

Teoretický úvod

Vodní prostředí je často kontaminováno pesticidy z různých zdrojů. Jedná se zejména o zemědělské splachy, které představují potenciální nebezpečí pro necílové organismy. Tyto organismy jsou vystaveny směsím látek, které mohou způsobit akutní i chronickou expozici, což může vést k různým (synergickým či antagonistickým) nežádoucím účinkům.¹

Diuron je biologicky aktivní polutant přítomný v půdě, vodě a sedimentech. Jedná se o běžně používaný pesticid v různých plodinách, jako je bavlna, káva, cukrová třtina, kukuřice či pšenice.¹ Jeho výskyt byl ve vodním prostředí zaznamenán po celém světě. Diuron je herbicid, který inhibuje fotosyntézu tím, že blokuje elektronový transportní řetězec na fotosystému II u mikroorganismů a fotosyntetizujících rostlin.² Je také mírně toxický pro savce a ptáky a středně toxický pro vodní bezobratlé. Jeho hlavní produkt biologického rozkladu, 3,4-dichloranilin, který je stejně jako diuron perzistentní v půdě, vodě a podzemních vodách.²

Kontaminace vodního prostředí diuronem může vyvolat nepříznivé účinky na organismy, včetně mikrořas.¹ Řasy hrají ve vodních ekosystémech klíčovou roli, protože jako primární producenti jsou důležitou součástí základny potravního řetězce a jakýkoli vliv na ně může ovlivnit vyšší trofické úrovně a následně ovlivnit fungování ekosystému. Z tohoto důvodu se různé druhy řas často používají při posuzování rizik chemických látek. Kromě jejich důležité ekologické úlohy se mikrořasy snadno kultivují, mají krátkou generační dobu a jsou citlivé na řadu sloučenin (např. herbicidy), což z nich činí vhodné biologické nástroje při ekotoxikologickém testování znečišťujících látek.¹

Chemikálie a pomůcky

- řasová kultura o dostatečné hustotě buněk na mL kultivovaná ve standardním médiu (50% ZBB médium)
- 96-jamkové mikrotitrační desky (250 μ L/jamka), automatické pipety, špičky k pipetám, nádoby pro vyředění odpovídajících koncentrací testované látky
- destilovaná voda, nesterilní 200% ZBB médium
- dichroman draselný – pozitivní kontrola

Podmínky testu

- doba expozice: 3 dny (72h)
- interval měření: založení testu, po 24, 48, 72 hodinách expozice
- teplota 23 °C
- osvětlení 2080 lx (použití klasické halogenové zářivky a zářivky Aqua Glo fialová, 40W)

Postup

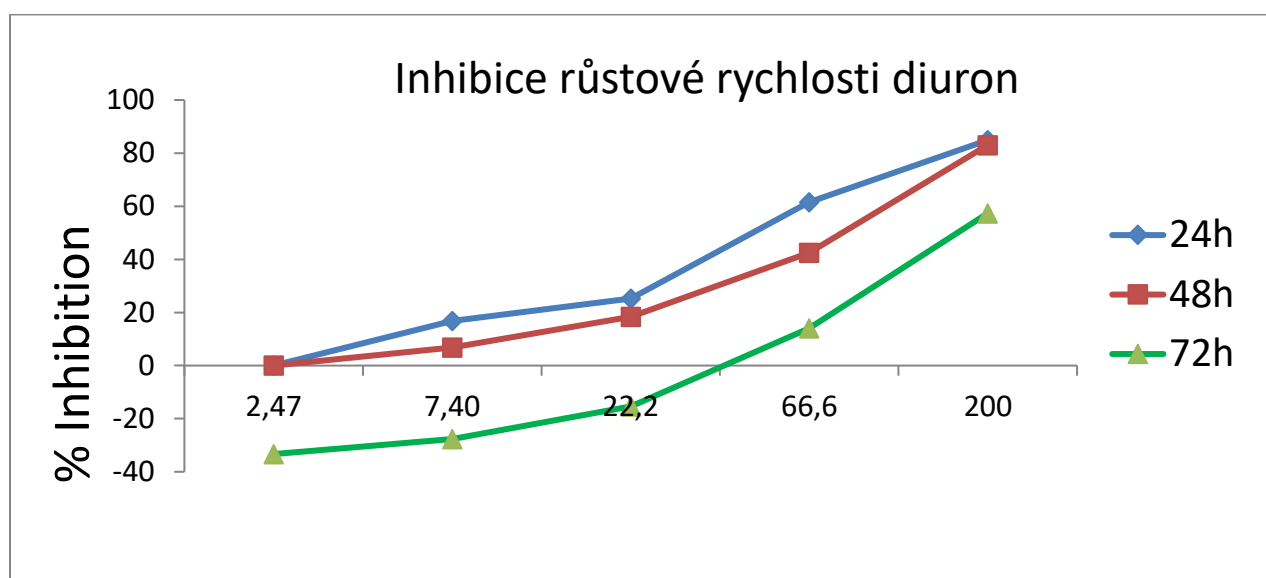
- 1) bylo nachystáno správně naředěné inokulum řas v 50% ZBB médiu
- 2) inokulum řas bylo napipetováno po 125 μ L do každé testované jamky
- 3) podle pipetovacího schématu byla každá jamka doplněna vzorkem zředěným v 50% médiu v objemu 125 μ L
- 4) destička řas byla měřena při absorbanci 680 nm v den založení experimentu, 24 h, 48 h a 72 h po založení
- 5) naměřené hodnoty byly vyhodnoceny v programech MS Excel a GraphPad Prism 5

Výsledky

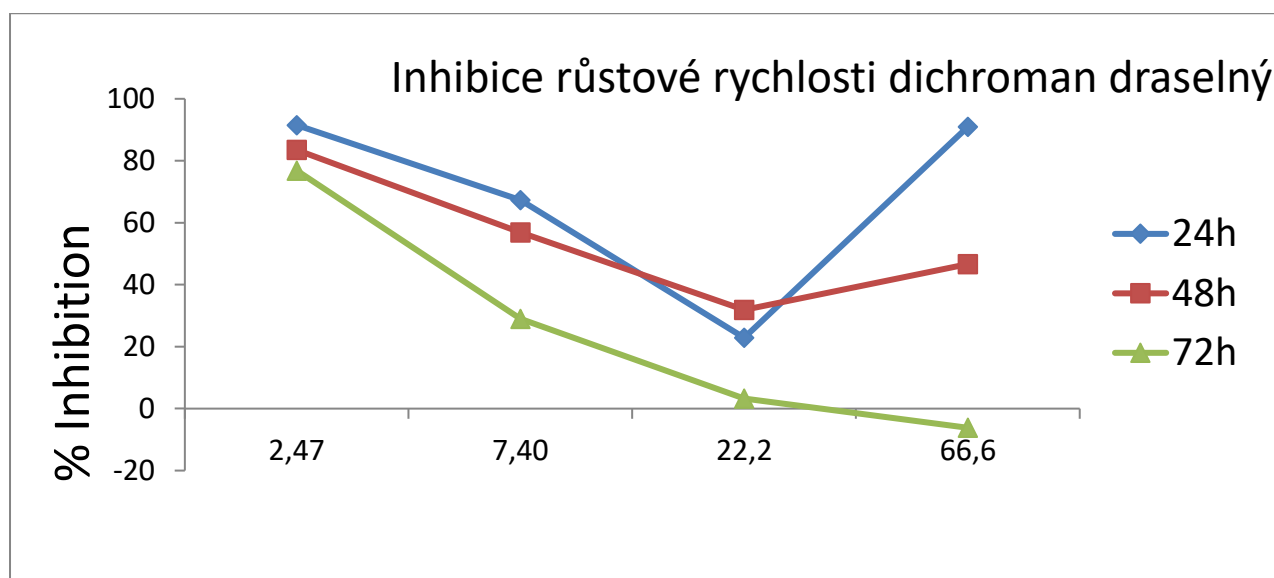
Vygenerovaná hodnota EC20 pro diuron byla 97,9 µg/L, EC50 180 µg/L. Pro dichroman draselný byla hodnota EC20 274 µg/L a EC50 181 µg/L, což nedává smysl, důvod této chyby je zatím předmětem bádání. Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 1, grafické zobrazení znázorňují Graf 1 a 2 a Obrázky 1 a 2.

Tabulka 1: Výsledné hodnoty pro inhibici růstové rychlosti po 24 h, 48 h a 72 h

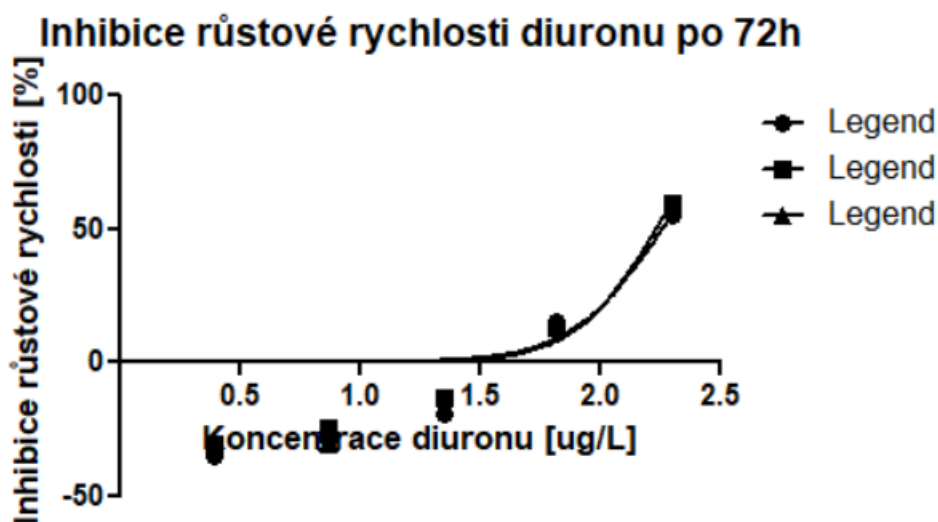
GRI	c	Diuron [ug/L]								
		2,47	7,40	22,2	66,6	200	125	250	500	1000
	log c	0,393	0,869	1,35	1,82	2,30	2,10	2,40	2,70	3,00
24h	AVG	0,00	16,9	25,2	61,6	84,9	91,5	67,4	22,9	90,9
	SD	0,381	5,14	7,90	7,06	1,52	8,63	3,96	4,50	12,8
48h	AVG	0,00	6,84	18,3	42,5	83,0	83,5	56,8	31,9	46,7
	SD	4,41	5,76	4,33	1,47	4,89	5,04	3,92	0,00	5,58
72h	AVG	-33,3	-27,6	-15,3	14,0	57,4	76,9	29,0	3,23	-6,19
	SD	2,72	3,60	3,79	0,969	3,91	1,01	4,07	NA	2,79



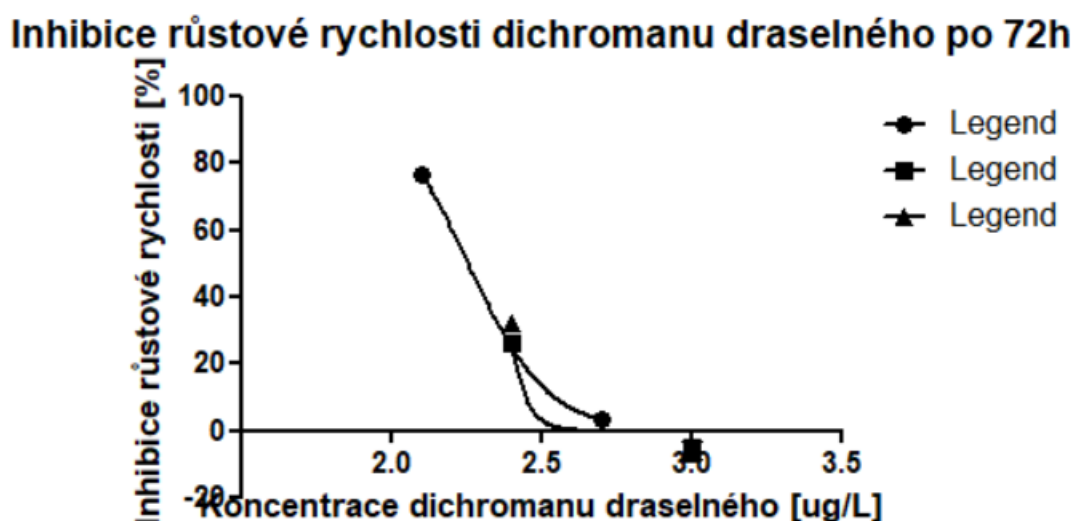
Graf 1: Inhibice růstové rychlosti pro diuron po 24 h, 48 h a 72 h



Graf 2: Inhibice růstové rychlosti pro dichroman draselný po 24 h, 48 h a 72 h



Obrázek 1: Inhibice růstové rychlosti diuronu po 72h



Obrázek 2: Inhibice růstové rychlosti dichromanu draselného po 72h

Diskuze a závěr

Negativní/solvent kontrola vycházela v nepředpokládaných hodnotách, další počítání s ní nebylo možné. Proto byla inhibice počítána vůči nejnižší koncentraci diuronu, což zkresluje očekávatelné výsledky. Zajímavé je, že EC₂₀ u dichromanu draselného vychází vyšší než EC₅₀. Pravděpodobně se jedná o chybně zvolený graf v GraphPadu nebo v průběhu měření vznikla jiná chyba.

Zkouška se považuje za platnou, pokud se EC₅₀ způsobena referenčním roztokem (dichroman draselný – pozitivní kontrola) pohybuje v rozmezí 0.8-1.2 mg/L. Naměřená hodnota EC₅₀ byla 0,181 mg/L, zkouška se proto nemůže prohlásit za platnou.

Použitá literatura

1. Adrislaine S. Mansano, R. A. M. H. C. D. E. C. F. E. M. V. H. S. O. R. M. H. R. S. Effects of diuron and carbofuran and their mixtures on the microalgae *Raphidocelis subcapitata*. *Ecotoxicol Environ Saf* **142**, 312–321 (2017).
2. S Giacomazzi, N. C. Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere* **56**, 1021–1032 (2004).