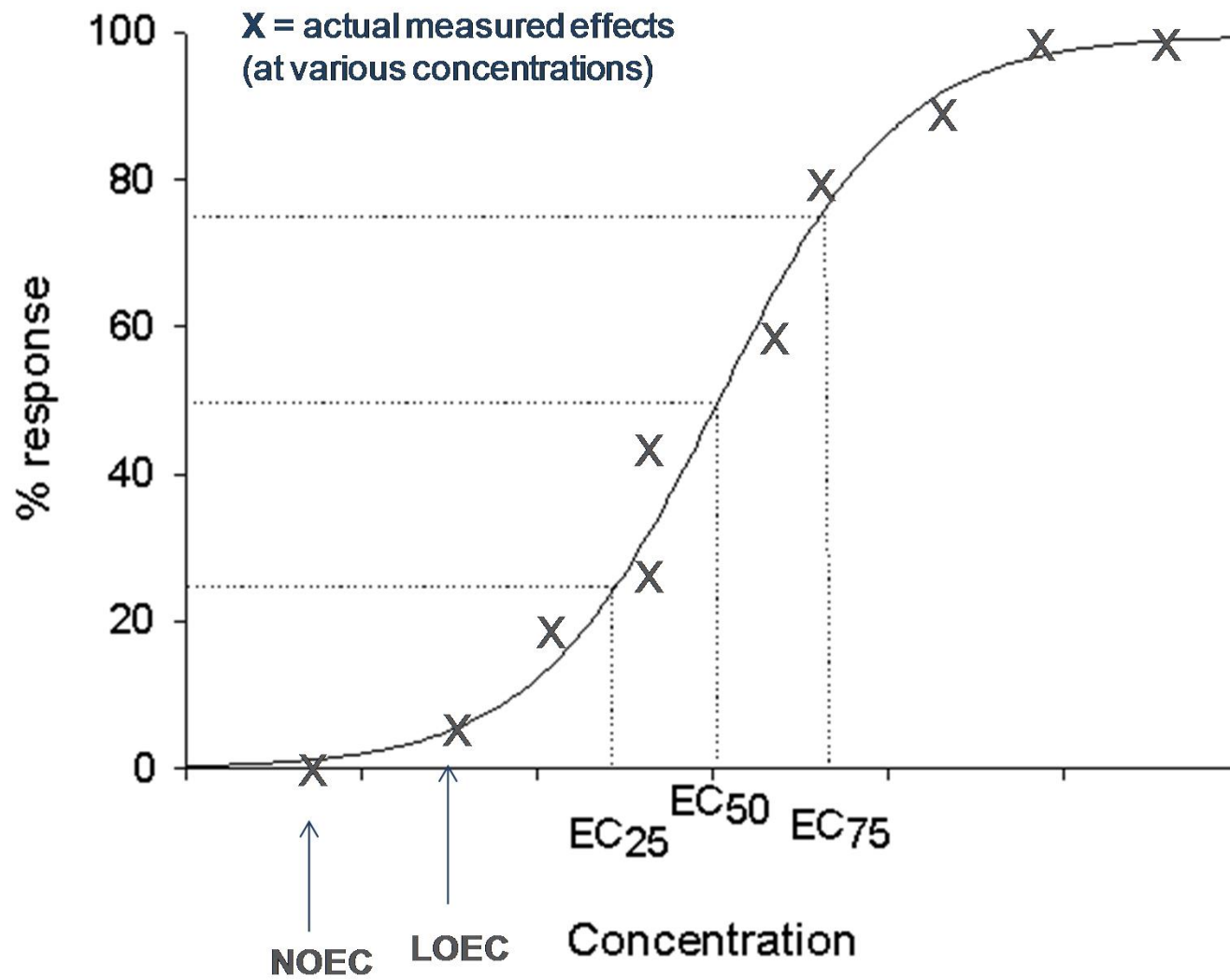
- *charakterizuje účinek a má k účinku jasný vztah*
- % přežívajících jedinců po působení dávky (efekt – mortalita)
- počty vajíček po působení dávky (efekt - reprodukční toxicita)

Endpoint může být „kvalitativní“ (nemusí být kvantifikovatelný):

- př. iritace na kůži ANO/NE
- kategorizace NEJHORŠÍ / LEPŠÍ / NEJLEPŠÍ



Concentration-Response Curve



Pro srovnání toxicity různých látek (vzorků) se užívají parametry odvozené z křivky dávka-odpověď

1) Parametry odvozené přímo z experimentálních dat

LOEC/L *Lowest Observable Effect Concentration*/L

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

NOEC/L *No Observable Effect Concentration/Level*

- podobně: koncentrace použitá v experimentu ...

Nedostatky - subjektivní

– závisí na zvolených koncentracích

– jiný experiment → jiné výsledky (koncentrační rozmezí, ředicí faktor rozdíl mezi koncentracemi 2x, 5x, 10x...)



Pro srovnání toxicity různých látek (vzorků) se užívají parametry odvozené z křivky dávka-odpověď

2) další parametry odvozené z křivky dávka – odpověď

EC_x (x=1,5,10,25,50,75,90,99 apod.)

- ne vždy je v experimentu dosaženo „přesně 5% efektu“

- parametry se počítají (z „modelované křivky“)

STANDARD - Hodnoty odvozené pro 50% efekt

- nejčastěji užívány pro srovnání toxicity (!)
- odhady v oblasti 50% efektů zatíženy nejmenší chybou

Parametry

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

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

EC₅₀ – koncentrace způsobující 50% efekt (E)

IC₅₀ – koncentrace způsobující 50% inhibici (I)



Metody hodnocení účinků



Obecné metody hodnocení účinku

- Tři obecné přístupy
 - Literární rešerše
 - Testování toxicity
 - Terénní studie



Literární rešerše

- Obrovské množství publikovaných a nepublikovaných informací o vztahu dávka-odpověď
 - Relativně rychlá a cenově dostupná cesta pro hodnocení existujících hladin kontaminantů a jejich potenciálních škodlivých účinků
 - Druhově specifické informace pro receptory z dané hodnocené oblasti jsou často nedostupné



Testování toxicity

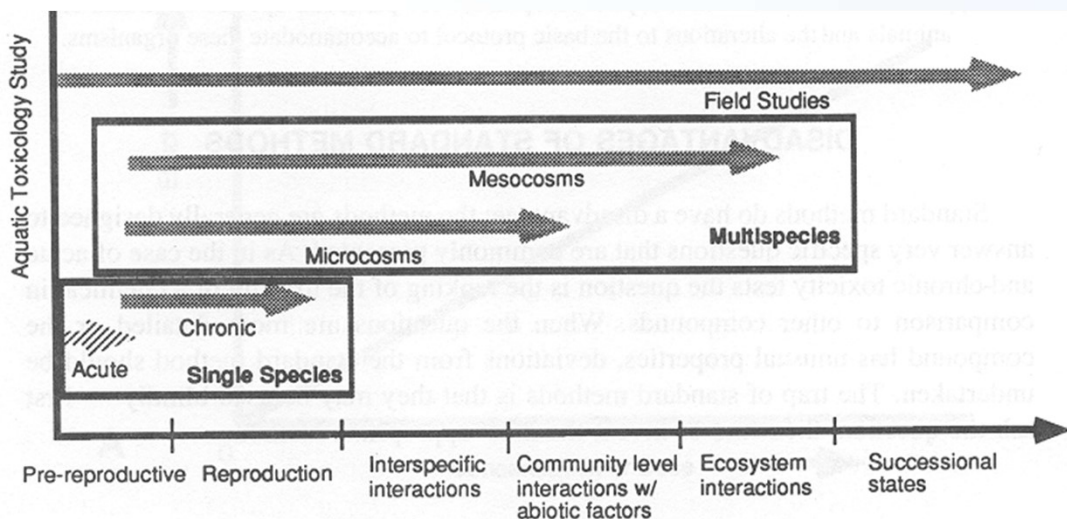
- Může získat údaje o indikaci potenciálních účinků a vytvářet tak spojení mezi kontaminanty a v terénu pozorovanými škodlivými ekologickými účinky
- Výběr testu by měl být založen na:
 - Typu habitatu
 - Zájmové složce prostředí
 - Voda, sediment, půda a složení (složení)(tvrdost, mechanické vlastnosti....)
 - Na základě definovaných receptorů (organismus, populace, společenstvo, ekosystém)
 - Hodnoceném endpointu (smrt organismu, snížení reprodukce, fekundity, počet jedinců)
 - Typu hodnoceného kontaminantu



METODY HODNOCENÍ EFEKTŮ

Praktické metody stanovení ekotoxicity

- laboratorní biotesty in vitro
- laboratorní biotesty in vivo - jednodruhové
- laboratorní mikrokosmy
- manipulované a kontrolované mezokosmy
- polní studie
- reálné ekosystémy



Roste obtížnost průkazu
KAUZALITY

Hodnocení efektů v ekotoxikologii

Cílem ekotoxikologických analýz je poznání efektů, které způsobuje přítomnost stresorů na organismy v prostředí

- suborganismální úroveň

- jednotlivé organismy

- populační efekty

- efekty ve společenstvech

- ekosystémové efekty

laboratoř

laboratoř

laboratoř
mikro/mezokosmy

mikro/mezokosmy
polní studie
terénní pozorování

terénní pozorování

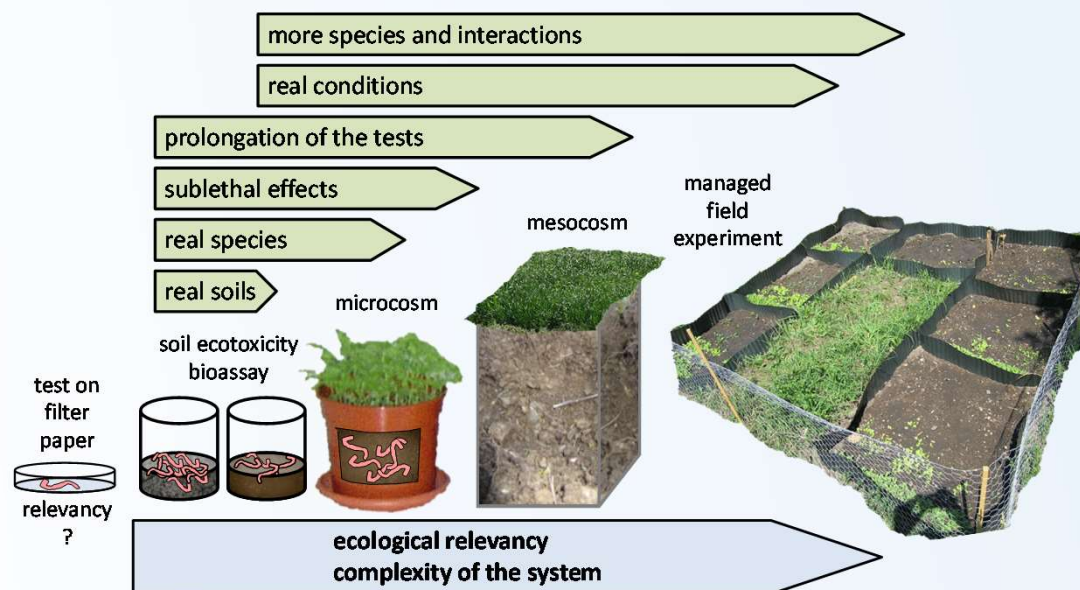
ekologická reálnost, relevance

obtížnost stanovení



Testování toxicity

- Laboratorní a terénní metody
 - Měří účinky u endpointů- přežití, růst, reprodukce
 - Může testovat individuální kontaminanty nebo složky prostředí obsahující směsi kontaminantů
 - Akutní a chronické testy
 - Akvatické, terestrické a mikrobiální testy
 - Endpoints zahrnují mortalitu, snížení reprodukce, snížení růstu, genetické poškození



Ekotoxikologické biotesty

"Experimentální (zpravidla laboratorní) metody stanovení toxického působení stresorů (toxických látek) na přírodní organismy"

- 1) Standardní biotesty
- 2) Alternativní biotesty
- 3) Další biotesty (*specifické mechanismy, in vitro testy*)

4) Testy procesů (*biodegradabilita, bioakumulace ...*)

5) Testy orgánové toxicity s laboratorními zvířaty
obratlovci, savci "humánní toxikologie"

Laboratorní
ekotoxikologické
biotesty

6) Experimentální mikro a mezokosmy

7) Polní studie

In situ
hodnocení
efektů



Ekotoxikologické biotesty

- **Nástroje** pro hodnocení účinků:
 - nejběžnější, nejpoužívanější, nejvíce propracovaný systém
- **Standardní nástroje**
 - Jednodruhové → jeden konkrétní kmen → standardní jedinci (uniformní věk, velikost apod.)
 - Zcela optimální podmínky
 - Potrava, teplota, pH, světlo
 - Bez dalšího biotického stresu (predátoři, infekce..)

Hlavním požadavkem ekotoxikologické studie je

průkaz KAUZALITY mezi expozicí (látkou) a efektem

(= nejčastěji průkaz „jak se toxicita mění s dávkou“ – dávka/odpověď)



Ekotoxikologické biotesty

- Jaké vlastnosti má mít „modelový“ organismus pro standardizovaný biotest ?
 - snadná dostupnost (*laboratorní kultury, komerční dostupnost ...*)
 - snadné uchování a chov v laboratorních podmínkách do dostatečných množství pro experimenty (rychlý reprodukční cyklus)
 - Známá biologie druhu a genetika příslušné kultury y
 - jsou prostudovány relativní citlivosti druhu / kultury k různým třídám toxických látek
 - citlivost druhu by měla být dobrým reprezentantem příslušné skupiny organismů
 - *Daphnia* → korýši / bezobratlí
 - *Zebřička* → kaprovité ryby / obratlovci



Aquatic organisms

Test No. 201: Alga, Growth Inhibition Test	11 July 2006
Test No. 221: Lemna sp. Growth Inhibition Test	11 July 2006
Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test	23 Nov 2004
Test No. 211: Daphnia magna Reproduction Test	16 Oct 2008
Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test	17 July 1992
Test No. 204: Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study	04 Apr 1984
Test No. 210: Fish, Early-Life Stage Toxicity Test	17 July 1992
Test No. 212: Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages	21 Sep 1998
Test No. 215: Fish, Juvenile Growth Test	21 Jan 2000
Test No. 229: Fish Short Term Reproduction Assay	08 Sep 2009
Test No. 230: 21-day Fish Assay	08 Sep 2009
Test No. 231: Amphibian Metamorphosis Assay	08 Sep 2009

Sediment organisms

Test No. 218: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment	23 Nov 2004
Test No. 219: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Water	23 Nov 2004
Test No. 233: Sediment-Water Chironomid Life-Cycle Toxicity Test Using Spiked Water or Spiked Sediment	23 July 2010
Test No. 225: Sediment-Water Lumbriculus Toxicity Test Using Spiked Sediment	15 Oct 2007



Soil organisms

Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test	17 Aug 2006
Test No. 227: Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test	17 Aug 2006
Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests	04 Apr 1984
Test No. 220: Enchytraeid Reproduction Test	23 Nov 2004
Test No. 222: Earthworm Reproduction Test (<i>Eisenia fetida</i>/<i>Eisenia andrei</i>)	23 Nov 2004
Test No. 228: Determination of Developmental Toxicity of a Test Chemical to Dipteran Dung Flies (<i>Scathophaga stercoraria</i> L. (<i>Scathophagidae</i>), <i>Musca autumnalis</i> De Geer (<i>Muscidae</i>))	16 Oct 2008
Test No. 232: Collembolan Reproduction Test in Soil	08 Sep 2009
Test No. 226: Predatory mite (<i>Hypoaspis</i> (<i>Geolaelaps</i>) <i>aculeifer</i>) reproduction test in soil	16 Oct 2008
Test No. 216: Soil Microorganisms: Nitrogen Transformation Test	21 Jan 2000
Test No. 217: Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test	21 Jan 2000

Other tests

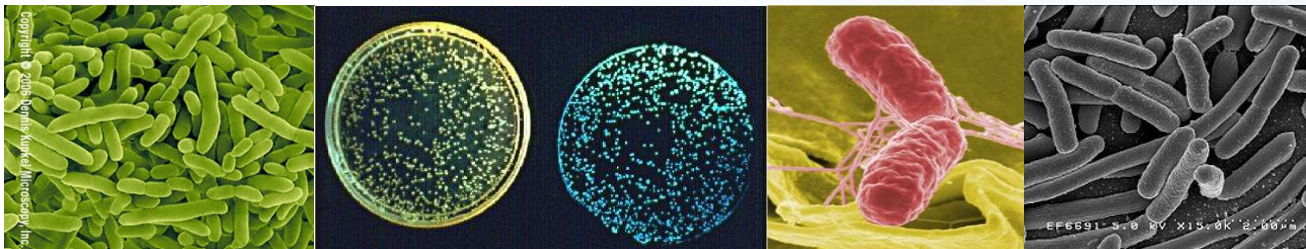
Test No. 213: Honeybees, Acute Oral Toxicity Test	21 Sep 1998
Test No. 214: Honeybees, Acute Contact Toxicity Test	21 Sep 1998
Test No. 205: Avian Dietary Toxicity Test	04 Apr 1984
Test No. 206: Avian Reproduction Test	04 Apr 1984
Test No. 223: Avian Acute Oral Toxicity Test	23 July 2010





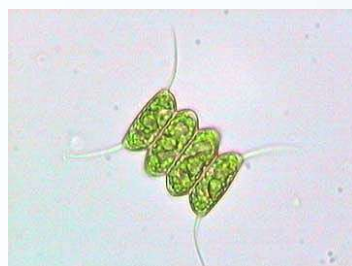
Aquatic microorganisms

ISO 10712:1995	Water quality -- <u>Pseudomonas putida growth inhibition test</u> (Pseudomonas cell multiplication inhibition test)
ISO 11348-1:2007	Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water samples on the <u>light emission of Vibrio fischeri</u> (Luminescent bacteria test) -- Part 1: Method using freshly prepared bacteria
ISO 11348-2:2007	Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test) -- Part 2: Method using liquid-dried bacteria
ISO 11348-3:2007	Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test) -- Part 3: Method using freeze-dried bacteria
ISO 13641-1:2003	Water quality -- Determination of inhibition of gas production of anaerobic bacteria -- Part 1: General test
ISO 13641-2:2003	Water quality -- Determination of inhibition of gas production of anaerobic bacteria -- Part 2: Test for low biomass concentrations
ISO 13829:2000	Water quality -- Determination of the genotoxicity of water and waste water using the <u>umu-test</u>
ISO 16240:2005	Water quality -- Determination of the genotoxicity of water and waste water -- Salmonella/microsome test (<u>Ames test</u>)
ISO/DIS 11350	Water quality -- Determination of the genotoxicity of water and waste water -- Salmonella/microsome fluctuation test (Ames fluctuation test)
ISO 15522:1999	Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water constituents on the growth of activated sludge microorganisms
ISO 21338:2010	Water quality -- Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment, other solids and coloured samples on the light emission of Vibrio fischeri (<u>kinetic luminescent bacteria test</u>)
ISO 8192:2007	Water quality -- Test for inhibition of oxygen consumption by activated sludge for carbonaceous and ammonium oxidation
ISO 9509:2006	Water quality -- Toxicity test for assessing the inhibition of nitrification of activated sludge microorganisms



Aquatic plants

ISO 20079:2005	Water quality -- Determination of the toxic effect of water constituents and waste water on duckweed (<i>Lemna minor</i>) -- <u>Duckweed growth inhibition test</u>
ISO 8692:2004	Water quality -- Freshwater <u>algal growth inhibition test</u> with unicellular green algae
ISO/CD 16191	Water quality - Determination of the toxic effect of sediment and soil on the growth behaviour of <i>Myriophyllum aquaticum</i> - <u>Myriophyllum test</u>
ISO 10253:2006	Water quality -- Marine algal growth inhibition test with <i>Skeletonema costatum</i> and <i>Phaeodactylum tricoratum</i>
ISO 10710:2010	Water quality -- Growth inhibition test with the marine and brackish water macroalga <i>Ceramium tenuicorne</i>
ISO 14442:2006	Water quality -- Guidelines for algal growth inhibition tests with poorly soluble materials, volatile compounds, metals and waste water
ISO/DIS 13308	Water quality -- Toxicity test based on reproduction inhibition of the green macroalga <i>Ulva pertusa</i>
ISO/TR 11044:2008	Water quality -- Scientific and technical aspects of batch algae growth inhibition tests





Aquatic invertebrates

ISO 6341:1996	Water quality -- Determination of the inhibition of the mobility of <u>Daphnia magna</u> Straus (Cladocera, Crustacea) -- <u>Acute toxicity test</u>
ISO 10706:2000	Water quality -- Determination of <u>long term toxicity of substances to Daphnia magna</u> Straus (Cladocera, Crustacea)
ISO/DIS 14380	Water quality -- Determination of the <u>acute toxicity to Thamnocephalus platyurus</u> (Crustacea, Anostraca)
ISO/CD 16303	Water quality -- Determination of toxicity of <u>fresh water sediments using Hyalella azteca</u>
ISO 10872:2010	Water quality -- Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and <u>reproduction of Caenorhabditis elegans</u> (Nematoda)
ISO 16712:2005	Water quality -- Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediment to amphipods
ISO 20665:2008	Water quality -- Determination of chronic toxicity to Ceriodaphnia dubia
ISO 20666:2008	Water quality -- Determination of the chronic toxicity to Brachionus calyciflorus in 48 h
ISO 14669:1999	Water quality -- Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea)
ISO/DIS 14371	Water quality -- Determination of freshwater-sediment subchronic toxicity to Heterocypris incongruens (Crustacea, Ostracoda)
ISO 7828:1985	Water quality -- Methods of biological sampling -- Guidance on handnet sampling of aquatic benthic macro-invertebrates
ISO 8265:1988	Water quality -- Design and use of quantitative samplers for benthic macro-invertebrates on stony substrata in shallow freshwaters
ISO 8689-1:2000	Water quality -- Biological classification of rivers -- Part 1: Guidance on the interpretation of biological quality data from surveys of benthic macroinvertebrates
ISO 8689-2:2000	Water quality -- Biological classification of rivers -- Part 2: Guidance on the presentation of biological quality data from surveys of benthic macroinvertebrates
ISO/DIS 10870	Water quality -- Guidelines for the selection of sampling methods and devices for benthic macroinvertebrates in fresh waters
ISO/WD 16778	Water quality -- Calanoid copepod development test with Acartia tonsa



Aquatic vertebrates

ISO 15088:2007	Water quality -- Determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish eggs (<i>Danio rerio</i>)
ISO 7346-1:1996	Water quality -- Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [<i>Brachydanio rerio</i> Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] -- Part 1: Static method
ISO 7346-2:1996	Water quality -- Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [<i>Brachydanio rerio</i> Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] -- Part 2: Semi-static method
ISO 7346-3:1996	Water quality -- Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [<i>Brachydanio rerio</i> Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] -- Part 3: Flow-through method
ISO 10229:1994	Water quality -- Determination of the prolonged toxicity of substances to freshwater fish -- Method for evaluating the effects of substances on the growth rate of rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i> Walbaum (Teleostei, Salmonidae))
ISO 12890:1999	Water quality -- Determination of toxicity to embryos and larvae of freshwater fish -- Semi-static method
ISO 21427-1:2006	Water quality -- Evaluation of genotoxicity by measurement of the induction of micronuclei -- Part 1: Evaluation of genotoxicity using amphibian larvae
ISO 21427-2:2006	Water quality -- Evaluation of genotoxicity by measurement of the induction of micronuclei -- Part 2: Mixed population method using the cell line V79
ISO 23893-1:2007	Water quality -- Biochemical and physiological measurements on fish -- Part 1: Sampling of fish, handling and preservation of samples
ISO/TS 23893-2:2007	Water quality -- Biochemical and physiological measurements on fish -- Part 2: Determination of ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD)
ISO/CD 23893-3	Water quality -- Biochemical and physiological measurements on fish -- Part 3: Determination of vitellogenin





Soil microorganisms

ISO 10381-6:2009	Soil quality -- Sampling -- Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil under aerobic conditions for the assessment of microbiological processes, biomass and diversity in the laboratory
ISO 14240-1:1997	Soil quality -- Determination of soil microbial biomass -- Part 1: Substrate-induced respiration method
ISO 14240-2:1997	Soil quality -- Determination of soil microbial biomass -- Part 2: Fumigation-extraction method
ISO 16072:2002	Soil quality -- Laboratory methods for determination of microbial soil respiration
ISO 17155:2002	Soil quality -- Determination of abundance and activity of soil microflora using respiration curves
ISO 15685:2004	Soil quality -- Determination of potential nitrification and inhibition of nitrification -- Rapid test by ammonium oxidation
ISO 14238:1997	Soil quality -- Biological methods -- Determination of nitrogen mineralization and nitrification in soils and the influence of chemicals on these processes
ISO 23753-1:2005	Soil quality -- Determination of dehydrogenase activity in soils -- Part 1: Method using triphenyltetrazolium chloride (TTC)
ISO 23753-2:2005	Soil quality -- Determination of dehydrogenase activity in soils -- Part 2: Method using iodotetrazolium chloride (INT)
ISO/DIS 11063	Soil quality -- Method to directly extract DNA from soil samples
ISO/TS 29843-1:2010	Soil quality -- Determination of soil microbial diversity -- Part 1: Method by phospholipid fatty acid analysis (PLFA) and phospholipid ether lipids (PLEL) analysis
ISO/PRF TS 29843-2	Soil quality -- Determination of soil microbial diversity -- Part 2: Method by phospholipid fatty acid analysis (PLFA) using the simple PLFA extraction method
ISO/TS 10832:2009	Soil quality -- Effects of pollutants on mycorrhizal fungi -- Spore germination test
ISO/TS 22939:2010	Soil quality -- Measurement of enzyme activity patterns in soil samples using fluorogenic substrates in micro-well plates
ISO 11266:1994	Soil quality -- Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under aerobic conditions
ISO 15473:2002	Soil quality -- Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under anaerobic conditions
ISO 14239:1997	Soil quality -- Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions



Soil invertebrates

ISO 11268-1:1993	Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms (<i>Eisenia fetida</i>) -- Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate
ISO 11268-2:1998	Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms (<i>Eisenia fetida</i>) -- Part 2: Determination of effects on reproduction
ISO 11268-3:1999	Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms -- Part 3: Guidance on the determination of effects in field situations
ISO 11267:1999	Soil quality -- Inhibition of reproduction of <i>Collembola (Folsomia candida)</i> by soil pollutants
ISO 16387:2004	Soil quality -- Effects of pollutants on Enchytraeidae (<i>Enchytraeus sp.</i>) -- Determination of effects on reproduction and survival
ISO 15952:2006	Soil quality -- Effects of pollutants on juvenile land snails (Helicidae) -- Determination of the effects on growth by soil contamination
ISO 20963:2005	Soil quality -- Effects of pollutants on insect larvae (<i>Oxythyrea funesta</i>) -- Determination of acute toxicity
ISO 17512-1:2008	Soil quality -- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour -- Part 1: Test with earthworms (<i>Eisenia fetida</i> and <i>Eisenia andrei</i>)
ISO/DIS 17512-2	Soil quality -- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour -- Part 2: Test with collembolans (<i>Folsomia candida</i>)
ISO 23611-1:2006	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 1: Hand-sorting and formalin extraction of earthworms
ISO 23611-2:2006	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (<i>Collembola</i> and <i>Acarina</i>)
ISO 23611-3:2007	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 3: Sampling and soil extraction of enchytraeids
ISO 23611-4:2007	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting nematodes
ISO/DIS 23611-5	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 5: Sampling and extraction of soil macro-invertebrates
ISO/DIS 23611-6	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 6: Guidance for the design of sampling programmes with soil invertebrates



Plants

ISO 11269-1:1993	Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Part 1: Method for the measurement of <u>inhibition of root growth</u>
ISO 11269-2:2005	Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants
ISO 17126:2005	Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Screening test for emergence of lettuce seedlings (<i>Lactuca sativa</i> L.)
ISO 22030:2005	Soil quality -- Biological methods -- <u>Chronic toxicity in higher plants</u>
ISO/CD 29200	Soil quality -- Assessment of genotoxic effects on higher plants -- Micronucleus test on <i>Vicia faba</i>



Vztahy Dávka (koncentrace) - Odpověď

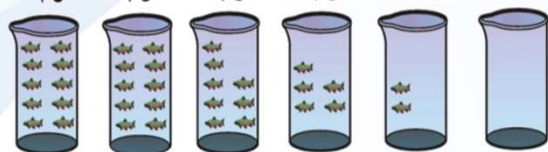
Note

Concentration and Dose

Concentration and dose both refer to the amount of test material to which the test organism is subjected. Concentrations are used to describe the amount of test material in the testing environment (e.g., mg/L in water, mg/kg in soil or mg/kg in food). Doses are used to describe the amount of test material administered to a subject (e.g., mg/kg-bodyweight in an avian bolus study). Statistical methods for both types of studies are identical; however, interpretations are different. Although "concentration" is used throughout this document, all the statistical methods presented here also apply to studies in which a dose is used.

Concentration:

0.0 $\mu\text{g/L}$ 13 $\mu\text{g/L}$ 25 $\mu\text{g/L}$ 50 $\mu\text{g/L}$ 100 $\mu\text{g/L}$ 200 $\mu\text{g/L}$



Control

1

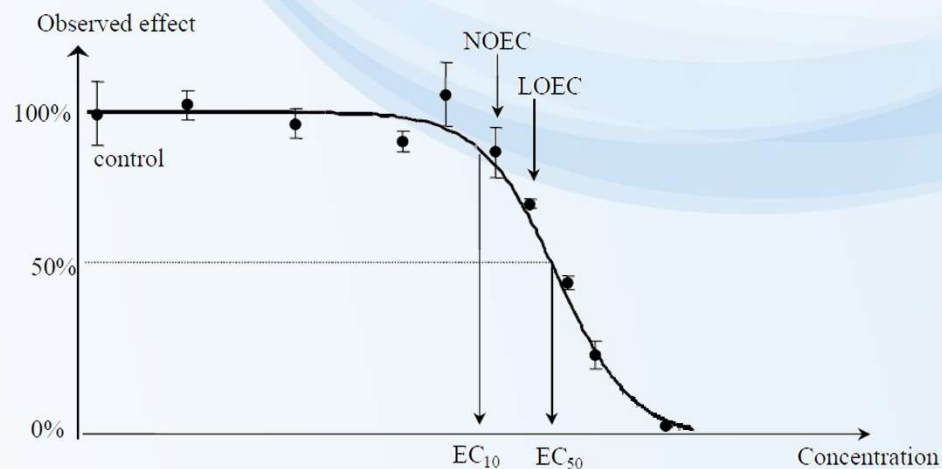
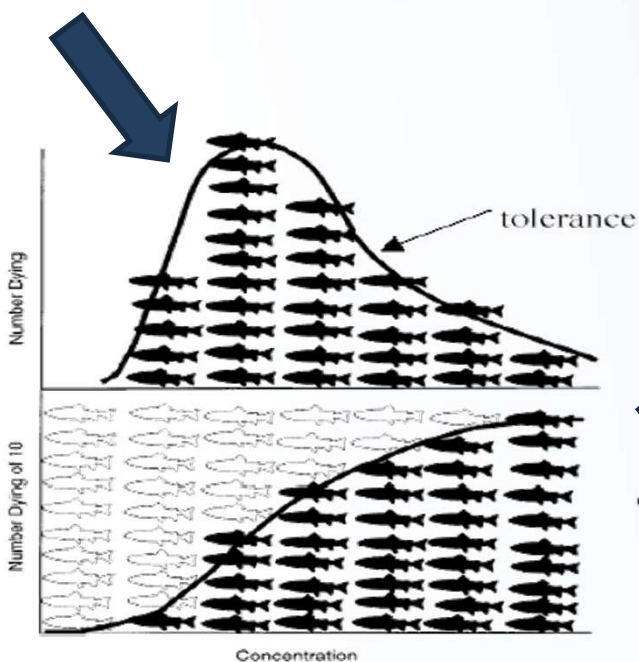
2

3

4

5

96-hour LC50 = 50 $\mu\text{g/L}$



No Observed Effect Concentration (NOEC)
Lowest Observed Effect Concentration (LOEC)
EC_x (x % effects concentration)
LC_x (x % lethal concentration)



Využití křivky dávka - odpověď

Srovnání toxicity různých látek

Problém: různé směrnice (sklon) křivky Dávka-Odpověď

→ Pro interpretaci je nutno uchovat (ukázat) data celé křivky

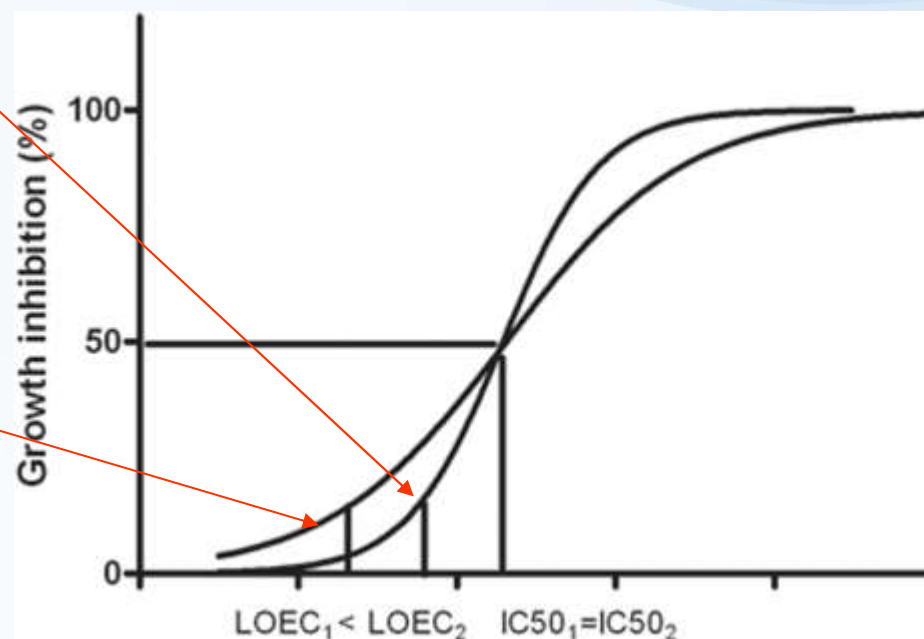
Příklad:

Na základě EC50 není rozdíl

ALE

látka 1 vykazuje efekty ve významně nižších koncentracích

(bude mít nižší LOEC/NOEC)



Výsledkem hodnocení toxicity jsou „KONCENTRACE“

- Vyjádření KONCENTRACÍ při hodnocení TOXICITY
- (1) čisté látky a definované směsi látek
(barvy, produkty chemické výroby ...)

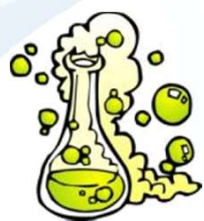
KONCENTRACE hmotnostní nebo molární

– mg/L, ug/L, mmol/L (=mM), nmol/L (=nM) apod.
- (2) vzorky z prostředí a jejich extrakty (výluhy apod.)
 - KONCENTRACE původní matrice
př. Voda EC50 = 1% (100x ředěná voda vyvolává 50% efekt)
 - KONCENTRACE EXTRAKTU (% ředění ...)



Adverse Outcome Pathways (AOP)

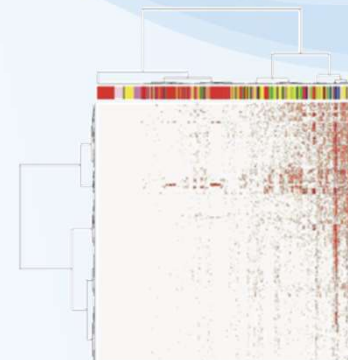
Traditionally – Evaluation of adverse effects using the whole organism models



Organism

Adverse Effects
Death
Inhibition of Growth
Altered Reproduction
Tumor
Skin irritation
...

New – Ex vivo / in vitro / In chemico / In silico Methods



Key task/question:
How to link MECHANISTIC INFORMATION with APICAL ENDPOINTS ?

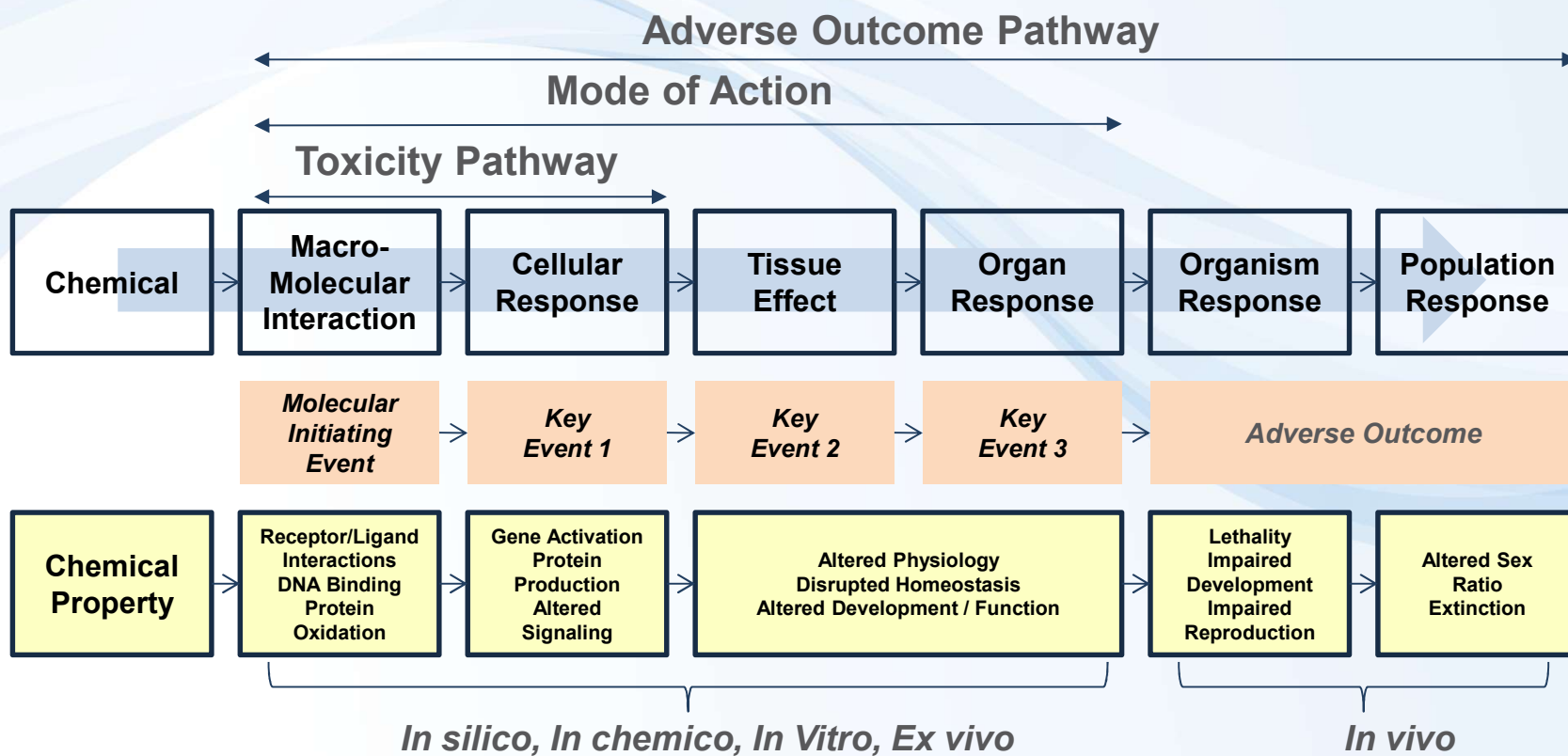
Adverse Outcome Pathways (AOP)

- AOP je uspořádané vyjádření biologických událostí vedoucích k nepříznivým účinkům, a je považováno za důležité pro hodnocení rizika.
- Dosavadní znalosti jsou použity pro kauzální spojení dvou klíčových událostí: molekulární iniciační události (MI) a nepříznivý výsledek (AO), které se vyskytují na úrovni biologické organizace
- popisuje řetězec kauzálně spojených akcí na různých úrovních biologické struktury, které vedou k nepříznivému vlivu na zdraví nebo ekotoxikologického účinek.
- <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/adverse-outcome-pathways-molecular-screening-and-toxicogenomics.htm>

The screenshot shows the OECD website interface. At the top, there is a navigation bar with links for Data, Publications, More sites, News, and Job vac. Below this is the OECD logo and tagline 'BETTER POLICIES FOR BETTER LIVES'. A search bar is located on the right side of the header. The main navigation menu includes OECD Home, About, Countries, and Topics. The breadcrumb trail reads: OECD Home > Chemical safety and biosafety > Testing of chemicals > Adverse Outcome Pathways, Molecular Screening and Toxicogenomics. A sidebar on the left contains a list of links: Testing of chemicals (selected), Assessment of chemicals, Risk management of chemicals, and Chemical accident prevention. The main content area features the title 'Adverse Outcome Pathways, Molecular Screening and Toxicogenomics' and a sub-header: 'The OECD Environmental, Health and Safety (EHS) Programme has been helping member countries to make better use'.



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí



Toxicant	Macro-Molecular Interactions	Cellular Responses	Organ Responses	Organism Responses	Population Responses
Chemical Properties	Receptor/Ligand Interaction DBA Binding Protein Oxidation	Gene activation Protein Production Altered Signaling	Altered Physiology Disrupted Homeostasis Altered tissue development/function	Lethality Impaired Development Impaired Reproduction	Structure Extinction



Základní úrovně pro EcoRa

- Organismus
- Populace
- Ekosystém- základní modelovou jednotkou v EcoRa
 - Nejkomplexnější jednotka
 - Zahrnuje živé i neživé složky
 - Zahrnuje mezidruhové vztahy
 - Zahrnuje vlivy vedlejších faktorů
 - Přejít k regionálnímu hodnocení



Základní úrovně pro EcoRa

ALE: ... realita & cíl ekotoxikologie je

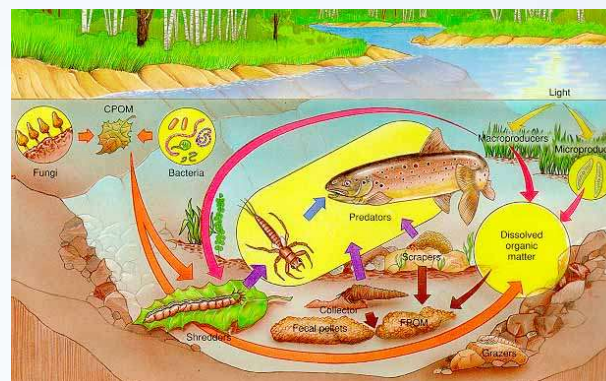
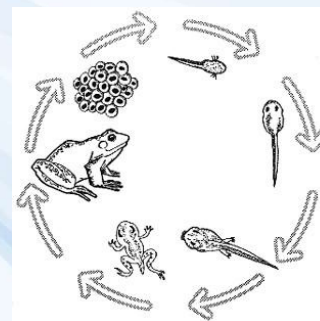
→ Chránit populace v ekosystémech

BIOTA

POPULACE

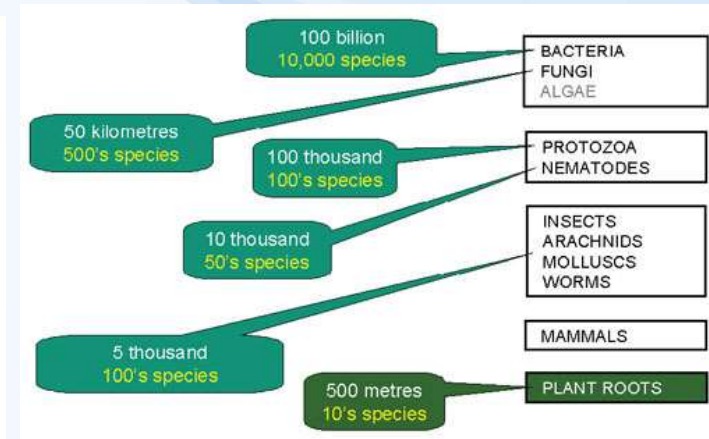
SPOLEČENSTVA
(interakce mezi populacemi)

EKOSYSTÉMY



Hodnocení účinků na úrovni populace, společenstva, ekosystémů

- Ecosystems are NOT more complex than we think. They are more complex than we CAN think.



Hodnocení účinků na úrovni populace, společenstva, ekosystémů

Efekty na biochemické a organismální úrovni

- relativně snadno popsitelné a stanovitelné
- dobrá kvantifikace

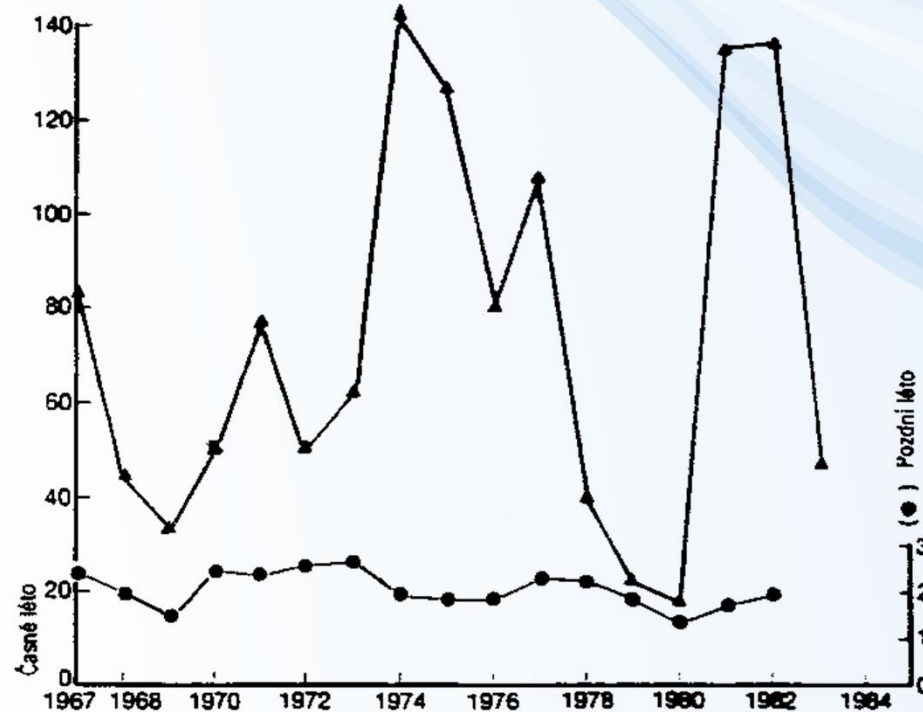
Efekty na úrovni populací a společenstev

- obtížně studovatelné a kvantifikovatelné
 - komplexnost a variabilita
 - dobře prokazatelné až velké změny
 - pomalé projevy
 - organismální efekty nejsou vždy interpretovatelné
 - obtížně prokazatelná kauzalita "*toxikant* <-> *efekt*"
 - obtížně predikovatelné



Variabilita v populacích ... je přirozená

Obr. 1 Příklady populační dynamiky na základě empirických šetření, publikovaných v anglické učebnici ekologie (Begon, Harper et Townsend 1987)



1a) Pstruh potoční (*Salmo trutta*) v jednom z toků anglické jezerní oblasti
Trojúhelníky – počty v časném létě včetně jedinců čerstvě vykulených z jiker; plná kolečka – počty v pozdním létě (rozdílné měřítko vertikální osy)



Základní „měřitelné“ PARAMETRY populací (demografické parametry)

Populace - *Jedinci téhož druhu, kteří obývají ve stejném čase stejné území (lokalitu)*

Primární parametry

- natalita: počet jedinců za jednotku času (a nejčastěji jedince)
- mortalita: počet jedinců kteří zemřou za jednotku času (a nejčastěji jedince)
(JINAK: za jak dlouho zemře příslušný jedinec)
- měřítko velikosti (performance) – úspěšnost – specifický parametr pro různé druhy (např. velikost, počet jedinců, počet semen, květů, množství biomasy aj.)

Sekundární parametry - odvozené z primárních

- závislost natality, mortality, performance *na výchozí velikosti*
- frekvence (četnost / jak často?) přechodu z jedné velikostní třídy do druhé
(~ rychlost růstu populace: oba uvedené body vyjadřují totéž, jen v pojetí kvantitativním a kvalitativním)



EKOTOXIKOLOGIE V POPULACÍCH

Vlastnosti na úrovni jedince, které jsou klíčové pro udržení/růst populací:

- vyspělost k rozmnožování
(*rychlost dosažení / růst / pohlavní dospělost*)
- rozmnožování
(*produkce gamet – počty, kvalita...*)

Efekty toxických látek na úrovni jedince

→ projevy na úrovni populací

- změny abundancí / počtů (*snížení růstové kapacity*)
- změny natality / fekundity
- změny demografie (*př. stárnutí populace*)



EKOTOXIKOLOGIE V POPULACÍCH

- Příklady:
 - 1) selekce genů v populacích
 - antibiotika-rezistentní bakterie (viz jinde)
 - hmyz rezistentní na pesticidy (viz jinde)
 - znečištění vzduchu - drsnokřídlec v Británii: tmavé vs. Světlé varianty
 - rezistence (snížení citlivosti) k toxicitě kovů
 - 2) změny v rozložení pohlaví v populacích („sex ratio“)
 - pohlaví u člověka
 - změny rozložení pohlaví u hmyzu
 - 3) vliv toxických látek na velikost a rozmnožování
 - Hg vs. ryby



Životní cyklus druhu a populační ekotoxikologie

- Citlivost různých vývojových stadií
 - zásadní význam pro demografii populace
- Mladší stadia (embrya) bývají citlivější k vlivům toxikantů
 - *citlivost: rychle dělící se buňky u embryí a larev*
 - *viz embryotoxicita*
- Důsledek - snížení fekundity → stárnutí populace
- Výjimky - *mechanická ochrana (povrchové vrstvy)*
 - rezistence vajíček ryb (*vs. vysoce citlivá embrya ryb*)
 - semena rostlin, klidová stadia dalších organismů





Chrostíci

Rozdíly v citlivosti s věkem

Vyšší mortalita u starších ...

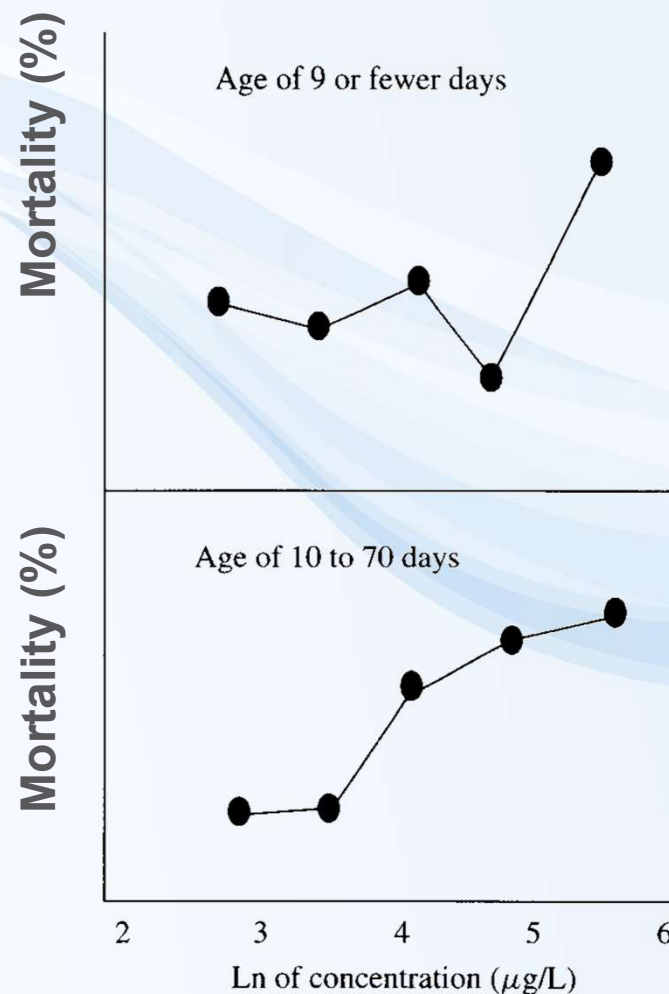


Fig. 6.1. Density-dependent, natural mortality can obscure the concentration-effect relationship for caddisfly larvae exposed to 4,5,6-trichloroguaiacol. There was no discernible relationship for larvae ≤ 9 days old, an age class with high levels of natural, density-dependent death. Note the high mortality in all treatments. (Probit values of 4 and 5 correspond to 16 and 50% mortality, respectively.) There was a clear relationship between mortality and toxicant concentration of older larvae (>9 to 70 days old). (Modified from Figure 4A&B of Petersen and Petersen 1988)



Jak prostudovat účinky s dopady na populace ?

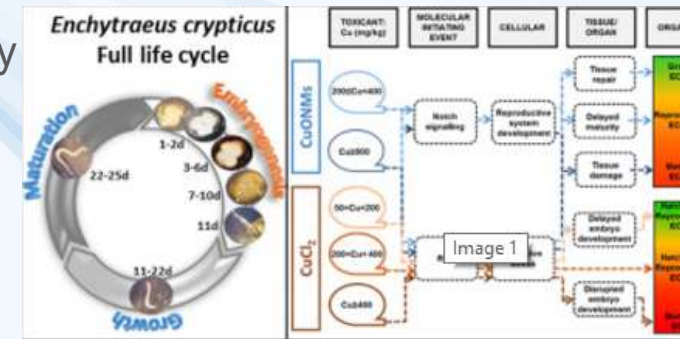


1) Experimentální studie reprodukční toxicity

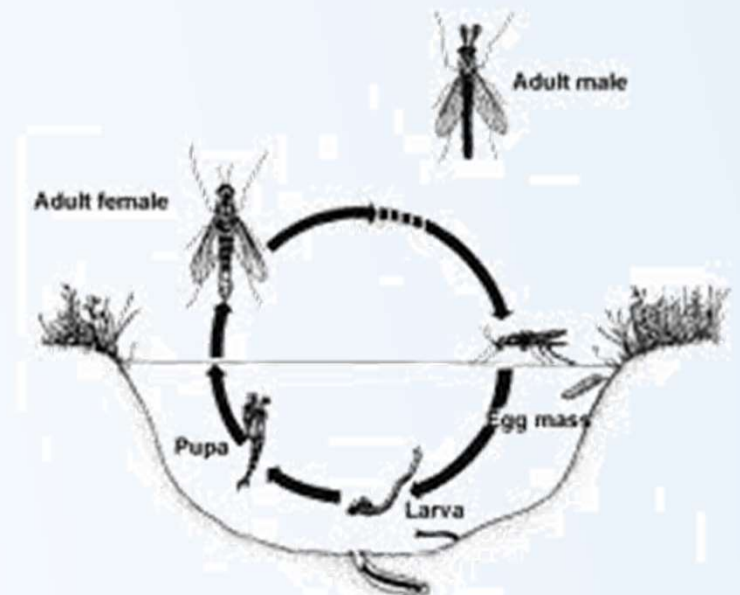
- *D. magna* – 21 denní reprodukční test
- Žížaly – 4 týdenní reprodukční testy
- chvostokoci *Folsomia candida* - reprodukční testy

2) Testy celoživotního cyklu

- Např. pakomáři *Chironomus* (OECD guideline 233)



3) Modelování (např. DEB modely)





Environmental Pollution

Volume 220, Part B, January 2017, Pages 1014–1023



Does long term low impact stress cause population extinction?



M.J.B. Amorim^a,  , C. Pereira^a, , A.M.V.M. Soares^a, , J.J. Scott-Fordsmand^b, 

Highlights

- *F. candida* was exposed to Cd in 40 consecutive reproduction tests (3.5 years multigenerational-MG).
- EC10 (32 mg Cd/kg) caused population extinction after one year, while EC50 (60 mg Cd/kg) survived.
- Size distribution shifts could explain extinction (EC10: positive skew, EC50: negative skew).
- Higher metallothionein levels for EC50 exposed could be a survival strategy.
- Maximum Cd tolerance limits of *F. candida* increased for Cd EC50 MG.



Hodnocení účinků na úrovni společenstva, ekosystémů

- Nejasné vymezení v terénu
- Praktická nemožnost kompletního popisu (nelze sestavit úplný seznam druhů)
- Časová a finanční náročnost ekosystémového výzkumu
- Obtížný popis a kvantifikace jevů
- Typický pro ekosystémovou úroveň
- Definování škodlivosti na úrovni ekosystému je obtížné
 - „zdravotní stav“ a jeho změny jsou těžce definovatelné
 - Projevuje se vliv ostatních ekologických faktorů, ztěžují možnost určit vliv samotného kontaminantu
 - Negativní postižení jednoho druhu organismu vyvolá negativní odezvu u řady dalších druhů, nebo současně pozitivní reakci u jiných druhů (kteří jsou konkurenty)
 - Účinek toxikantu nevede k likvidaci ekosystému ale přeměně na jiný ekosystém -v něm se realizují jiné druhy, sukcesní vývoj



Společenstvo - biocenoza (Community)

- Soubor populací různých druhů, které spolu žijí v určitém prostředí (biotopu) a vzájemně spolu interagují (existence vazeb)
- Příklady vztahů (interakcí) mezi populacemi druhů
 - Kompetice (o potravu, o prostor, o světlo ...)
 - Symbioza
 - Potravní vztahy / potravní řetězce
 - atd. atd.
- -> důsledek: variabilita / přirozené kolísání počtů



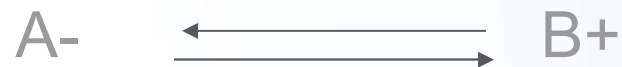
Základní principy – ZPĚTNÉ VAZBY

ZPĚTNÉ VAZBY

pozitivní = nárůst „B“ způsobuje nárůst „A“



negativní = nárůst „B“ způsobuje pokles „A“

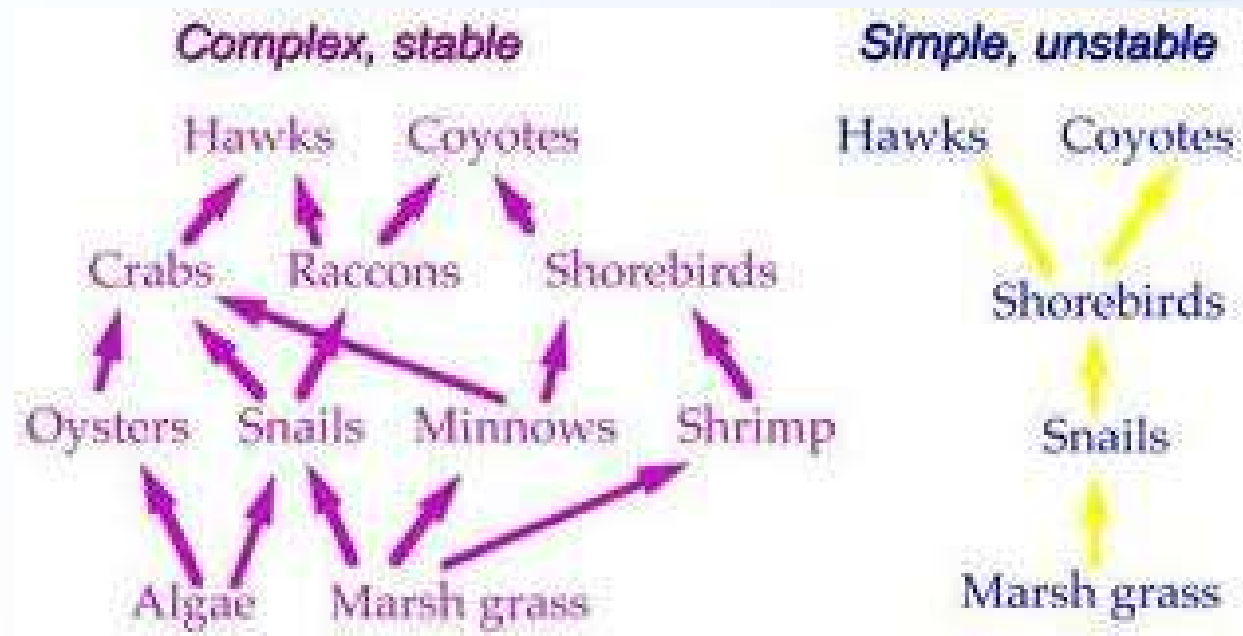


Příklady:

- *propojené populační cykly králíka a rysa (predátor)*
- + *další součásti biocenozy → další strana*

Jak lze společenstva popsat / parametrizovat ?

- **PARAMETRIZACE (měřitelné veličiny)**
- *Působení stresorů → změny v měřitelných parametrech*
 - Základní popis - parametry **strukturní**
 - (Parametry **funkční** – viz dále: ekosystémová úroveň)
- Bohatá struktura (bohatost vztahů / **biodiverzita**)
→ *podmínka stability biocenózy i ekosystému*



EKOTOXIKOLOGIE SPOLEČENSTEV

- struktura -

Strukturní parametry

- parametry faunistické/floristické (druhové složení a zastoupení)
- prostorové a časové cykly
- vztahy ve společenstvu / společenstvo - prostředí

• Množství a abundance

- počty jedinců
- biomasa
- chlorofyl-a
- pokryvnost
- parametry vztažené na plochu (*terestr.*) a objem (*akvat.*)



EKOTOXIKOLOGIE SPOLEČENSTEV

- struktura -

Charakterizace DIVERZITY

- INDEXY

N_i – počet jedinců jednoho druhu
N – celkový počet jedinců společenstva
S – počet druhů

- **Shannon-Wiener** ($H' = - \sum Ni/N \ln (Ni/N))$)

- Vyšší H' → vyšší diverzita

- **Shannonův index vyrovnanosti** (evenness)
($E = H' / \ln S$)

- Vyšší E → vyšší vyrovnanost společenstva

- **Margalefův index** ($D = (S-1) / \ln N$)

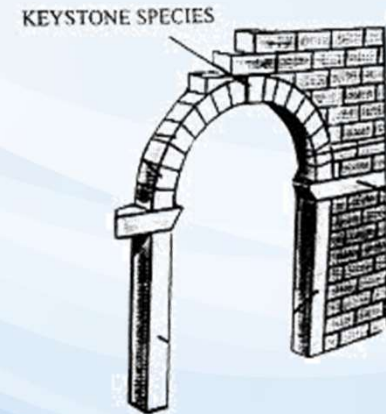
- ... a celá řada dalších indexů

- *Poznámka: indexy jsou necitlivé na změny ve vzácných druzích ... málo jedinců → malý vliv na celkový index*

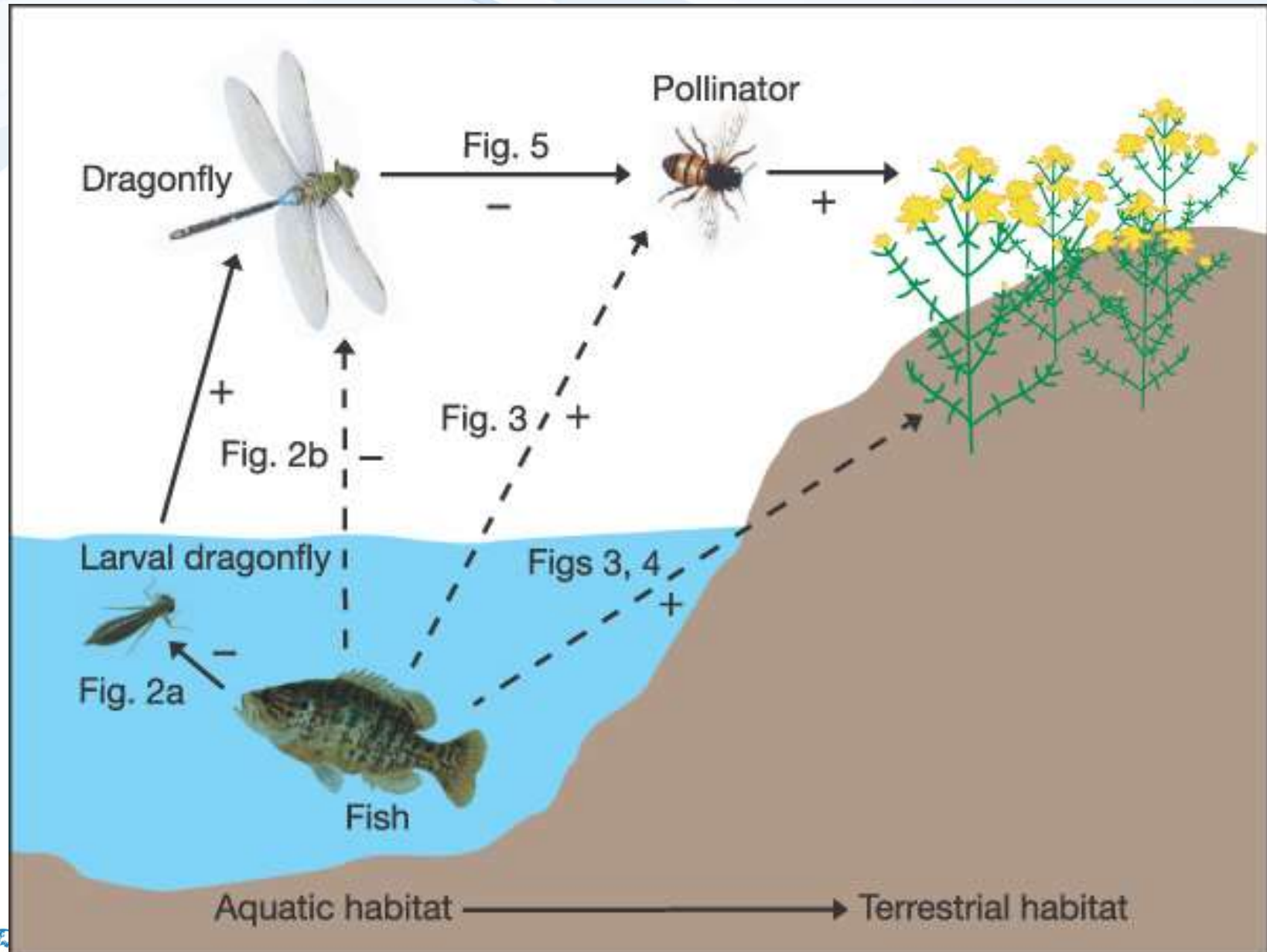


KLÍČOVÉ DRUHY (Key / Keystone species)

- efekty na těchto druzích
→ dramatické změny celé biocenózy
- **Klíčové druhy**
 - zpravidla „predátoři“ (kontrola spodních pater)
- *Př. Mořské hvězdice na skalách a kamenech*
→ pohyb a spásání biomasy / predátor
 - *Likvidace hvězdic*
 - přerůstání makrořas
 - přemnožení mlžů (slávky)
- *Př. Sladkovodní ryby ovlivňují fertilitu rostlin v terestrickém ekosystému*



Knight et al., NATURE (2005) 437: 880



KLÍČOVÉ DRUHY (Key / Keystone species)

- **INDIKÁTOROVÉ DRUHY**

- Druhy, jejichž (ne)přítomnost indikuje určitou vlastnost ekosystému
 - citlivé druhy (např. *pošvatky*, *horské ploštěnky*, *lišejníky*)
 - oportunní druhy (např. *pakomáři*, *pijavky* ...)

- **Různé organismy indikují různé typy stresu**

- Př. kontaminace živinami (dusičnany apod.)
 - *Makrozoobentos – saprobity / řasy, rozsivky – trofie (viz dále)*

- Kontaminace toxickými látkami

- *Lišejníky – čistota vzduchu*



Působení toxických látek → změny ekologických vztahů

Příklady účinků a jejich vlivu na vztahy ve společenstvu (*predátor - kořist*)

- působení insekticidů ve vodním prostředí

→ eradikace populací hmyzu (komáři)

→ likvidace zdroje potravy pro dravé ryby

→ hmyz - rychlé rozmnožování - návrat

→ ryby - pomalé množení = dlouhodobý efekt

- likvidace terminálních predátorů (bioakumulace tox. látek)

→ vyhubení vlků v severní Americe

→ přemnožení jelenů

→ neřízené spásání vegetace luk a lesů

→ vyhubení dravců (DDT)

→ přemnožení hlodavců

→ neřízené spásání úrody na polích



Ekosystém

- Heterogenní systém složený z biotické složky (biocenozy, biologický subsystém) a abiotické složky (ekotopu, subsystém prostředí)
- Biota vs. prostředí – vztahy / zákonitosti
- Klíčová zákonitost v ekosystémech z pohledu studia ekotoxikologie-
 - „Zákonitost určujících abiotických faktorů (ekologická valence)“



EKOSYSTÉMY a účinky toxických látek

V ekosystémech lze sledovat (*na rozdíl od manipulovaných biotestů*) pouze retrospektivní efekty

Posouzení vlivu na úrovni ekosystému

- zpravidla nelze hodnotit vztahy dávka – odpověď:
efekty mají kategoriální charakter (STRES +/-, EFEKT +/-)
- Při charakterizaci poškození je nutné vždy zajistit **srovnání s "normálními" hodnotami.**
? existuje normální stav nebo vývoj ekosystému ?



Definice „Normálního stavu ekosystému“ není jednoduchá

- **STACIONÁRNÍ STAV**

- klidový stav, dlouhodobě ustálené hodnoty,
- není běžný: ekosystémy jsou přirozeně „variabilní“ (hodnoty se dynamicky mění)

- **STABILNÍ STAV**

- stav, kdy okolní podmínky nemění podstatu věci (uvnitř může docházet ke změnám/kolísání hodnot)

- **DYNAMICKÁ stabilita / rovnováha: HOMEOSTÁZA**

- stav, kdy se prostřednictvím AKCE/REAKCE udržuje dlouhodobě stabilní stav

- **! SUKCESE**

- ekosystémy nejsou nikdy „stacionární“ – prochází v čase vývojem:

– Cílem by měla být ochrana „plynutí“ – udržování HOMEORHÉZY



SUKCESE EKOSYSTÉMU

Sukcese je zákonitý sled změn druhového složení, který vyústí v náhradu jednoho ekosystému druhým

- změna prostředí ekotopu rozhoduje zda, kdy a jak rychle sukcese probíhá, ALE samotný průběh je ovládán biocenozou
- sukcese končí ustáleným ekosystémem (klimax), v němž je na jednotku dosažitelného toku energie produkováno nejvíce biomasy a nejvíce symbiotických vztahů mezi organismy
(v klimaxu diverzita opět klesá)



Vícedruhové hodnocení ekotoxicity

Vypracovány a standardizovány komplexní postupy testování

- simulace přírodních podmínek
- model ekologických vztahů mezi organismy (*potravní řetězce*)
- hodnocení nepřímých efektů
(*likvidace producentů → další efekty v ekosystému*)

Experimentální uspořádání

- *podle velikosti (řada překryvů / nejednoznačné hranice)*

: mikrokosmy

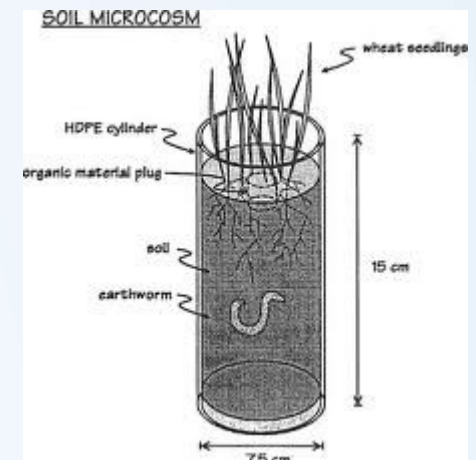
voda - do 1 m³ stojaté, nebo 1 m tekoucí
půda – experimenty s půdním jádrem

: mezokosmy

„větší než“ mikrokosmy

- rozdělení podle uspořádání

- laboratorní kontrolované podmínky
- přírodní podmínky



Standardizace mikro- a mezokosmových studií

Existují i standardizovaná doporučení:

- *mikrokosmy i mezokosmy*
- *využívána nejčastěji při hodnocení rizik pesticidů (prostředky na ochranu rostlin)*
 - *US EPA Test Guidelines OPPTS 850.1900 Generic Freshwater Microcosm Test, Laboratory*
 - *OECD – draft dokumenty*

Postupy však obsahují spíše obecné požadavky

- *aklimatizace a příprava systému*
- *obecné podmínky pro velikost*
- *složení a počty organismů*

Každý výsledek z podobných studií je cenný

- *doposud relativně málo dostupných dat (ve srovnání s "klasickými biotesty")*
- *ekonomicky i časově náročnější experimenty*
- *realizace a interpretace vyžaduje kvalitní ekologické vzdělání*
- *výsledky často nejsou veřejně dostupné (vlastnictví firem, které registrují pesticidy)*

Stále jen „model“ – řada nedostatků

- *Izolace od okolí (zamezení případné „rekolonizaci“)*
- *Vnější stěny (mikrokosmy) – rychlé střídání teplot (vs. Přírodní nádrže: stabilní) atd.*

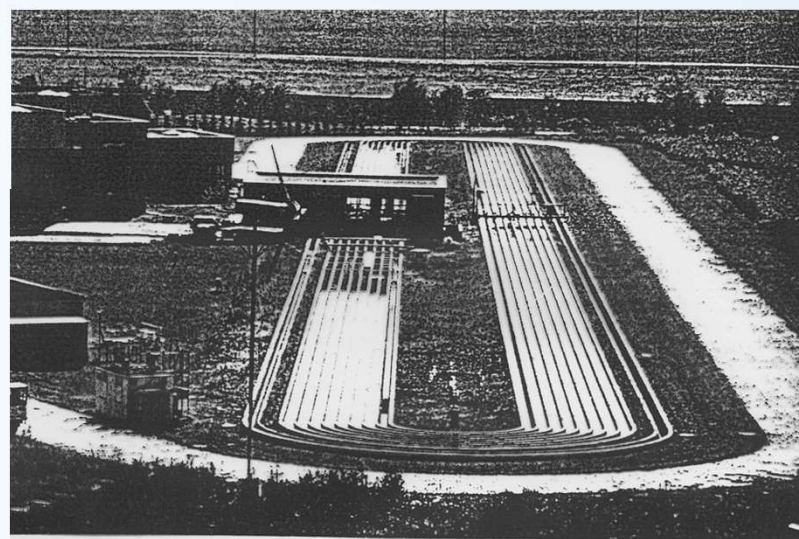
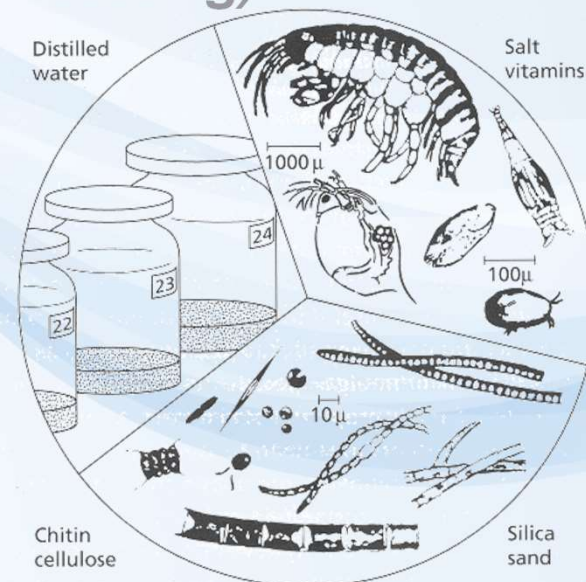
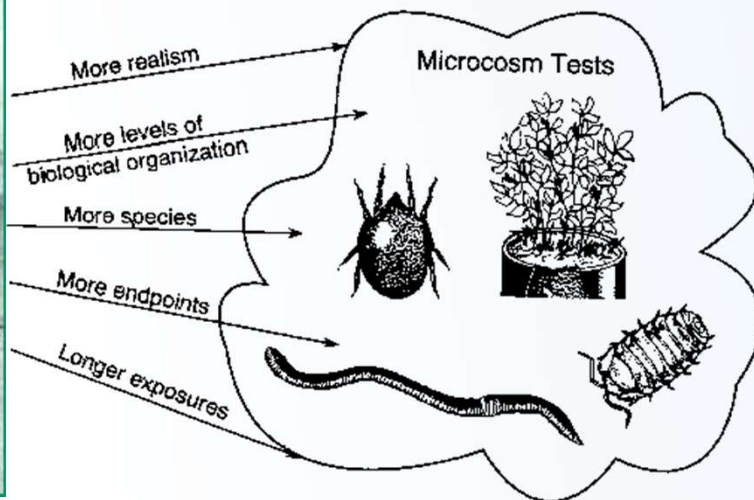


Micro & Mesocosms

Expensive & time consuming (e.g. *Pesticide testing*)

Variable results (natural variability ...)

Higher ecological relevancy



Příklad – laboratorní terestrický mikrokosmos



Příklad – akvatické mikrokosmy



Vyhodnocení výsledků mikro / mesokosmů

HODNOCENÉ PARAMETRY

- hodnocení v rámci jednotlivých druhů

- *mortalita, růst*
- *reprodukce*
- *populační charakteristiky*

- hodnocení společenstva – ekologické efekty

- *strukturní parametry:* *taxonomie, indexy atd.*
(v praxi jsou hodnoceny častěji než funkční p.)
- *funkční parametry*
zásoby – živiny, energie
procesy – produkce, respirace ...



FUNKČNÍ PARAMETRY EKOSYSTÉMŮ

1) Zdroje a pohyb živin / energie

(autochtonní – vnitřní / allochtonní – externí)

- **přenos energie = potravní sítě**
 - *pastevně kořistnický / parazitický / dekompoziční*
 - *producenti → konzumenti → destruenti/dekompozitoři*

2) Procesy v ekosystémech

- **Produkce** Primární: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{hv} \rightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + \text{O}_2$
Sekundární produkce (v potravním řetězci)
- **Respirace / dekompozice**

Metriky sledování procesů:

balance / výměny koncentrací plynů - O₂, CO₂, NO_y atd.

3) Resilience / Elasticita

- jednotka [1/ time unit]
- kapacita překonat stres & **čas nutný k překonání stresu**
 - vyšší: rychle rostoucí a rozmnožující se druhy (*phytoplankton*)
 - nižší: delší generační doba (*bentické organismy, ryby*)



Terénní studie

- Mohou identifikovat, které ekologické účinky se skutečně dějí na dané lokalitě
- Metody používané v terénních studiích mohou zahrnovat sběr organismů, měření fyzikálních vlastností habitatů nebo také dálkový průzkum
 - Sběr organismů, měření fyzikálních vlastností, dálkový průzkum
- Data terénních studií obsahují:
 - druhovou bohatost, diversitu, indexy podobnosti, biomasu, přítomnost tolerantních a citlivých druhů, populační strukturu atd.



Možnosti studia účinků v ekosystémech

- polní studie, biomonitoring

Hodnocení ekosystému

- charakterizace abiotických a biotických složek
- specifika akvatických a terestrických ekosystémů

Charakteristiky (parametry)

strukturní parametry
funkční parametry

- druhové složení, počty, abundance
- toky energií a látek

Akvatické ekosystémy



Holland America



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

Terestrické ekosystémy



Holland America

Polní studie, biomonitoring

Možnosti hodnocení působení stresu

! Pro posouzení stresu je nutné srovnání s "kontrolou"

(1) srovnání "před a po" působení stresu

kontrola = stav ekosystému před působením

- předpokládá monitoring před působením stresu (*sledování stavu abiotické a biotické složky ekosystému*)
- známe pozadřové hodnoty a "přirozený" stav

(2) srovnání exponovaného ekosystému s jiným nezasaženým ("kontrolním") ekosystémem

klíčový je výběr kontrolního ekosystému:

- *oba ekosystémy mají srovnatelné vlastnosti abiotické (terén, geologie, nadmořská výška ...)*
- *za normálního stavu se předpokládají podobné biologické vlastnosti (tj. shodná společenstva, potravní vztahy ...)*
- *Odvození závěrů je v tomto případě vždy **složitě** (neexistují dva stejné / stejně se vyvíjející ekosystémy)*



Polní studie, biomonitoring

Praktický postup při polní studii / biomonitoringu

- (1) **charakterizace lokality**, průzkum přímo v terénu
- (2) **definice hodnocených parametrů** příslušného ekosystému ve vztahu k působení stresu
 - abiotické složky
 - biotické složky – strukturní a funkční parametry
- (3) **definice odběrů** (*vzorkování, četnost, počty*)
 - abiotických složek (*voda, sedimenty, půda, vzduch*)
 - biotických složek (*producenti – konzumenti – destruenti*)
- (4) **realizace odběrů / analýzy / hodnocení**
- (5) **srovnání EXPOZICE vs. KONTROLA, závěry**



Polní studie, biomonitoring

(2) definice parametrů ve vztahu k působení stresu

- abiotické složky

- ve kterých složkách (voda, sediment, půda, vzduch) působí/il stresor ?
- kde lze předpokládat rezidua toxických látek ?

- biotické složky

definice organismů, které budou sledovány pro posouzení působení stresu:

- vztah k působení stresu (př. planktonní organismy – látky s tendencí zůstávat ve vodním sloupci, tj. hydrofilní vs. sedimenty-hydrofobní)
- hodnocené skupiny (př. producenti – řasy; konzumenti – zooplankton, ryby; destruenti – planktonní bakterie)
- klíčové druhy, bioindikátory ...

- parametry hodnocení
 - **strukturní** (taxonomické parametry, biomasa, abundance ...)
 - **funkční** (produkce/respirace, potravní řetězce ...)

