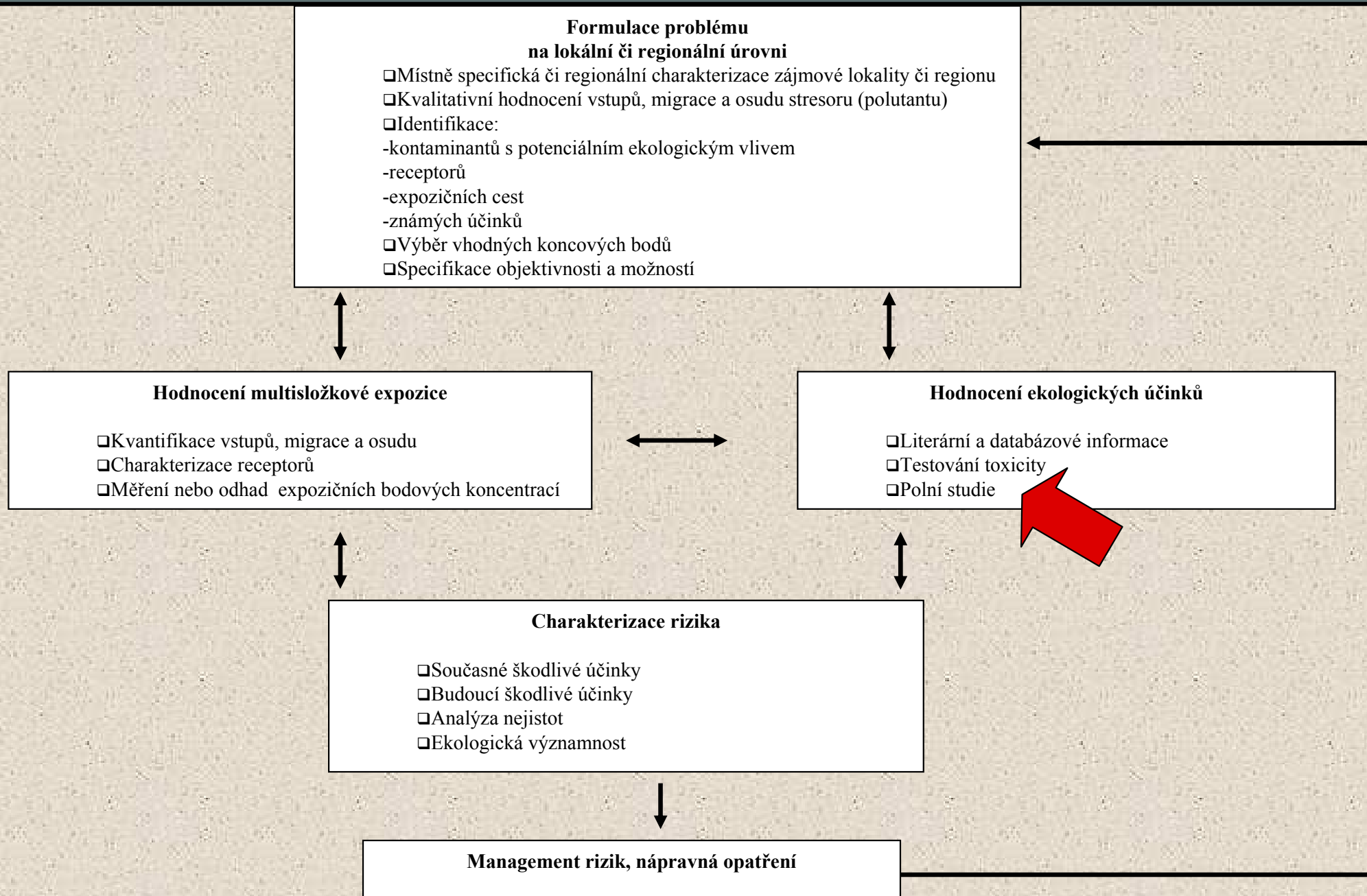


Mikrobiální ekotoxikologie při hodnocení ekologických rizik



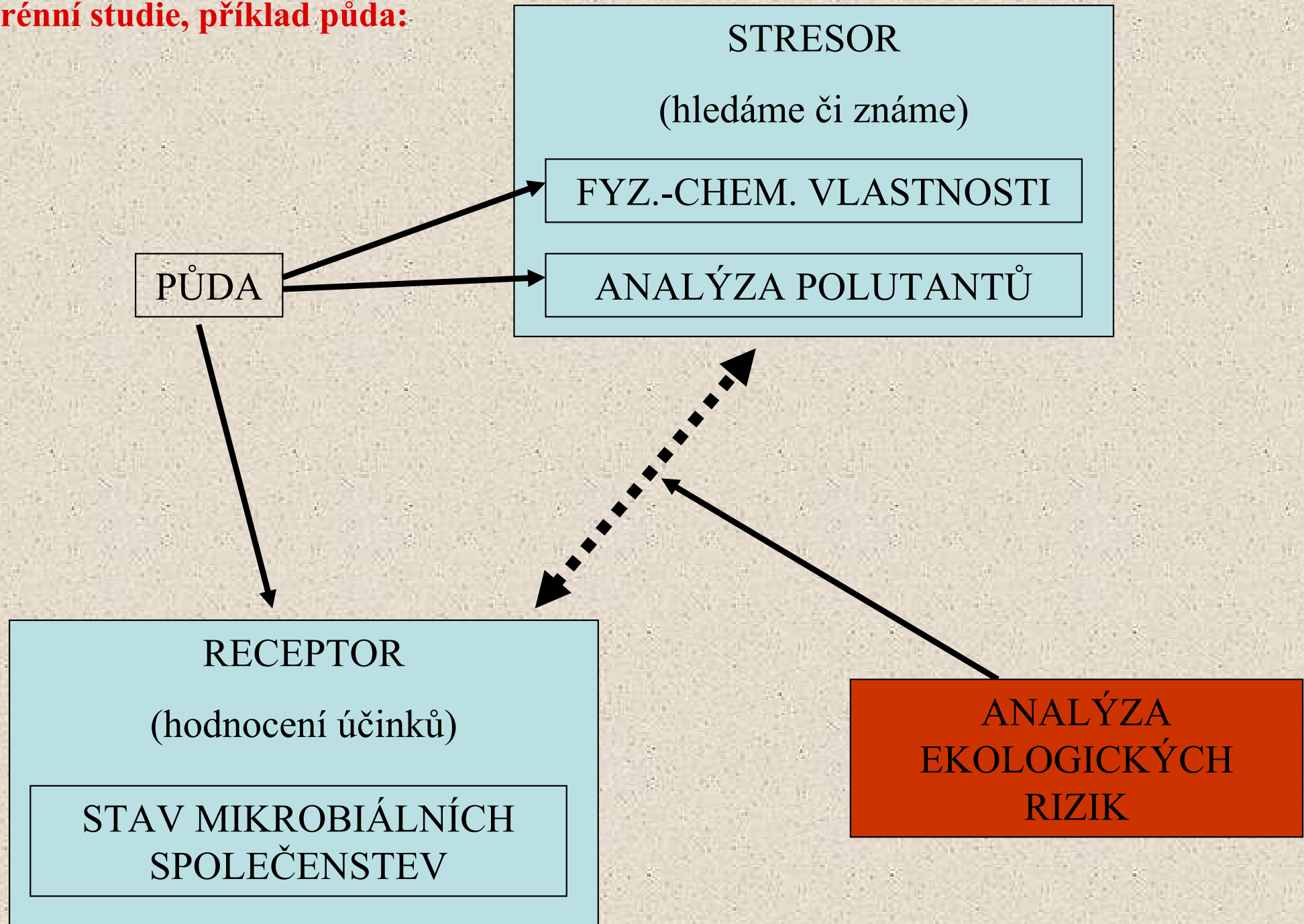
Hodnocení účinků

Příklady měřených parametrů:

- **terénní pozorování** (polní, terénní studie) – úhyn určitých druhů (ryb, ptáků..), změny ve struktuře společenstev
- **terénní testy** – mikro- a mezokosmy, studie v klecích..
- **laboratorní testy** – jednotlivé druhy, multidruhové testy
- **modely** – osud a transport, bioakumulace, účinky

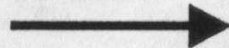
- klesá realita
- vzrůstá nutnost extrapolace, modelování
- klesá možnost zanedbání faktorů
- vzrůstá kontrolovanost testu
- atd.

Terénní studie, příklad půda:



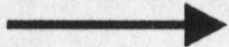
Retrospektivní hodnocení ekologických rizik, terénní studie, bioindikace - půdní mikrobiální ekotoxikologie:

SPECIFIKA



Silně heterogenní systém v čase i prostoru (sezónní charakter dějů; směs minerálních a organických komponent s koloidními roztoky; prostorová variabilita)

**JAK
TESTOVAT**



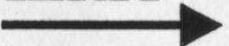
A. Hledisko vstupu látek

Látku aplikovat dle možností daných jejími chemickými vlastnostmi (vhodný organický roztok, fumigace), nejlépe v podobě odpovídající reálné situaci.

B. Hledisko časové

Lze testovat vliv jednorázových dávek nebo postupnou kumulací zátěže. Systém testování by měl vycházet z charakteru expozice hodnoceného zdroje.

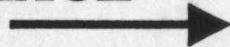
CO MĚŘIT



Základní nebo rozšířená sada parametrů

V širším pohledu je vhodné mikrobiologické testy doplnit o testy mobility látek v půdním profilu (vyplachování) nebo jejich dostupnosti pro rostliny (testy s rostlinami).

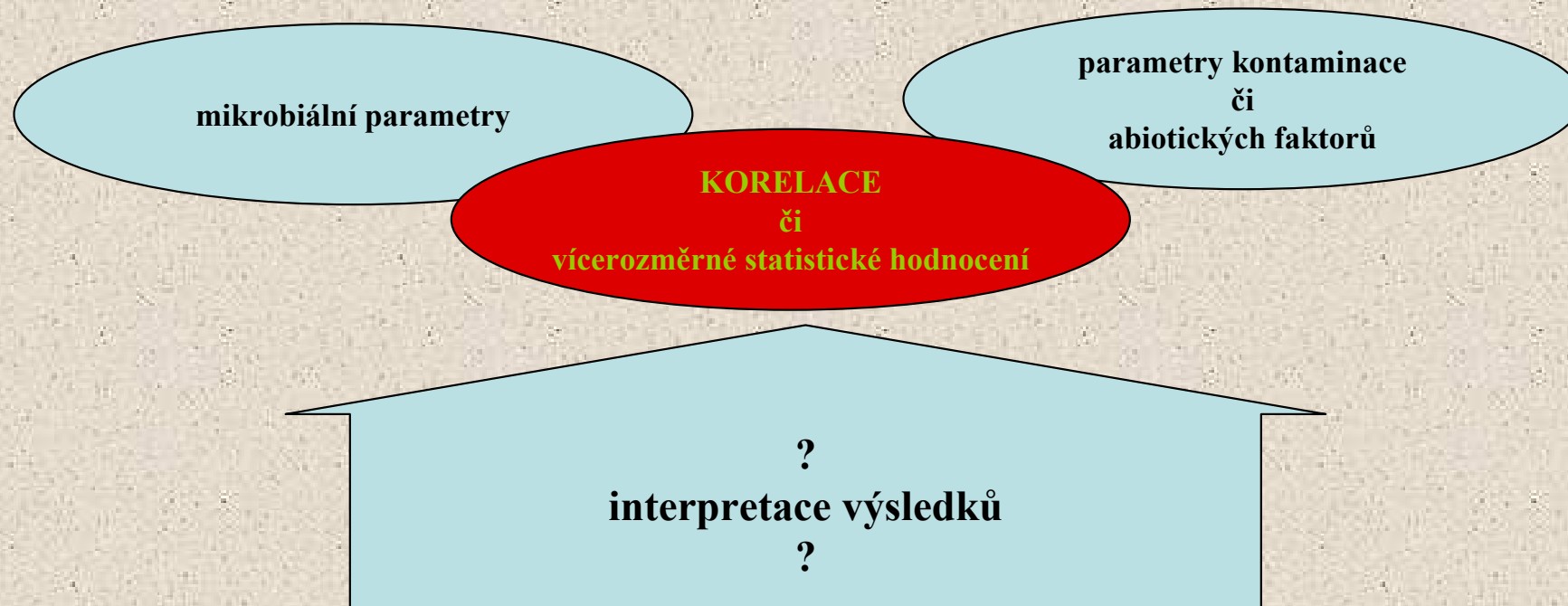
**PŘÍMÁ / NEPŘÍMÁ
APLIKACE**



Dle reálné situace je cenné testovat vedle přímé aplikace do půdy i vstup kontaminantu společně s organickým substrátem (např. s listím).

Retrospektivní hodnocení ekologických rizik, terénní studie, bioindikace - půdní mikrobiální ekotoxikologie:

- téměř nikdy není k dispozici kontrolní lokalita při praktickém hodnocení ekologických rizik
- systém hodnocení nejčastěji založen na korelačních vazbách mezi abiotickými (kontaminací) a biotickými parametry půdy = analýza kauzality
- v podstatě jde o komparativní posuzování stavu mikrobiálních společenstev půdy

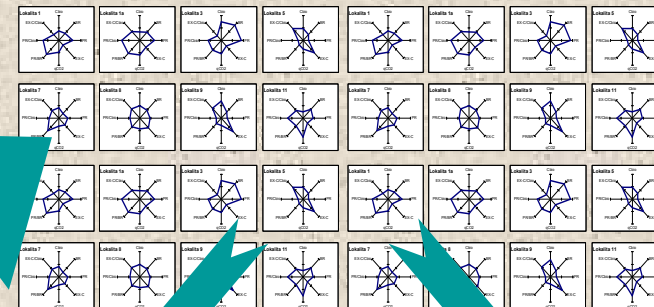


Retrospektivní hodnocení ekologických rizik, terénní studie, bioindikace - půdní mikrobiální ekotoxikologie:

Významnou úlohu hrají parametry půdy viz. následující příklad.

MONITORING OF SOILS AROUND CZECH HIGHWAYS

- Environmental study carried out in 1999 by RECETOX and co-operating companies
- Total 34 soil samples from different ecosystems (grasslands, arable, forest ...)
- Sampling at several distances from the highway (1 - 500 m)
- Also contamination with heavy metals and POPs was measured

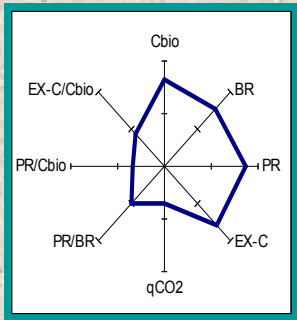


13 soils with
GOOD
biological
quality

13 soils with
BAD
biological
quality

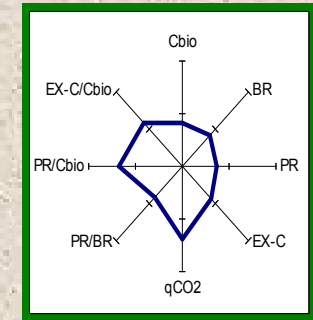
MONITORING OF SOILS AROUND CZECH HIGHWAYS

soils with GOOD biological quality

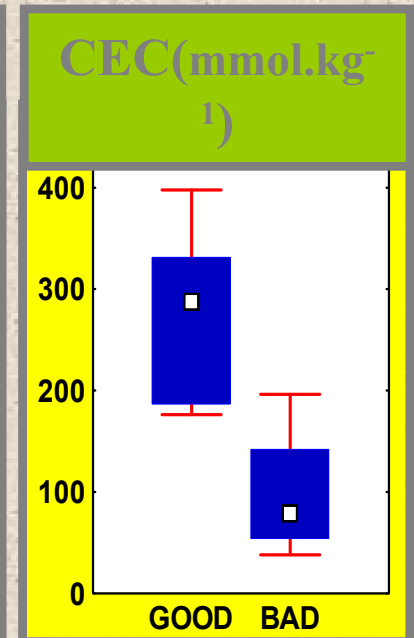
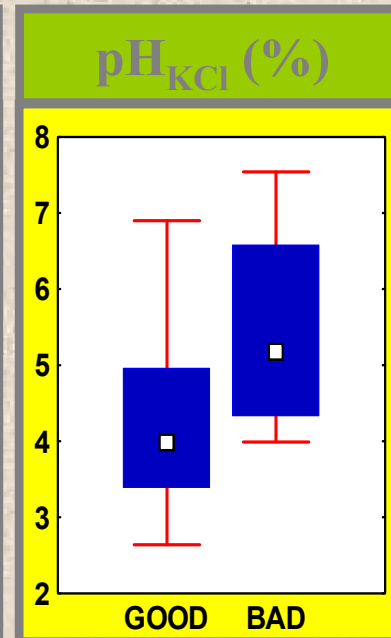
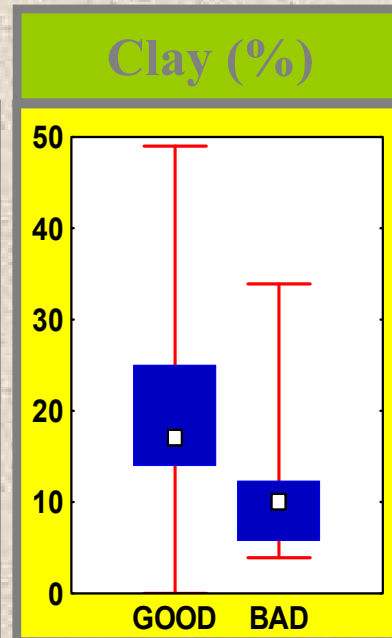
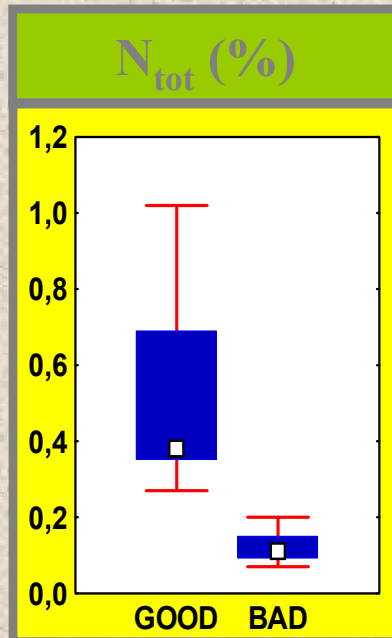
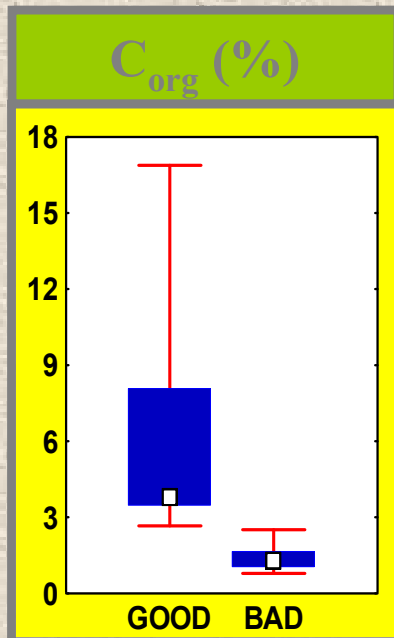


- mostly forest and grasslands soils
- farther from highway
- higher content of C_{org}
- higher content of N_{tot}
- higher content of clay
- lower pH
- higher CEC

soils with BAD biological quality

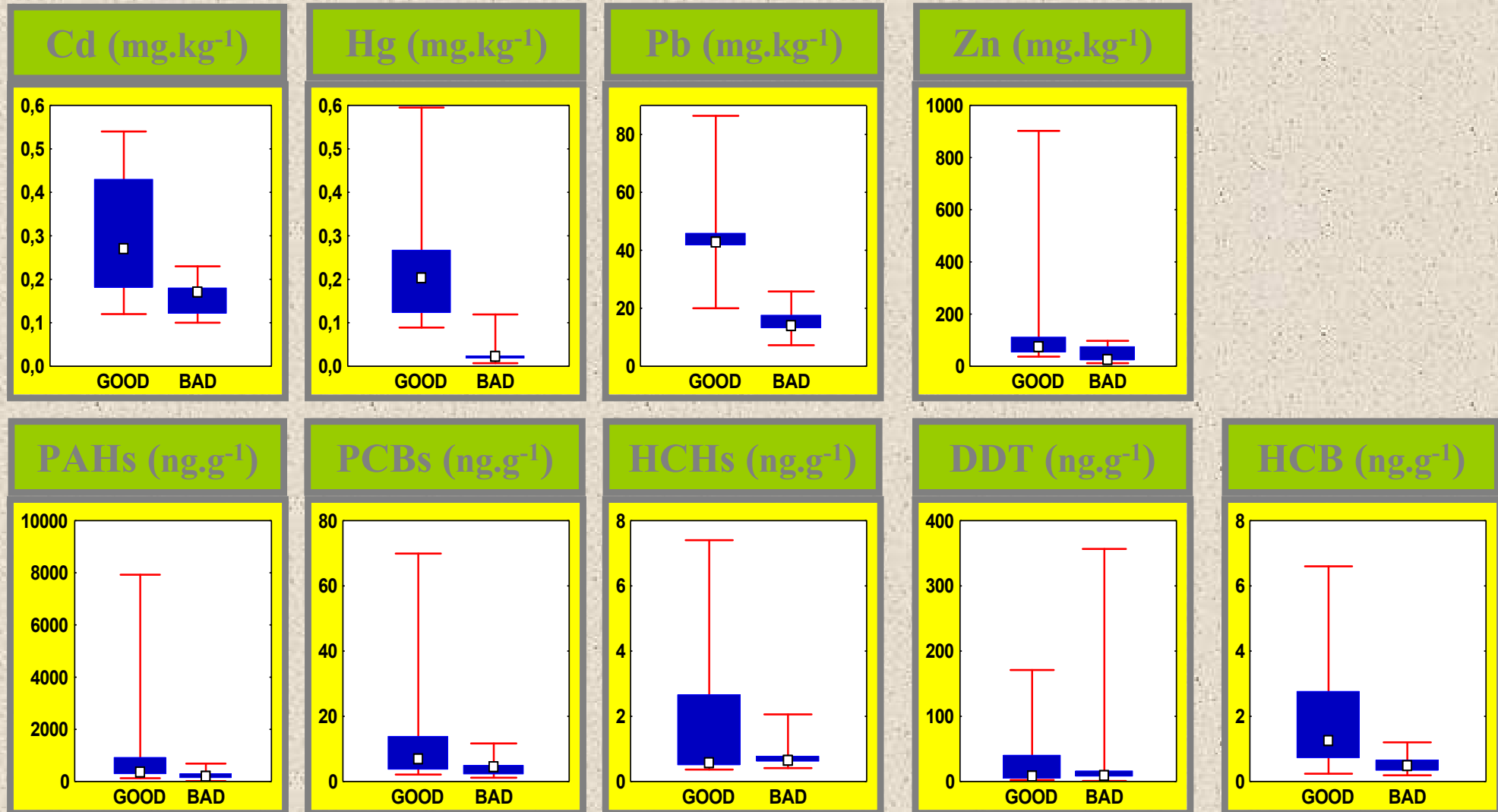


- mostly arable soils
- near to highway
- lower content of C_{org}
- lower content of N_{tot}
- lower content of clay
- more neutral pH
- lower CEC



MONITORING OF SOILS AROUND CZECH HIGHWAYS

CONTAMINATION: surprisingly, soils with **GOOD** biological quality display higher values of heavy metals and POPs !



- Is there possible long-term stimulation with slightly higher contamination?
- Is this only co-occurrence of both events caused by higher C_{org} and clay contents?

Prospektivní hodnocení ekologických rizik, identifikace nebezpečnosti (ekotoxicity) látek - nebezpečí pro půdní mikroorganismy:

NA ČEM TESTOVAT	<p>a) Umělý substrát (např. OECD, 1984) - 70% křemenný písek; 20% jíl; rašelina 10%; Voda: 40 - 60% WHC; pH 6,0 0,5</p> <p>b) Přímě na zasažených (nebo potenciálně zasažených) vzorcích půd (nutná znalost: C_{ox}, pH, obsah jílu, písku, KVK, půdní typ)</p>
JAK TESTOVAT	<p>Látka (látky) přidané do půdy podle své chemické podstaty (vhodný roztok, smíchání, fumigace, v organickém rozpouštědle).</p> <p>Nutno založit <u>relevantní kontrolu</u> simulující i způsob aplikace.</p> <p>Pokus uspořádat dle požadavků ve formě "dávka - odpověď".</p> <p>Pokus lze uspořádat jako laboratorní (mikrokosmos, mezokosmos) nebo i polní.</p>
JAK DLOUHO	<p>Lze měřit akutní účinek látky (hodiny - dny) nebo chronické působení v dlouhodobých inkubacích (měsíce - roky)</p>
CO MĚŘIT	<p>Základní sada parametrů, případně doplněná dalšími testy s vhodnými substráty</p>
VYHODNOCENÍ / INTERPRETACE	<p>Křivky "dávka - odpověď" pro jednotlivé parametry. Potenciální vliv testovaných látek</p>

1. Short-term effects on soil microbiology.

- autoři sledovali účinek LAS mikroorganismy písčité zemědělské půdy během 11-ti denní laboratorní inkubace
- 10 mikrobiálních parametrů:
 - degradace ethylenu
 - potenciální oxidace amoniaku
 - potenciální aktivita dehydrogenázy
 - β -glukosidázová aktivita
 - redukce železa
 - populace cellulolytických bakterií, hub a aktinomycét
 - bazální respirace půdy
 - obsah PLFA

jako necitlivé se ukázaly β -glukosidázová aktivita, bazální respirace půdy a obsah PLFA, důvodem byla pravděpodobně kombinace stimulu a inhibice různých částí mikrobiálního společenstva

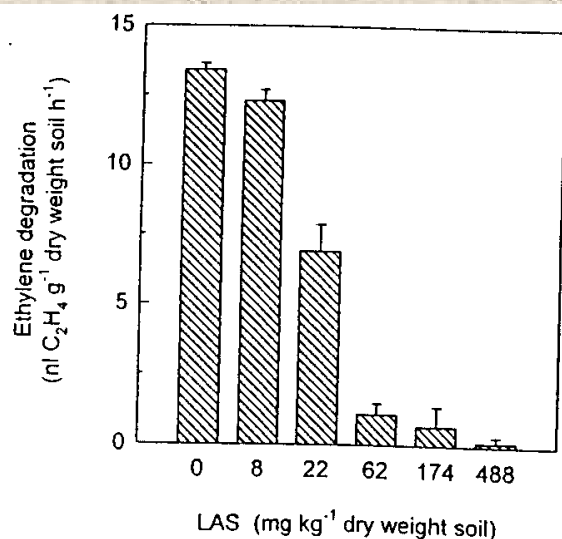


Fig. 1. Dose response of ethylene degradation in agricultural soil following linear alkylbenzene sulfonate (LAS) exposure for approximately 0.5 d. Data represent the mean \pm standard deviation (vertical bars) of three pseudoreplicates.

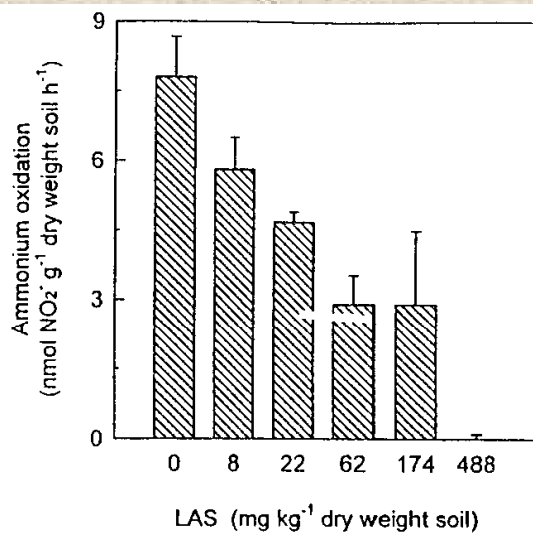


Fig. 2. Dose response of potential ammonium oxidation in agricultural soil after linear alkylbenzene sulfonate (LAS) exposure for 7 d. Data represent the mean \pm standard deviation (vertical bars) of three replicates.

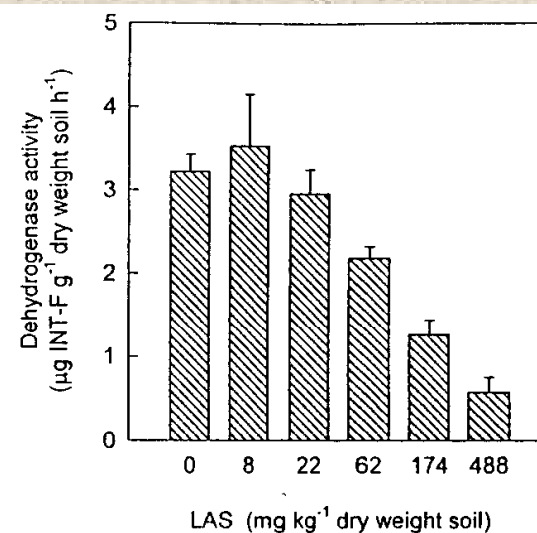


Fig. 3. Dose response of potential dehydrogenase activity in agricultural soil after linear alkylbenzene sulfonate (LAS) exposure for 7 d. Data represent the mean \pm standard deviation (vertical bars) of three replicates. INT-F = iodinitrotetrazolium formazan.

1. Short-term effects on soil microbiology.

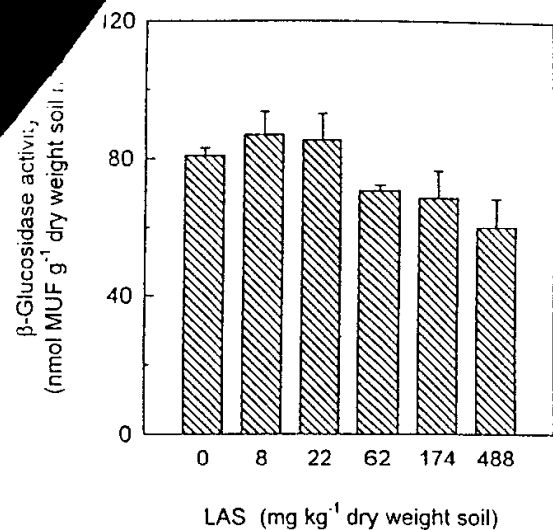


Fig. 4. Dose response of β -glucosidase activity in agricultural soil after linear alkylbenzene sulfonate (LAS) exposure for 7 d. Data represent the mean \pm standard deviation (vertical bars) of three replicates. MUF = 4-methylumbelliferone.

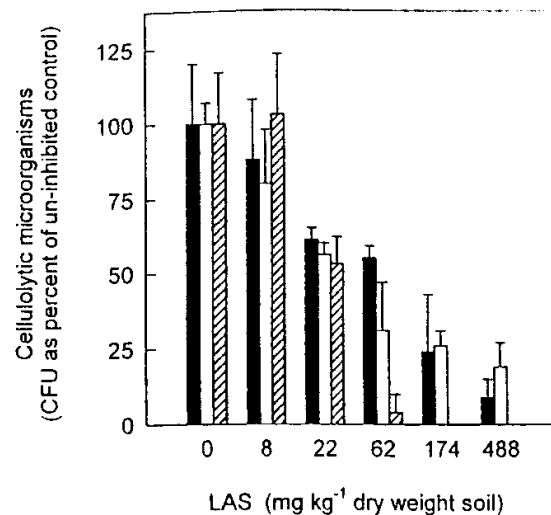


Fig. 6. Dose response of cellulolytic actinomycetes (solid bars), fungi (open bars), and bacteria (hatched bars) in agricultural soil after linear alkylbenzene sulfonate (LAS) exposure for 7 d. The number of colony-forming units (CFU) per gram dry weight soil of the uninhibited control were 9.1×10^5 for actinomycetes, 1.1×10^5 for fungi, and 3.4×10^6 for bacteria. Data represent the mean \pm standard deviation (vertical) of three replicates.

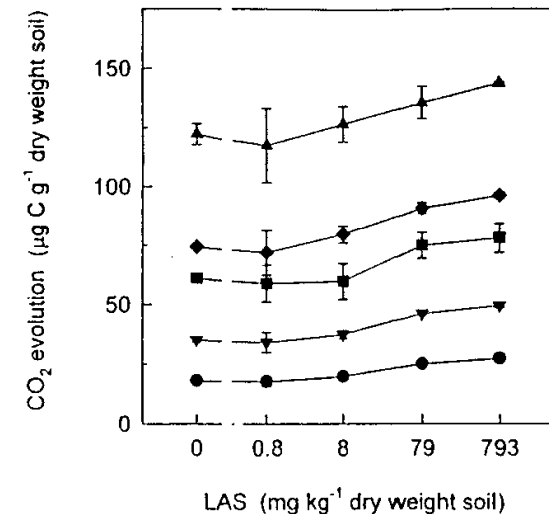


Fig. 7. Dose response of basal soil respiration (CO₂ evolution) in agricultural soil after incubation and linear alkylbenzene sulfonate (LAS) exposure for 1 (●), 2 (▼), 4 (■), 5 (◆), and 9 (▲) d. Data represent the mean \pm standard deviation (vertical bars) of two replicates.

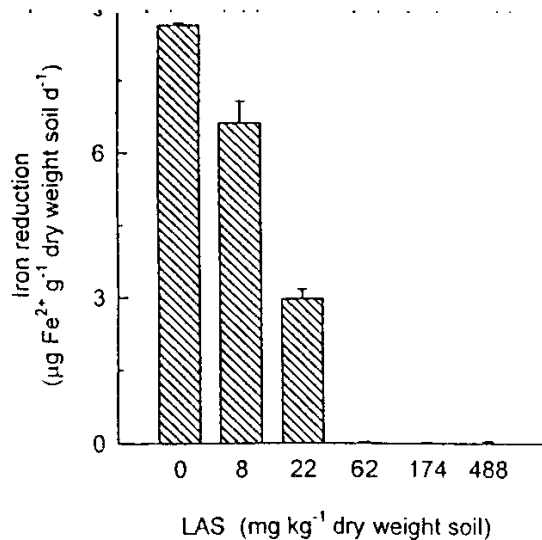


Fig. 5. Dose response of iron reduction in agricultural soil after linear alkylbenzene sulfonate (LAS) exposure for 5 d. Data represent the mean \pm standard deviation (vertical bars) of three replicates.

Příklad:**Effects and risk assessment of linear alkylbenzene sulfonates (LAS) in agricultural soil.****1. Short-term effects on soil microbiology.**

Table 2. Effect concentrations (EC10, EC50, no-observed-effect concentration [NOEC], and lowest-observed-effect concentration [LOEC]) for linear alkylbenzene sulfonate (LAS) toward microbial parameters in agricultural soil^a

Microbial parameter	Incubation (d)	EC10	EC50	NOEC	LOEC		
Ethylene degradation	0.5	9	NA ^b	24	NA	NA	
Ammonium oxidation	7	<8	(2-8)	40	(24-76)	0	10
Dehydrogenase activity	7	22	(6-47)	128	(99-154)	22	62
β-Glucosidase activity	7	47	(24-63)	>488	NA	174	488
Iron reduction	5	<8	(2-6)	17	(15-18)	0	8
Cellulolytic bacteria	7	11	(0-12)	24	(15-40)	8	22
Cellulolytic fungi	7	<8	(0-20)	32	(11-76)	8	22
Cellulolytic actinomycetes	7	8	(0-19)	80	(0-206)	8	22
Basal soil respiration	1-9	>793	NA	>793	NA	>793	>793
PLFA ^c content	11	>488	NA	>488	NA	>488	>488

^a For EC10 and EC50, the 95% confidence limits are given in parentheses. Data for LAS in soil are presented as mg/kg dry weight.

^b NA = not available.

^c PLFA = phospholipid fatty acid.

Mikrobiální ekotoxikologie při hodnocení ekologických rizik

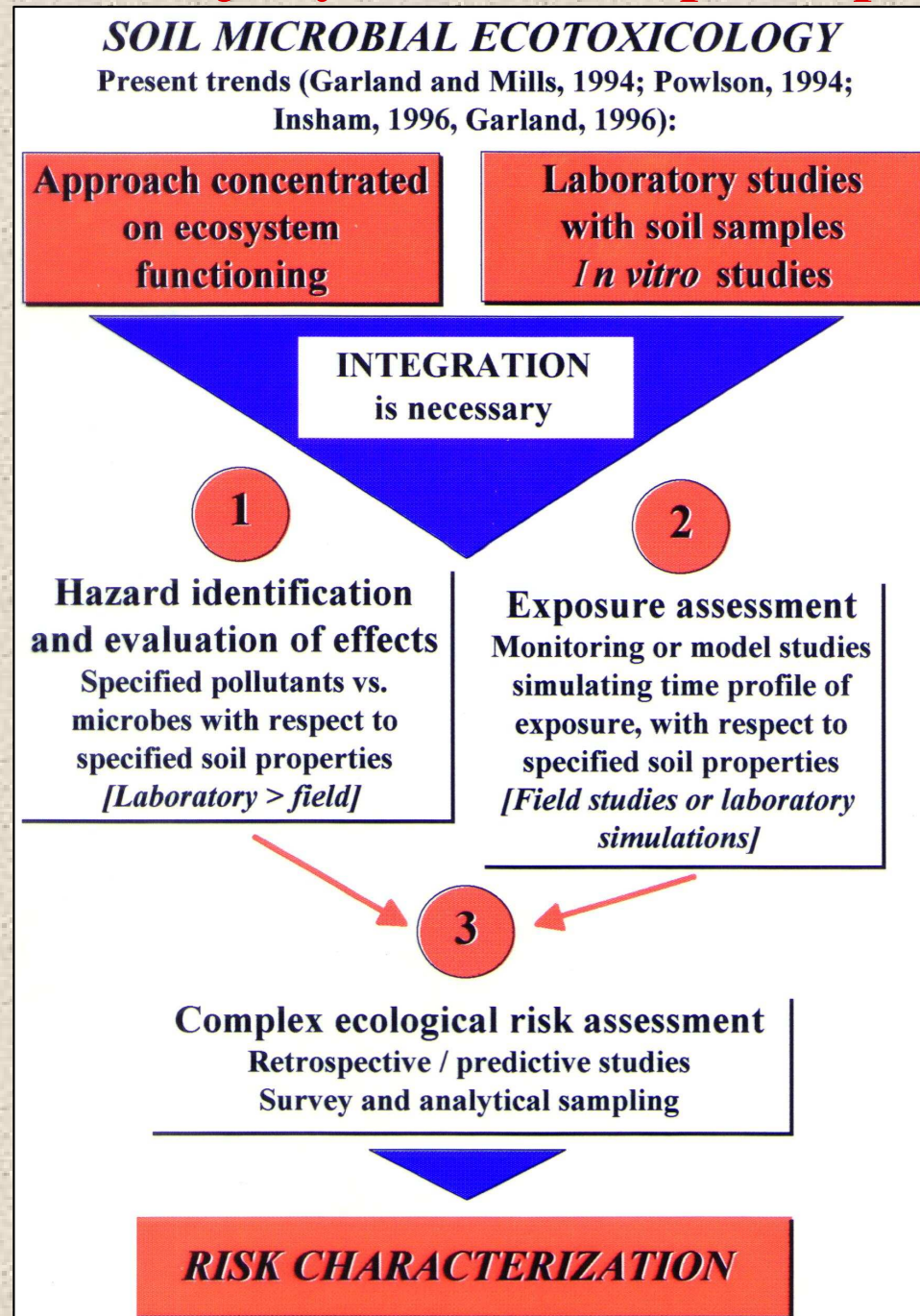
Table 2. Illustration of the role of microbiological bioassays in setting soil loading guidelines for smelter emissions. Shown are the five most sensitive bioassays considered for setting soil critical load limits for atmospheric deposition of each of 6 metals/metalloids. For each bioassay, the reference source as cited in Bird *et al.* (1999) is shown and the corresponding dissolved free-ion concentration in soil (mg L⁻¹) is given. The shaded references are those based on microbiological bioassays.

	Cd		Cu		Ni		P		Zn		As
Ibekwe et al. 1996 <i>Medicago sativa</i> shoot yield reduction	0.0018	Miles and Parker 1979b <i>Andropogon scoparius</i> root dry weight	0.010	Paliouris and Hutchinson 1991 <i>Silene vulgaris</i> root length	0.01	Balba et al. 1991 <i>Lycopersicum esculantum</i> dry weight of fruit	0.011	Posthuma et al. 1997 <i>Enchytraeus crypticus</i> reproduction	0.28	Wetzel and Werner 1995 <i>Rhizobium meliloti</i> number of nodules	0.01
Ibekwe et al. 1996 <i>Rhizobium meliloti</i> number of nodules	0.0022	van Gestel et al. 1991 <i>Eisenia fetida</i> growth	0.021	Dixon 1988 mycorrhiza percent laterals	0.19	Balba et al. 1991 <i>Lycopersicum esculantum</i> dry weight of fruit	0.013	Smit and van Gestel 1996 <i>Folsomia candida</i> number at 4 weeks	0.32	Steevens et al. 1972 <i>Pisum sativum</i> fresh weight of shelled peas	0.05
Wetzel and Werner 1995 <i>Rhizobium meliloti</i> number of nodules	0.0090	Halsall 1977 <i>Phytophthora</i> on roots	0.022	Wilke 1988 dehydrogenase activity	0.22	Balba et al. 1991 <i>Lycopersicum esculantum</i> dry weight of fruit	0.017	Sheppard et al. 1993 <i>Brassica rapa</i> time to first bloom	0.46	Jacobs et al. 1970 <i>Phaseolus vulgaris</i> fresh weight of pods	0.06
Bingham et al. 1975 <i>Spinacia oleracea</i> shoot yield	0.06	Chang and Broadbent 1981 microbial activity reduction in CO ₂ evolution	0.024	Dixon and Buschena 1988 ectomycorrhiza reduced	0.26	Miles and Parker 1979b <i>Andropogon scoparius</i> root dry weight	0.03	Chang and Broadbent 1981 microbial activity CO ₂ evolution	0.54	Woolson 1973 <i>Phaseolus vulgaris</i> plant yield	0.07
Bingham et al. 1975 <i>Glycine max</i> dry bean yield	0.07	Schat and Ten Bookum 1992 <i>Silene vulgaris</i> root growth	0.058	Dixon 1988 <i>Quercus rubra</i> leaf area	0.38	Seiler and Paganelli 1987 <i>Picea rubens</i> shoot and root growth	0.12	Sheppard et al. 1993 <i>Lumbricus terrestris</i> survival	0.55	Woolson 1973 <i>Phaseolus vulgaris</i> plant yield	0.13

Table 3. Illustration of the role of microbiological bioassays in setting guidelines for atmospheric ammonia. Shown are the five most sensitive bioassays considered, with references as cited in Sheppard (1999). The shaded reference was based on a microbiological bioassay.

Concentration (nmol NH ₃ mol ⁻¹ air)	Plant	Effect	Source
18	Grass (<i>Agrostis capillaris</i>)	Growth increase	Van der Eerden (1991)
35	<i>Calluna vulgaris</i>	Decreased water potential after drought	Van der Eerden (1991)
42	Bryophyte (<i>Racomitrium lanuginosum</i>)	Visual symptoms	Van der Eerden (1991)
55	Scots pine (<i>Pinus sylvestris</i>)	Increased biomass, lower water potential after drought	Dueck et al. (1998)
56	Scots pine (<i>Pinus sylvestris</i>)	Decreased mycorrhizal infection	Pérez-Soba et al. (1995)

Ideální je syntéza obou přístupů



Ideální je syntéza obou přístupů

