

VLIV SINIC RODU MICROCYSTIS NA TOLSTOLOBIKA BÍLÉHO (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.).

*Influence of blue-green algae on silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.).*

R. KOPP, J HETEŠA

Summary: The goal of the presented works was to evaluate an influence of cyanobacterial water bloom (*Microcystis aeruginosa* 90%, *Microcystis ichthyoblabe* 10%) on blood indices of silver carp

25 individuals of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) with the average body mass 215,4 g were used in the experiments. The experimental fish were exposed in two different concentrations of water bloom (chlorophyll *a* 68 – 82 µg.l⁻¹ and 128 – 164 µg.l⁻¹).

The water bloom population was characterized by three different Microcystins with total concentration 193.9 µg .g⁻¹ of dry mass.

Haematological examination showed statistically significant changes of blood indices. Values Hb, PCV, BC, ALT, AST and LDH were increased, values MCHC and TP were decreased in comparison to control fish. Statistically significant ($P < 0,05$) were values PCV a BC, statistically highly significant ($P < 0.01$) was ALT activity.

The observations confirmed an influence of cyanobacterial biomass on silver carp. The effect of toxic water bloom populations was manifested by changes of blood plasma indices.

Úvod

Rod *Microcystis* patří mezi nejdůležitější rody vytvářející sinicové vodní květy. Jde o výhradně planktonní, kokální sinice, obklopené slizem, s řadou druhů produkujících toxické látky (Komárek 1996).

V důsledku zvyšování eutrofizace vod přibývá masových rozvojų vodních květů sinic v celosvětovém měřítku. V Evropě jsou druhy rodu *Microcystis* považovány za nejtoxičtější sinice a nejčastější úhyny ryb, dříve objasňované kyslíkovými deficity, byly po vyšetření objasněny právě toxiny sinic (Maršálek a Turánek 1996).

Tolstolobik bílý, přes zjevné rozdíly v názorech na jeho schopnost požírat a trávit sinice, nesporně v různé míře sinice konzumuje (Krupauer 1989).

Schopnost tolstolobiků trávit sinice není dokonalá; bylo prokázáno, že mnohé procházejí trávicím traktem živé a na některé má tento proces dokonce stimulující účinek

(Adámek 1981). Voros a kol. (1997) zjistili, že sinice se slizovým obalem jsou pro tolstolobika prakticky nestravitelné.

Hlavní cestou vstupu toxinů sinic do organismu je gastro-intestinální trakt (Tencalla a kol. 1994). Lze tak předpokládat větší zasažení organismu toxinem při vyšší stravitelnosti sinic. Beveridge a kol. (1993) zjistil u tolstolobika bílého průkazné rozdíly v příjmu sinice *Microcystis aeruginosa* v závislosti na toxicitě, kdy s rostoucí toxicitou sinicové populace klesalo množství přijatých buněk.

Šesterenko (1979) upozorňuje na výrazné snížení hemoglobinu v krvi a na změny v leukogramu, signalizující příznaky anemie u tolstolobiků živících se výhradně sinicemi. Při intraperitoneální aplikaci čistého microcystinu LR tolstolobiku bílému došlo k statisticky významnému snížení počtu leukocytů, lymfocytů, hodnot hematokritu, leukokritu, hemoglobinu, celkových bílkovin a výraznému zvýšení hodnot jaterních enzymů (ALT, AST, LDH) (Vajcová 1998, Vajcová a kol. 1998).

Materiál a metodika

K pokusu (18. 8. – 20. 8. 1998) byla použita jednoletá násada tolstolobika bílého o průměrné hmotnosti $215,4 \pm 34,6$ g v celkovém počtu 25 ryb (20 pokusných a 5 kontrolních ryb). Tolstolobici byli aklimatizováni 24 hod. před zahájením pokusu v laminátovém bazénu ($0,5 \text{ m}^3$).

K vlastnímu pozorování byly ryby umístěny do 100 l skleněných nádrží (5 ks/nádrž). Všechny nádrže byly nepřetržitě vzduchovány. Tolstolobici byli chováni v prostředí dvou různých koncentrací přírodní populace vodního květu sinic po dobu 48 hod. Jako kontrolní sloužila skupina ryb chovaná v 24 hod. odstáté vodovodní vodě.

Průměrná teplota vody v pokusném období činila $27,3 \text{ }^{\circ}\text{C}$, průměrný obsah rozpuštěného kyslíku byl $5,4 \text{ mg.l}^{-1} \text{ O}_2$ a hodnota pH 7,9.

Biomasa sinic a řas byla vyjádřena v hodnotách chlorofylu *a* (Štěpánek a kol. 1982) a počtem buněk (Bürkerova komůrka). Vodní květ sinic byl analyzován na obsah microcystinů za použití vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC).

Na závěr experimentu byla všem rybám odebrána krev do heparinizovaných injekčních stříkaček. Množství hemoglobinu (Hb), hematokrit (PCV), leukokrit (BC) a střední barevná koncentrace (MCHC) byly stanovovány dle standartních metod (Svobodová a kol. 1986). Aktivita aminotransferáz (ALT, AST) byla stanovena komerčním setem Humanzym UV test (Human, Germany) a aktivita laktát-dehydrogenázy (LDH) za využití setu LDH 105 UV (Lachema Diagnostika, Czech Republic). Ke zjištění koncentrace celkových bílkovin

(TP) v krevní plazmě byl použit komerčně vyráběný set Bio-Lachema-Test (Lachema Diagnostika, Czech Republic).

Po odebrání krve byly všechny ryby usmrceny a byla zjišťována přítomnost sinic v trávicím traktu a žaberním aparátu ryb.

Statistické vyhodnocení výsledků (t-test) bylo provedeno za využití programu Microsoft Excel 97.

Výsledky a diskuze

Hematologické ukazatele krve násady tolstolobika bílého.

Pokus (1998)		VKS (48 hod.)		Kontrola
chlorofyl <i>a</i> ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	průměr	74,23	145,60	
počet buněk.ml ⁻¹	průměr	$3,4 \cdot 10^6$	$5,5 \cdot 10^6$	
Hb (g.l^{-1})	průměr SD	92,50 12,10	103,80 17,40	89,00 8,37
BC (l.l^{-1})	průměr SD	0,0060 0,0025	0,0055 0,0028	0,0035 0,0009
PCV (l.l^{-1})	průměr SD	0,35 0,05	0,39 0,09	0,29 0,06
MCHC (l.l^{-1})	průměr SD	0,27 0,05	0,28 0,05	0,33 0,08
TP (g.l^{-1})	průměr SD	31,38 4,50	31,05 4,18	33,43 7,01
ALT ($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	průměr SD	2,74 1,12	4,45 1,89	1,91 0,48
AST ($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	průměr SD	1,45 0,38	2,63 1,38	1,44 0,78
LDH ($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	průměr SD	8,84 2,65	19,18 19,15	6,94 4,34

VKS – Vodní květ sinic (*Microcystis aeruginosa* 90%, *Microcystis ichthyoblabe* 10%).

Detekovány tři typy microcystinů, Mcyst 1 ($67,1 \mu\text{g.g}^{-1}$ sušiny), Mcyst 2 ($61,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ sušiny) a microcystin LR ($161,2 \mu\text{g.g}^{-1}$ sušiny).

Statistické zhodnocení vlivu populace sinic na hematologické ukazatele prokázalo významné zvýšení ($P < 0,05$) hodnot PCV a BC a velmi významné zvýšení ($P < 0,01$) aktivity ALT. Statisticky nevýznamně zvýšeny byly hodnoty Hb, AST a LDH, ukazatele MCHC a TP byly sníženy ve srovnání s kontrolními rybami.

Normální fyziologické rozmezí hematologických hodnot pro tolstolobika bílého nebylo dosud publikováno, proto není pro získané údaje srovnání. Změny hematologických

hodnot u tolstolobika po intraperitoneální nebo perianální aplikaci toxinu nebo biomasy sinic sledovali Vajcová (1998) a Vajcová a kol. (1998), kdy došlo k statisticky významnému snížení hodnot Hb, BC, PCV a TP, což se rozchází se získanými výsledky, kdy mimo hodnot TP bylo zaznamenáno zvýšení hodnot ukazatelů. Tyto údaje ukazují na poměrně široké kolísání hematologických parametrů a na možné ovlivnění jinými endogenními nebo exogenními faktory, proto je nutno při použití krevní analýzy sledovat početnější vzorky pokusných ryb.

Srovnatelná s literárními údaji je aktivita jaterních enzymů (ALT, AST, LDH), kdy ve všech případech dochází pod toxickým vlivem sinic k signifikantnímu zvýšení hodnot, které zaznamenali u kapra Raberg a kol. (1991), Tencalla a kol. (1994), Navrátil a kol. (1998) a u tolstolobika Vajcová a kol. (1998).

U sledovaných hematologických ukazatelů se nedalo očekávat tak výrazné zvýšení nebo snížení hodnot jako u publikovaných údajů po intraperitoneální aplikaci, ale signifikantní nárůst ALT v prostředí toxické populace sinic byl u tolstolobika zaznamenán již po 48 hod.

Analýzou trávicího traktu byla zjištěna přítomnost sinic u dvou ryb ze skupiny s nižším množstvím sinic a u čtyřech ryb ze skupiny s vyšší koncentrací sinic. Celkové množství sinic v trávicím traktu bylo malé a nemělo průkazný vliv na hematologické ukazatele ryb. Všichni tolstolobici ze skupiny s vyšší koncentrací sinic měli sinice v žaberním aparátu. Po celou dobu experimentu nebyly u žádné s pokusných nebo kontrolních ryb zjištěny změny v chování lišící se od normálu.

Literatura

- ADÁMEK, Z. Ověření možnosti omezení rozvoje fytoplanktonu obsádkou tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix*) ve vztahu k různým podmínkám prostředí. Kandidátská disertační práce, VŠZ Brno, 1981
- BEVERIDGE, M. C. M., BAIRD, D. J., RAHMATULLAH, S. M., LAWTON, L. A., BEATTIE, K. A., CODD, G. A. Grazing rates on toxic and non-toxic strains of cyanobacteria by *Hypophthalmichthys molitrix* and *Oreochromis niloticus*. *Journal of Fish Biology* 1993, 43, p. 901 - 907
- KOMÁREK, J. Klíč k určování vodních květů sinic v České republice. In: *Vodní květy sinic*. Ed.: MARŠÁLEK, B., KERŠNER, V., MARVAN, P. Nadatio flos - aquae, Brno, 1996, s. 22 - 85
- KRUPAUER, V. Býložravé ryby. SZN Praha, 1989, 116 s.

- MARŠÁLEK, B., TURÁNEK, J. Biologicky aktivní látky produkované sinicemi vodního květu. In: *Vodní květy sinic*. Ed.: MARŠÁLEK, B., KERŠNER, V., MARVAN, P. Nadatio flos - aquae, Brno, 1996, s. 86-100
- NAVRÁTIL, S., PALÍKOVÁ, M., VAJCOVÁ, V. The Effect of Pure Microcystin LR and Biomass of Blue-green Algae on Blood indices of Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta vet. Brno*, 1998, 67, p. 273-279
- RABERGH, C. M. I., BYLUND, G., ERIKSSON, J. E. Histopathological effect of microcystin LR a cyclic polypeptide from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquatic toxicology*, 1991, 20, p. 131-146
- SVOBODOVÁ, Z., PRAVDA, D., PALAČKOVÁ, J. Jednotné metody hematologického vyšetřování ryb. Edice metodik VÚRH ve Vodňanech, Vodňany, 1986, 36 s.
- ŠESTERENKO, A. E. Nekotoryje gematologičeskije pokazateli rastitelnojadnych ryb pri skarmlivanii im sinezelenych vodoroslej. *Rybn. choz.*, Kiev, 1979, 28, s. 29 - 33
- ŠTĚPÁNEK, M. a kol. Biologické metody vyšetřování vod ve zdravotnictví. Avicenum, Praha, 1982, 408 s.
- TENCALLA, G. F., DIETRICH, R. D., SCHLATTER, CH. Toxicity of *Microcystis aeruginosa* peptide toxin to yearling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 1994, 30, p. 215–224
- VAJCOVÁ, V. Studium vlivu eutrofizace vod na zdravotní stav ryb na základě hodnocení fyziologických ukazatelů a morfologických změn. Vliv cyanotoxinů na zdravotní stav tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.)., Disertační práce, VFU Brno, 1998
- VAJCOVÁ, V., NAVRÁTIL, S., PALÍKOVÁ, M. The Effect of Intraperitoneally Applied Pure Microcystin LR on Haematological, Biochemical and Morphological Indices of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.). *Acta vet. Brno*, 1998, 67, p. 281-287
- VOROS, L., OLDAL, I., PRESING, M., VONBALOGH, K. Size-selective filtration and taxon-specific digestion of plankton algae by silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.). *Hydrobiologia*, 1997, Vol 342, p. 223 - 228

Ing. Radovan Kopp, MZLU Brno, Ústav rybářství a hydrobiologie,
 Nejdecká 600, 691 44 Lednice, Česká republika
 Prom. biol. Jiří Heteša Csc.,
 sídl. Osvobození 578, 691 44 Lednice, Česká republika