

Výzkumné centrum pro chemii životního prostředí a ekotoxikologii RECETOX

Toxiny sinic - Bioakumulace v rybách a jejich účinky

Mgr. Ondřej Adamovský

Masarykova Univerzita- RECETOX, Kamenice 3, Brno, Česká republika
Centrum pro cyanobakterie a jejich toxiny, Kamenice 3, Brno, Česká republika

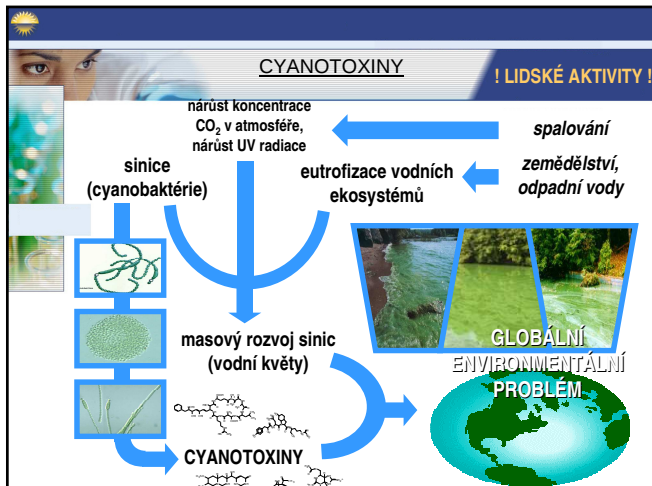


SINICE

- Staré 3 miliardy let-prvotní atmosféra
- 150 rodů, 2000 druhů
- >80 % nádrží v ČR sinice - eutrofizace
- Celosvětový problém – pitná voda, toxicita
- Výskyt i na Antarktidě !



10 microns



CYANOTOXINY

- sekundární metabolity sinic s různými typy biologické aktivity
- rozmanitá skupina látek – chemicky (heterocykly, lineární a cyklické peptidy, lipidické sloučeniny...) i toxikologicky (široká škála mechanismů účinku – vliv na základní procesy buňkách nebo i na specifické fyziologické pochody – přenos nervového vzruchu apod.) – základní členění:

„klasické cyanotoxiny“ (microcystiny, nodulariny, anatoxiny, saxitoxiny, cylindrospermopsin, lipopolysacharidy)

Ostatní cyanotoxiny - mají nízkou akutní toxicitu, ale vykazují různé typy biologické aktivity – antivirální, antibakteriální, alelopatická, protinádorová, inhibice různých enzymů a buněčných procesů

CYANOTOXINY

- nejvýznamnější (cyanotoxiny) jsou:

microcystiny a nodulariny
(homo)anatoxin-a
anatoxin-a(S)
saxitoxiny
cylindrospermopsin

- nejvýznamnější rody produkující cyanotoxiny (dosud identifikováno cca 50 druhů produkujících tyto látky):

Anabaena (microcystiny, anatoxiny, anatoxin-a(S), saxitoxiny, cylindrospermopsin)
Aphanizomenon (anatoxiny, saxitoxiny, cylindrospermopsin)
Microcystis, Nodularia (microcystiny a nodulariny)
Planktothrix/Oscillatoria (microcystiny, anatoxiny, saxitoxiny)
Cylindrospermopsis (cylindrospermopsin, saxitoxiny)

- toxicitu vykazují také sinicové **lipopolysacharidy** – součást buněčných stěn všech sinic

Microcystiny a nodulariny

- Cyklické peptidy
- Produkovány planktonními, bentickými i terestrickými sinicemi:

Zřejmě nejrozšířenější cyanotoxiny v prostředí vůbec – známe ze všech světadílů včetně Antarktidy, nalezeny i v sinicích z horkých pramenů, vulkanických jezer, v lišejnících, nejen eutrofní jezera, ale i v oligotrofních nádržích (**Alpská jezera – otravy krav microcystiny z bentických sinic**), produkce microcystinů i pikosinicemi (Synechocystis, Aphanocapsa) – **špatně odstranitelné při výrobě pitné vody** (filtrace málo účinná)

- Brakické vody – **nodularin** produkovaný *Nodularia spumigena*, chemicky, toxikologicky i fylogeneticky blízké příbuzný microcystinům

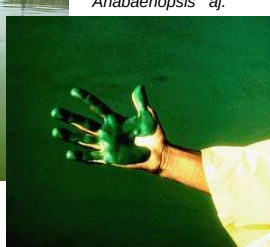
Bioakumulace microcystinu-LR v rybí tkáni

microcystin-LR




ZDROJE

SINICE RODU:
Anabaena, *Microcystis*,
Planktothrix, *Nostoc*,
Anabaenopsis aj.



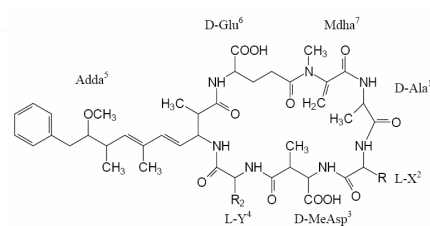
Bioakumulace microcystinu-LR v rybí tkáni

Stanovovaná látka

microcystin-LR

cyklo – (D-alanin1-L-X2-D-MeAsp3-L-Y4-Adda5-D-glutamová kyselina6-Mdha7)

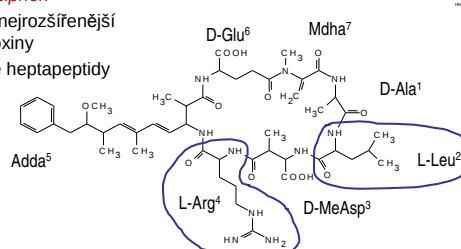
STRUKTURA



Obecný vzorec microcystinů. V případě **microcystinu-LR** je X2 L-leucin a Y4 L-arginin.

MICROCYSTINY

- producenti *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Nostoc*, *Hapalosiphon*
- zřejmě nejrozšířenější cyanotoxiny
- cyklické heptapeptidy



- přes 70 strukturálních variant

MICROCYSTINY

- relativně stabilní a odolné vůči rozkladu
- komplikace při výrobě pitné vody – nutné nákladné technologie

WHO v roce 1998: **TDI (MC-LR) = 0,04 µg/kg/den**
Doporučený limit pro koncentrace v pitné vodě
1 µg /L

Česká republika: **vyhláška MZd č. 252/2004 Sb.**, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody
1 µg /L

Výzkumné centrum pro chemii životního prostředí a ekotoxikologii

RECETOX

Toxin	Producent	Skupina	LD50 (µg/kg)
aphantoxin (saxitoxin)	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	sinice	10
anatoxin-a(S)	<i>Anabaena flos-aquae</i>	sinice	20
microcystin-LR	<i>Microcystis aeruginosa</i>	sinice	50
nodularin	<i>Nodularia spumigena</i>	sinice	50
botulin	<i>Clostridium botulinum</i>	bakterie	0,001
tetanový toxin	<i>Clostridium tetani</i>	bakterie	0,002
tetrodotoxin	<i>Tetraodon fahaka</i> aj. (čtverzubec - „fugu“)	ryba	8
akonitin	<i>Aconitum napellus</i> (oměj šalouněk)	vyšší rostlina	100
jed kobry	<i>Naja naja</i> (kobra indická)	plaz	315
jed štíra	<i>Centruroides suffusus</i>	členovec	430
tubokurarin (kurare)	<i>Chondrodendron tomentosum</i>	vyšší rostlina	500
strychnin	<i>Strychnos nux-vomica</i>	vyšší rostlina	980
falloidin	<i>Amanita phalloides</i> (muchomůrka zelená)	houba	2000
aflatoxin	<i>Aspergillus flavus</i>	houba	9500

Bioakumulace microcystinu-LR v rybí tkáni

Sinicový květ – problém ?



USA



Department of Infrastructure, Planning and Natural Resources
AUSTRÁLIE

SINICE vs RYBY

- Velké množství **biomasy** – vrchní 1 cm vod.sloupce bez vody
- Produkce MCs až **1%** sušiny!! Nevíme proč ??
- **Kolaps SINIC** : - rozklad biomasy
 - snížení obsahu kyslíku (teplé měsíce-i tak málo O₂)
 - zvýšení pH, amoniku... - POŠKOZENÍ ŽABER
 - produkce toxických látek !!!

SINICE vs RYBY

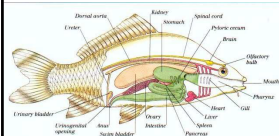
- Ovlivnění žaber – Na⁺/K⁺ pumpa – ovlivnění příjmu kyslíku
- MCs hepatotoxicita – hyperfosforylace proteinů – deregulace buňky- tumor
- Další cyanotoxiny – neurotoxicita, ovlivnění proteosyntézy




SINICE vs RYBY

Ryby potěr

- Relativně velký povrch těla
- Slabý detoxifikační systém
- život v mělkých slunných vodách kde je výskyt sinic větší → větší efekty



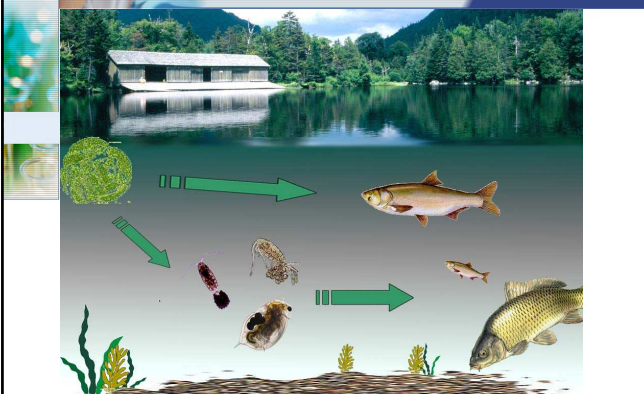

Bioakumulace microcystinu-LR v rybí tkáni

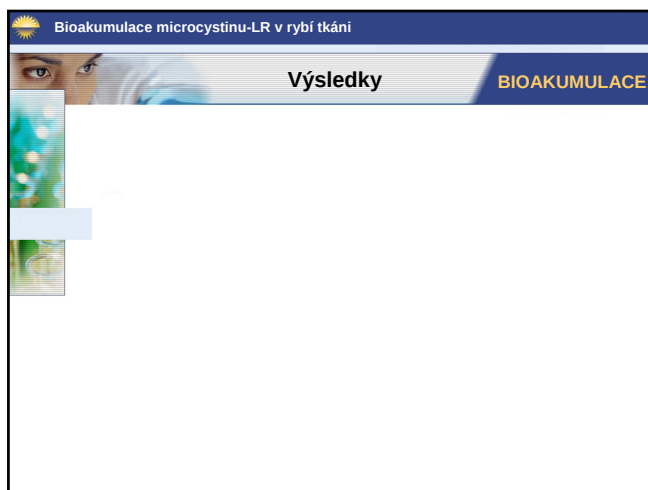
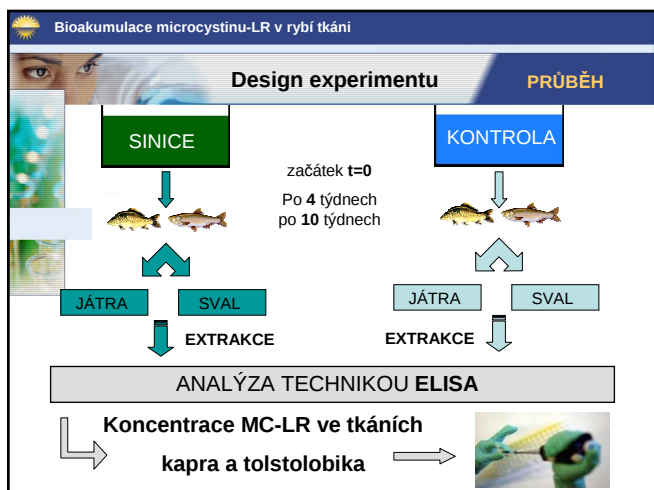
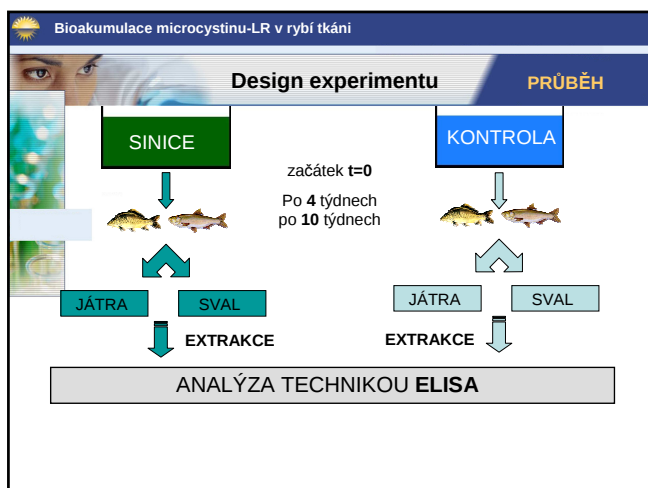
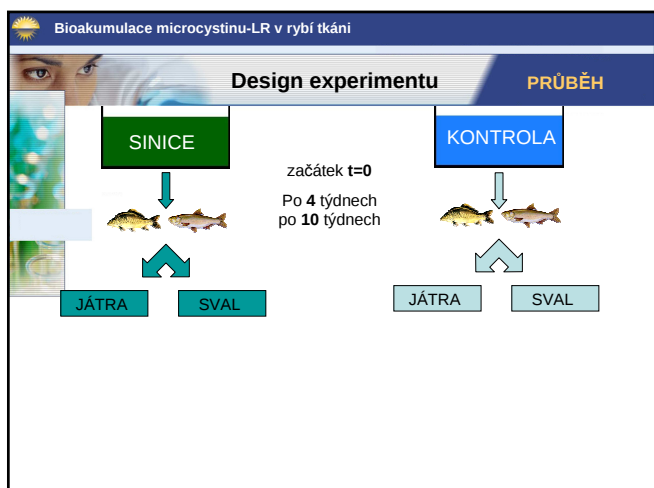
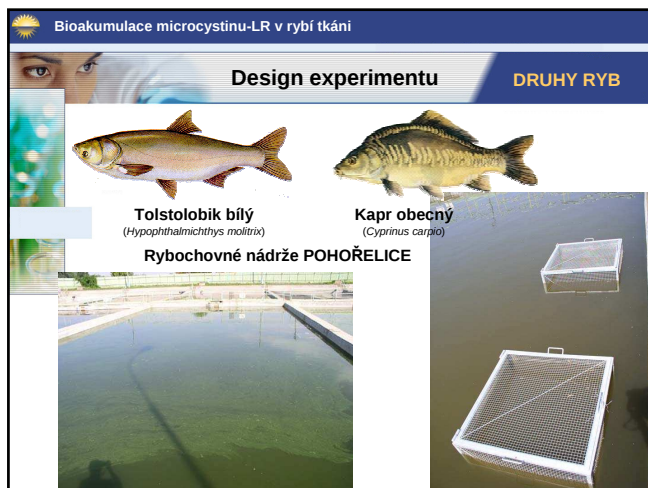
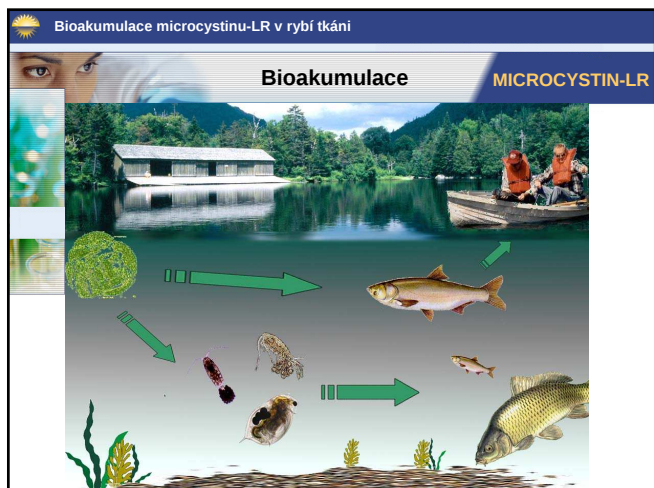
Bioakumulace MICROCYSTIN-LR

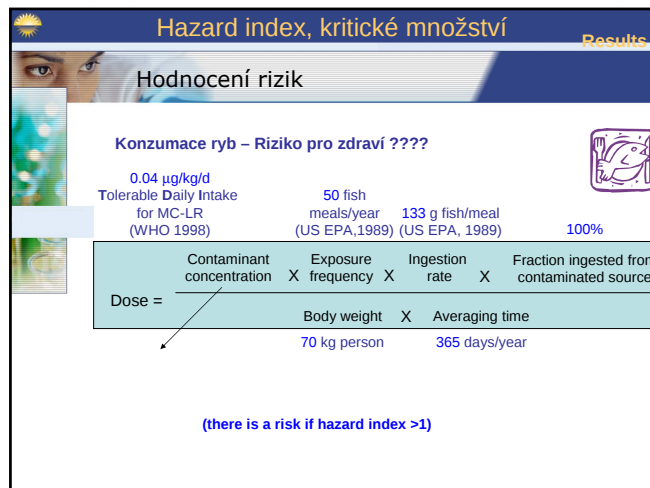
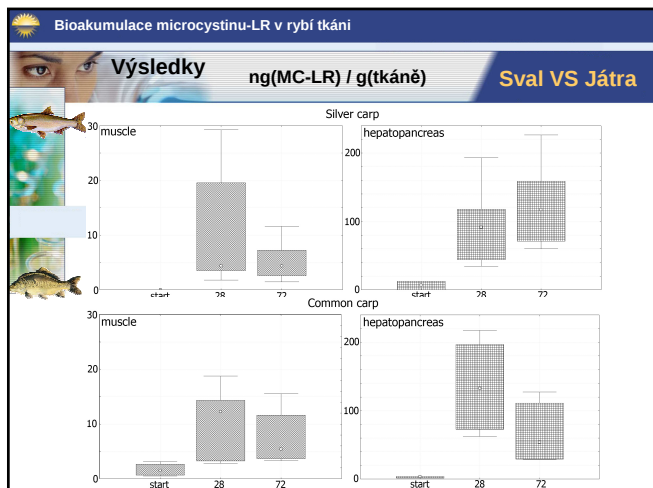
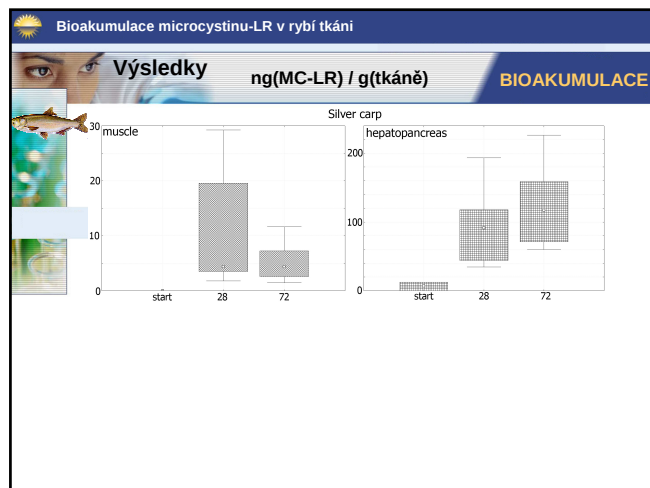
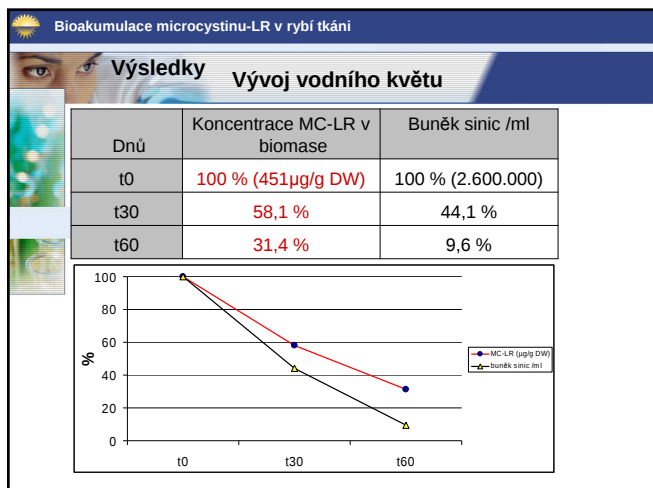


Bioakumulace microcystinu-LR v rybí tkáni

Bioakumulace MICROCYSTIN-LR







Bioakumulace microcystinu-LR v rybí tkáni

Hazard index, kritické množství

	Tolstolobik bílý	Kapr obecný
	průměr /Max	průměr/Max
MCs ve svalu (ng/g f.w.)	4.4 / 29.3	5.8 / 18.8
EDI Magalhães (2001) (µg/kg/day)	0.022 / 0.147	0.029 / 0.094
Index nebezpečnosti	0.55 / 3.66	0.73 / 2.35
Kritické množství (g)	545 / 82	414 / 128
EDI, US EPA (1989) (µg/kg/day)	0.001 / 0.008	0.002 / 0.005
Index nebezpečnosti	0.03 / 0.19	0.04 / 0.12
Kritické množství (g)	4645 / 698	3524 / 1087



Bioakumulace microcystinu-LR v rybí tkáni

Stanovení oxidativního stresu **BIOMARKERY**

?



Bioakumulace microcystinu-LR v rybí tkáni

Stanovení oxidativního stresu **BIOMARKERY**

BIOMARKER – měřitelná změna buněčných nebo biochemických složek, struktur nebo funkcí, která je způsobena cizorodými látkami



Bioakumulace microcystinu-LR v rybí tkáni

Stanovení oxidativního stresu **BIOMARKERY**

BIOMARKER – měřitelná změna buněčných nebo biochemických složek, struktur nebo funkcí, která je způsobena cizorodými látkami

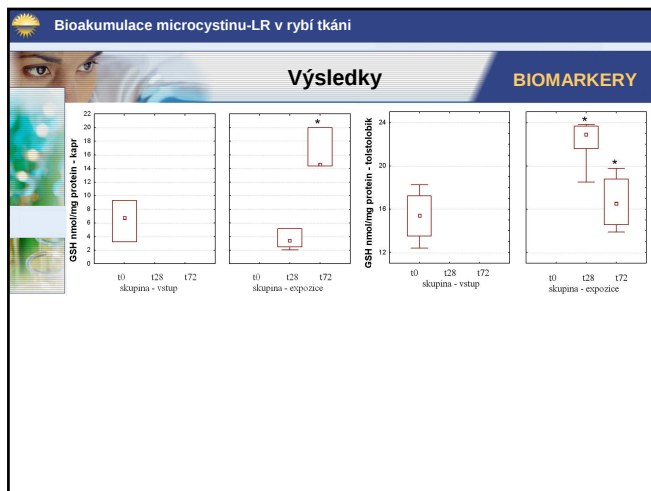
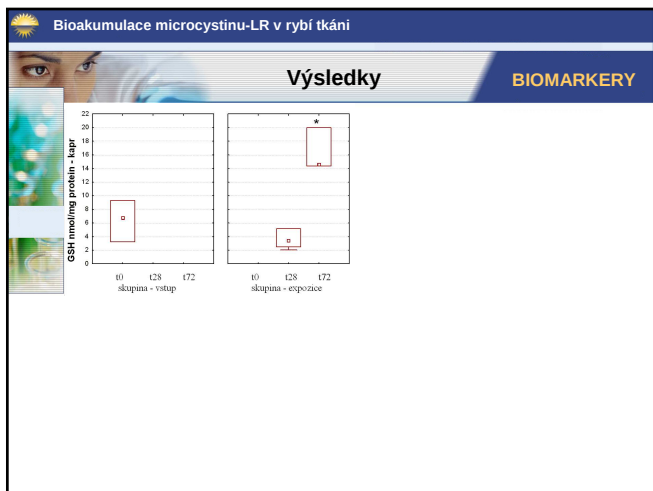
GSH Glutathion

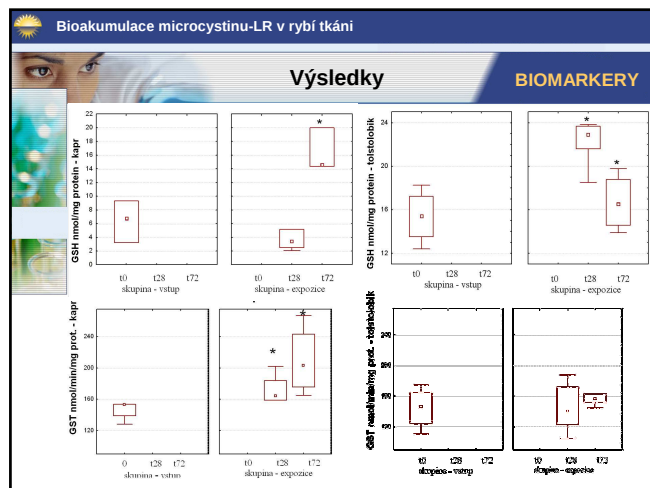
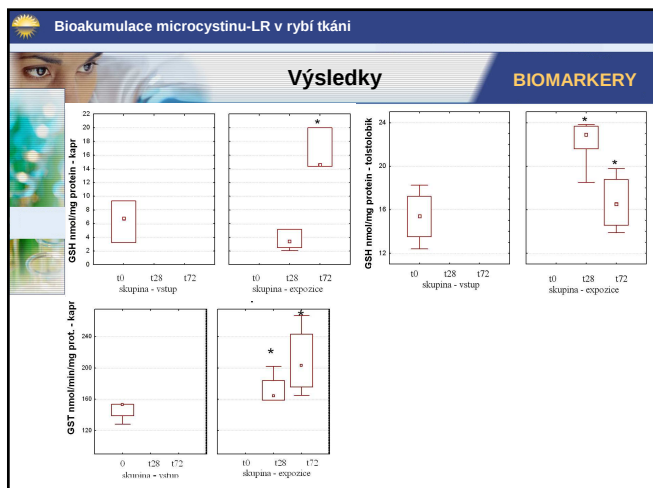
GST Glutathion-S-transferáza



Bioakumulace microcystinu-LR v rybí tkáni

Výsledky **BIOMARKERY**





Bioakumulace microcystinu-LR v rybí tkáni

Závěr

- Θ Potvrzení bioakumulace microcystinu-LR v rybích tkáních.
rozdíly kontrola VS sinice
- Θ Rozdíly u dvou druhů ryb
rozdíly kapr VS tolstolobik
- Θ Rozdílná míra bioakumulace v rybích orgánech
svaly VS játra
- Θ Potvrzení **oxidativní stres** – zvýšená hladina GSH, GST u exponovaných ryb

Výzkumné centrum pro chemii životního prostředí a ekotoxikologii

RECETOX

RECE TOX

DĚKUJI ZA POZORNOST