

NETECHNICKÉ SHRNUTÍ PROJEKTU POKUSÚ**Název projektu pokusů**

Vyhodnocení rizik spojených s vyplavováním půdních kontaminantů do vodního prostředí

Doba trvání projektu pokusů	Do června 2023
-----------------------------	----------------

Klíčová slova - maximálně 5	Ryby, kontaminace, toxicita, potravní řetězec, znečištění vody
-----------------------------	--

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného polička

<input type="checkbox"/> základní výzkum
--

<input type="checkbox"/> translační nebo aplikovaný výzkum
--

<input type="checkbox"/> vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků

<input checked="" type="checkbox"/> ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat

<input type="checkbox"/> zachování druhů
--

<input type="checkbox"/> vyšší vzdělávání nebo odborná příprava

<input type="checkbox"/> trestní řízení a jiné soudní řízení
--

Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

Hlavním cílem studie je stanovit vliv půdních kontaminantů, které se v důsledku antropogenní činnosti vyskytují ve volných vodách ČR, na chování vodních organismů. Reakce sladkovodních živočichů na půdní kontaminanty byla poznána u jednotlivých látek, ale jen velmi omezeně u kontaminantů jako celku a minimum informací existuje o případné reakci organismů na látky již metabolizované půdními organismy a poté vyplavené do povrchových vod. V rámci této aktivity bude sledován příjem, kumulace a transformace kontaminantů a jejich metabolitů v organismu ryb a příslušná fyziologická odezva organismu. Vzhledem k vysoké mobilitě a také vysoké schopnosti transformací sledovaných látek ve vodním prostředí prostřednictvím trofické sítě bude sledován nejen přímý vliv látek na cílovou skupinu vodních živočichů (sladkovodní ryby), ale také jejich kumulace a transformace v potravním řetězci s využitím potravních autotrofních organismů (řasy) a vodních bezobratlých (měkkýši, koryši). Je předpoklad, že vliv kontaminantů se projeví v několika úrovních životního cyklu, především v dosažení optimální tělesné kondice a ve schopnosti minimalizovat stres, který je důsledkem nižšího fitness. Ryby budou v průběhu experimentu vystavené reálným koncentracím, které se běžně vyskytují v říční síti ČR. Jmenovitě se jedná o následující látky: farmaceutika - Citalopram, Oxazepam, Sertraline, Tramadol, Venlafaxine a Methamphetamine; mikro a nanoplasty - polystyren, polypropylen, polyethylen a polytereftalát; a prvky – As, Cd, Pb, Al, Cu. Na základě identifikace vlivu studovaných látek bude možné upravit kritéria hodnocení potenciálních rizik půdních kontaminantů na vodní organismy.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)

Říční síť je v důsledku lidské činnosti znečišťována sloučeninami, které následně působí na živé organismy ve volné přírodě. Jejich vliv na chování vodních organismů však dosud nebyl v řadě případů přesně kvantifikován. Výsledky jsou tak zcela klíčové pro stanovení míry ovlivnění vodních organismů novými rizikovými látkami antropogenního původu a jejich dopady na volně žijící populace.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Pro zajištění reprezentativnosti výsledků bude od jednotlivých druhů ryb použito 960 ks jelce tlouště (*Squalius cephalus*), 960 ks hrouzka obecného (*Gobio gobio*) a 200 jedinců tlamovce (*Auloconara sp. OB*).

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Nežádoucí účinky po pominutí účinku anestetika v průběhu značení a v průběhu pokusné expozice se nepředpokládají. Míra závažnosti je mírná, protože ryby budou vystaveny působení látek v reálných koncentracích, které se běžně vyskytují v říční síti ČR. Navíc budou schopny nadále uspokojovat všechny své životní potřeby včetně reprodukce. Ryby budou po skončení pokusu usmrčeny předávkováním anestetikem (2-phenoxyethanolem, ~1ml/L) v souladu s § 17, zákona 246/1992 Sb. v platném znění.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveděte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Pro dosažení výsledku není dostupná jiná metoda ani zkušební strategie, která nevyžaduje živého zvířete. Bude použit nejnižší možný počet pokusných zvířat: uvažovaný počet pro jeden test - 64 ks/druh/látku je minimálním počtem pro dostatečně reprezentativní vzorek údajů. Použití takového množství jedinců je nezbytné pro odpovídající možnost vyhodnocení vlivu látek na živé organismy. Použité metody jsou celosvětově uznávané

jako vhodné pro sledování chování zvířat v laboratorních experimentech a je u nich předpoklad v podstatě nulového ovlivnění welfare a tím pádem i přirozených projevů chování. Ryby budou vystavené reálným koncentracím látek, které se běžně vyskytují v ríční sítí ČR.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Metodika a statistický plán pro minimalizaci počtu pokusných zvířat vychází ze zkušenosti s předchozími pracemi výzkumného týmu (např. Slavík, O., Maciak, M., Horký P. 2012. Shelter use of familiar and unfamiliar groups of juvenile European catfish *Silurus glanis*. *Applied Animal Behaviour Science* 142 (1-2), 116-123). Pokusná strategie bude realizována dle Brodin et al. (2013) Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations. *Science*. 339(6121):814-5. doi: 10.1126/science.1226850. Počet pokusných zvířat vychází z očekávané variability datového souboru a představuje minimální počet jedinců pro identifikaci rozdílů mezi studovanými skupinami.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnejší použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

Studium vlivu běžných koncentrací rizikových látek na chování ryb nelze provést jinak než na základě behaviorálních studií na pokusných zvířatech. Ryby budou značené pomocí mikročipů značky TROVAN. Mikročipy jsou ke značení ryb za účelem sledování chování běžně používány v ČR i v zahraničí a jejich aplikace nemá prokazatelný vliv na změnu chování označených jedinců. Znecitlivění během značení bude prováděno dle metodiky Anestetika pro ryby (Edice metodik JČU VÚRH), např. 2-phenoxyethanolem. Každý jedinec bude použitý pouze jednou. Nebude tedy docházet k opakování aplikaci různých látek ani k opakování testů v různých časových intervalech na jednom jedinci. Záznam bude bezkontaktní a bude probíhat pomocí přenosu radiofrekvenčních vln a pomocí digitálních kamer. Použité metody jsou celosvětově uznávané jako vhodné pro sledování chování zvířat v laboratorních experimentech a je u nich předpoklad v podstatě nulového ovlivnění welfare a tím pádem i přirozených projevů chování. Ryby budou vystavené reálným koncentracím látek, které se běžně vyskytují v ríční sítí ČR. Rybám v pokusu bude zajištěn přívod vody vhodné kvality. Jednotlivé odchovné nádrže jsou vybavené samostatnými filtračními jednotkami s biologickými filtry. Každá nádrž bude opatřena provzdušňovacím zařízením k zajištění potřeby koncentrace kyslíku dle potřeb zvoleného druhu. Koncentrace dusíku bude udržována na nízkých hodnotách, úroveň pH bude udržována stabilní. Změny salinity nejsou v pokusu plánovány. V odchovných nádržích bude pravidelně kontroloována teplota, stejně jako obsah kyslíku, pH, vodivost a další základní parametry vodního prostředí. Fotoperiodicita pro ryby bude udržována pomocí časovacích světelných zdrojů. Generátory a filtrace budou umístěny v dostatečné vzdálenosti od nádrží k zamezení hluku a vibrací. Ryby budou krmeny 1 x denně standardním komerčním granulovaným krmivem. Po dobu experimentu bude zajištěna denní péče. Všechny metodické postupy jsou v souladu se základními životními projevy ryb.