

VLIV PESTICIDU NA BÁZI TRIAZINŮ NA RYBY

¹Vratislav MALÝ, ²Josef VELÍŠEK

¹Jihočeská univerzita, Zdravotně sociální fakulta, České Budějovice

²Jihočeská univerzita, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, Vodňany

Souhrn

Vliv pesticidu na bázi triazinů (Sencor 70 WG – účinná látka metribuzin) byl posuzován stanovením biochemického a hematologického profilu krve pokusných ryb. Jako modelový organismus byl použit kapr obecný (*Cyprinus carpio* L.). Před vlastním stanovením vlivu pesticidu metribuzinu na biochemický a hematologický profil krve byl proveden test, při němž byla stanovena akutní toxicita a určena hodnota 96hLC₅₀. Tyto testy byly prováděny na plůdku kapra obecného. Po stanovení 96hLC₅₀ byly této koncentraci vystaveny dvě skupiny pokusných ryb (1–2 roky starých) a jedna kontrolní skupina, jež nebyla pesticidem ovlivněna. Při testu bylo postupováno podle metodiky OECD č. 203. U kapra obecného po 96hodinové expozici v koncentraci 250,2 mg.l⁻¹ Sencoru 70 WG došlo k významnému snížení ($p < 0,01$) celkových bílkovin, triglyceridů, laktát-dehydrogenáz, anorganického fosfátu, koncentrace hemoglobinu, hematokritu, středního objemu erytrocytu, leukocytů a významnému zvýšení ($p < 0,01$) glukózy, amoniaku a vápníku.

Klíčová slova: Metribuzin; Triaziny; Pesticidy; Kapr obecný; Biochemie; Hematologie.

Effect of Triazine Based Pesticide on Fish

Summary

Effect of triazine based pesticide (Sencor 70 WG – active substance metribuzine) was assessed via biochemical and hematological blood profile determination of experimental fish. We used a common carp (*Cyprinus carpio* L.) as an experimental fish. Before rating the influence of metribuzine on biochemical and hematological blood profile we accomplished a preliminary test to determine a concentration range and after that a basic acute toxicity test to determine 96hLC₅₀ value. Samples of common carp fingerlings were used for performing the tests. After 96hLC₅₀ determination two groups of experimental fish (aged 1–2 years) were under this concentration and one control group without the substance. The test was processed according to the OECD methodology No. 203. In common carp, 96h exposure to 250.2 mg.l⁻¹ of Sencor 70 WG caused a significant decrease ($p < 0.01$) of total plasma protein, triglycerides, lactate dehydrogenase, inorganic phosphate, haemoglobin concentration, haematocrit, mean erythrocyte volume, leukocyte and significant increase ($p < 0.01$) of glucose, ammonia and calcium.

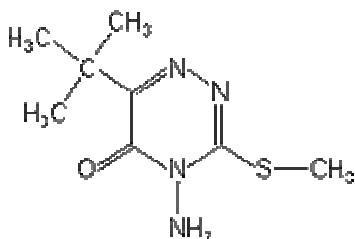
Key words: Metribuzine; Triazines; Pesticides; Common carp; Biochemistry; Haematology.

Úvod

Od šedesátých let 20. století byly pesticidy na bázi triazinu, zejména atrazin, simazin a propazin, široce využívány jako selektivní herbicid. Byly používány v Evropě i Severní Americe, kde v roce 1993 odhadované množství použitého atrazinu dosahovalo 35 000 tun (14). V USA byl v devadesátých letech 20. století atrazin nejpoužívanějším herbicidem. V důsledku toho jsou triaziny stále nacházeny v relativně vysokých koncentracích v povrchových vodách na mnoha místech Evropy i Severní a Jižní Ameriky (14). Dlouhodobé expozice triazinovými herbicidy jsou spojovány se zvýšeným rizikem rakoviny vaječníků a rakoviny prsu (14). Triaziny a jejich rezidua jsou nejčastěji nacházenými pesticidy v povrchových vodách. V oblasti středozápadní

Brazílie byly triaziny přítomny v 72 % odebraných vzorků, a to jak ve studnách s pitnou vodou, přehradách i zavlažovacích nádržích. Koncentrace nalezených pesticidů se pohybují v řádech mikrogramů na litr (4). Toto platí i pro Českou republiku, v zatížených lokalitách se podle dat Českého hydrometeorologického ústavu a Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického ve Vodňanech pohybuje koncentrace metribuzinu ve vodě v rozmezí 0,023 až 0,059 µg.l⁻¹ a 0,018 až 0,021 µg.l⁻¹.

Metribuzin je selektivní herbicid z rodiny triazinů, který inhibuje fotosyntézu citlivých rostlinných druhů. Je k dispozici jako kapalný roztok, ve vodě rozpustné granule či jako suché přípravky k rozptýlení (1). Je to bílá krystalická látka, s charakteristickým zápachem síry. Chemický název je 4-amino-6-terc-butyl-3-(methylsulfanyl)-1,2,4-triazin-5(4H)-one.



Obr. 1: Metribuzin

Nejrozšířenějším triazinovým herbicidem byl od šedesátých let 20. století atrazin, který však vykazuje řadu nežádoucích účinků a jeho používání bylo v roce 2005 u nás zakázáno. Mezi lety 1966 až 1981 bylo v USA zaznamenáno 66 případů otrav atrazinem u exponovaných pracovníků a po rozsáhlé dermální expozici bylo zaznamenáno jedno úmrtí. Atrazin je velmi perzistentní v prostředí díky své rezistenci k abiotické hydrolýze a přímé fotolýze ve vodním prostředí. Je mírně toxický pro vodní živočichy a jeho 96hLC₅₀ pro pstruha duhového je 5,3 mg.l⁻¹(22).

Naproti tomu metribuzin (obr. 1) je jen mírně toxický při požití (LD₅₀ 2000 mg.kg⁻¹ pro potkany) a prakticky netoxický dermálně (LD₅₀ 20 000 mg.kg⁻¹ pro králíka (7)). Je mírně toxický pro ryby a jeho 96hLC₅₀ činí 64–76 mg.l⁻¹ (9).

Cílem práce bylo posoudit účinky a toxicitu pesticidu Sencor 70 WG na bázi triazinů s účinnou látkou metribuzin na kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.). Vliv metribuzinu na kapra obecného byl posuzován pomocí hematologického a biochemického profilu krve.

Metodika

Experimentální materiál

Kapr obecný (*Cyprinus carpio* L.)

Ryby použité ke stanovení LC₅₀ za 96 hodin Sencoru 70 WG byly homogenní a dobrého zdravotního stavu. Průměrná hmotnost ryb byla 21,9 g, průměrná celková délka těla 123 mm.

Ke stanovení biochemického a hematologického profilu krevní plazmy kapra obecného byly použity ryby o průměrné hmotnosti 480,67 g a průměrné celkové délky těla 307 mm.

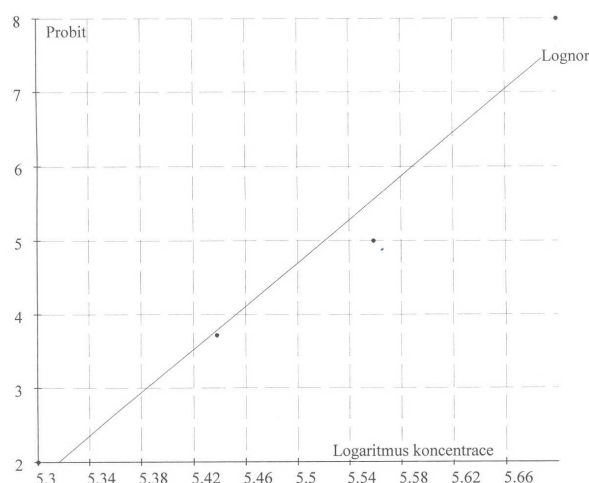
Testy akutní toxicity

Ryby byly vystaveny po dobu 96 hodin různým koncentracím pesticidu Sencor 70 WG rozpuštěného ve standardně připravené ředící vodě, současně byly ryby zařazené do kontrolní skupiny nasazeny

do ředící vody bez testované látky.

V průběhu testu byl kontrolován stav a chování ryb a odlovování uhynulí jedinců. V časovém úseku 24, 48, 72 a 96 hodin byly zaznamenány celkové počty uhynulých ryb, teplota, pH, procentické nasycení vody kyslíkem v jednotlivých koncentracích a v kontrolním akváriu. Z těchto hodnot byla stanovena střední letální koncentrace LC₅₀ v časovém úseku 96 hodin (96hLC₅₀) (18).

Testy akutní toxicity se skládají z předběžného a základního testu. Cílem předběžného testu je získat orientační hodnotu 96hLC₅₀. Hodnoty koncentrací v jednotlivých akváriích jsou proto v širším rozpětí než při základním testu.

Obr. 2: Test akutní toxicity Sencoru 70 WG u kapra obecného za 96 hodin (μg.l⁻¹)

Biochemické testy a stanovení hematologického profilu krve

Pro stanovení biochemického a hematologického profilu krve kapra obecného po působení pesticidu na bázi triazinů Sencor 70 WG byly ryby vystaveny 96hodinovému působení 96hLC₅₀ (250,2 mg.l⁻¹).

Test byl proveden ve 3 akváriích (1 kontrolní a 2 pokusná) o objemu 400 litrů. Do testu bylo nasazeno 20 kusů kontrolních ryb a 40 kusů ryb pokusných. Druhé pokusné akvárium slouží jako opakování pokusu.

Na začátku testu a ve 24hodinových intervalech byla měřena teplota, pH a koncentrace rozpuštěného kyslíku. Po 24hodinových intervalech byly ryby přeloveny do čerstvě připravených a vytemperovaných roztoků testované látky. V průběhu testu byla sledována a zaznamenávána mortalita a chování ryb. Po 96 hodinách byl proveden odběr krve pro stanovení biochemického a hematologického profilu krve u 15 kusů kontrolních a 15 kusů pokusných ryb. Po

ukončení testu byla změřena délka těla (od tlamy ke kořenu ocasu) a hmotnost použitých ryb v testu.

Výsledky

Výsledky testů akutní toxicity

Výsledky testů akutní toxicity byly zpracovány probitovou analýzou v programu Ekotox 5.1.

Pro kapra obecného byla hodnota 96hLC₅₀ stanovena na hodnotě 250,2 mg.l⁻¹ Sencoru 70 WG s 95% intervalem spolehlivosti (-19,5; +18,1).

Výsledky testu stanovení biochemického a hematologického profilu krve kapra obecného

Ukazatele v krevní plazmě byly stanoveny biochemickým analyzátozem krve typu VETTEST 8008 od firmy Medisoftware International LTD. Data byla zpracována v programu ANOVA, tzv. Tuckey test.

Biochemický profil experimentální skupiny kaprů obecných vystavených na 96 h akutnímu působení pesticidního přípravku Sencor 70 WG (250,2 mg.l⁻¹) ukázal signifikantní snížení ($p < 0,01$) celkových bílkovin (TP), triglyceridů (TRIG), laktátdehydrogenázy (LDH), kalcia (Ca²⁺), anorganického fosfátu (PHOS) a signifikantní zvýšení ($p < 0,01$) koncentrace glukózy (GLU) a amoniaku (NH₃) v krevní plazmě oproti kontrolní skupině.

Statisticky významné rozdíly nebyly zaznamenány u aspartataminotransferázy (AST), alaninaminotransferázy (ALT), alkalického fosfátu (ALP) a kreatin kinázy (CK).

Tabulka 1

Vliv pesticidu Sencor 70 WG na biochemické ukazatele krevní plazmy u kapra obecného

Ukazatel	Kontrola x ± SD (n = 15)	Experiment x ± SD (n = 15)
TP (g.l ⁻¹)	42,13 ± 4,53 ^a	34,07 ± 5,05 ^b
TRIG (mmol.l ⁻¹)	0,52 ± 0,08 ^a	0,28 ± 0,15 ^b
GLU (mmol.l ⁻¹)	4,87 ± 0,79 ^a	23,99 ± 5,59 ^b
NH ₃ (μmol.l ⁻¹)	292,20 ± 109,19 ^a	462,33 ± 85,55 ^b
AST (μkat.l ⁻¹)	2,11 ± 1,02 ^a	1,51 ± 0,51 ^a
ALT (μkat.l ⁻¹)	0,47 ± 0,13 ^a	0,40 ± 0,09 ^a
LDH (μkat.l ⁻¹)	6,14 ± 1,20 ^a	4,37 ± 1,38 ^b
ALP (μkat.l ⁻¹)	0,20 ± 0,05 ^a	0,22 ± 0,06 ^a
CK (μkat.l ⁻¹)	14,35 ± 0,72 ^a	13,94 ± 0,58 ^a
PHOS (mmol.l ⁻¹)	1,94 ± 0,33 ^a	1,01 ± 0,24 ^b
Ca ²⁺ (mmol.l ⁻¹)	2,26 ± 0,04 ^a	2,40 ± 0,15 ^b

Indexy a, b charakterizují shodu nebo rozdílnost hodnot mezi skupinami (ANOVA $p < 0,01$).

Tabulka 2

Vliv pesticidu Sencor 70 WG na hematologické ukazatele krevní plazmy u kapra obecného

Ukazatel	Kontrola x ± SD (n = 15)	Experiment x ± SD (n = 15)
Er (T.l ⁻¹)	1,78 ± 0,36 ^a	1,64 ± 0,31 ^a
Hb (g.l ⁻¹)	84,29 ± 14,73 ^a	70,81 ± 18,36 ^b
PCV (l.l ⁻¹)	0,33 ± 0,04 ^a	0,27 ± 0,03 ^b
MCV (fl)	189,52 ± 30,43 ^a	165,63 ± 25,76 ^b
MCH (pg)	48,34 ± 8,81 ^a	43,92 ± 12,58 ^a
MCHC (g.l ⁻¹)	255,94 ± 27,17 ^a	269,34 ± 67,12 ^a
Leuko (G.l ⁻¹)	104,01 ± 33,85 ^a	33,60 ± 18,20 ^b

Indexy a, b charakterizují shodu nebo rozdílnost hodnot mezi skupinami (ANOVA $p < 0,01$).

V hematologickém profilu u experimentální skupiny kaprů obecných, která byla vystavena akutnímu působení pesticidního přípravku Sencor 70 WG došlo k signifikantnímu snížení ($p < 0,01$) hematokritové hodnoty (PCV), koncentrace hemoglobinu (Hb), středního objemu erytrocytu (MCV) a počtu leukocytů (Leuko) oproti kontrolní skupině.

U ostatních sledovaných ukazatelů – počet erytrocytů (Er), hemoglobin erytrocytu (MCH) a střední barevná koncentrace (MCHC) nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly.

Diskuse

Kapr obecný – 96hLC₅₀

Výsledky se považují za platné, jsou-li splněna následující kritéria:

- koncentrace rozpuštěného kyslíku v testovaných roztocích a v kontrole během celého testu nepoklesla pod 60 % nasycení,
- koncentrace testované látky během testu neklesla pod 80 % nominální koncentrace,
- mortalita kontrolních ryb nepřekročila 10 %.

Tyto podmínky byly dodrženy, a můžeme tak považovat test za validní. Na základě zjištěné hodnoty 96hLC₅₀ (250,2 mg.l⁻¹) může být přípravek Sencor 70 WG zařazen do skupiny látek, které mohou způsobit dlouhodobé nepříznivé efekty ve vodním prostředí. Riziková věta R53 stanovuje hodnotu 96hLC₅₀ > 100 mg.l⁻¹ (zákon č. 356/2003 Sb.). Hodnota 96hLC₅₀ pro přípravek Sencor 70 WG – 250,2 mg.l⁻¹ je po přepočtení 175,14 mg.l⁻¹ metribuzinu. Hodnoty zjištěné během našeho testu jsou v rozporu s některými jinými autory, kteří stanovo-

vali toxicitu pro jiné druhy ryb. Rozdíl je způsoben tím, že kapr obecný není tak citlivý jako lososovitě druhů ryb, například pstruh duhový.

Hematologický profil krve kapra obecného

Hematologický a biochemický profil krve může poskytnout důležité informace o vnitřním prostředí organismu (8). Hlavní hematologická odezva u kapra obecného na přípravky na základě metribuzinu se projevila signifikantním snížením hematokritu ($p < 0,01$), hodnota leukokritu ($p < 0,01$), počet lymfocytů ($p < 0,01$), hodnoty koncentrace hemoglobinu ($p < 0,05$) a střední objem erytrocytů. Snížení hematokritové hodnoty a koncentrace hemoglobinu kapra obecného může být vysvětlena kompenzační odpovědí na změnu podmínek, při nichž je zhoršen přenos kyslíku, a také ukazuje na změny vodo-krevní bariéry u výměny plynů v žaberních liscích (6). Hematologické výsledky indikují snížení nespecifické imunity. Podobné změny v hodnotách hematokritu, lymfocytů, počtu monocytů a segmentovaných neutrofilních granulocytů byly zjištěny i dalšími autory (19) u kapra po akutní intoxikaci atrazinem. V našem testu došlo k signifikantnímu snížení ($p < 0,01$) hematokritové hodnoty, koncentrace hemoglobinu, středního objemu erytrocytů a počtu leukocytů. Také Vachunková (2007) popisuje signifikantní snížení ($p < 0,01$) hematokritové hodnoty a počtu leukocytů po expozici kapra obecného přípravku na bázi triazinu Gardoprim plus Gold 500 SC v koncentraci 96hLC_{50} 13 mg.l^{-1} .

Biochemický profil krve kapra obecného

Hlavní biochemická odpověď kapra obecného na akutní intoxikaci přípravky na základě metribuzinu bylo signifikantní snížení vůči kontrolní skupině ($p < 0,01$) celkových bílkovin, triacylglycerolů, laktátdehydrogenázy, kalcia a anorganického fosfátu. Zvýšená koncentrace amoniaku indikuje neschopnost organismu přeměnit toxický amoniak na méně škodlivé látky (16). Zvýšení koncentrace glukózy v krvi představuje odpověď exponovaného organismu na metabolický stres. V průběhu pokusu došlo k pětinasobnému nárůstu koncentrace glukózy oproti fyziologickým hodnotám pro kapra, které uvádí Svobodová (1986). Snížení laktátdehydrogenázy indikuje metabolické změny. Glykogenový katabolismus a glukóza jsou ukazateli stresu u ryb (15). Tato zjištění jsou v dobré shodě se zjištěním Mekawy a spol. (1996), kteří pozorovali signifikantní nárůst ($p < 0,05$) glukózy a signifikantní pokles ($p < 0,05$)

celkových bílkovin u okounovce nilského (*Oreochromis niloticus*) a sumička zlatého (*Chrysichthys auratus*) po akutní expozici atrazinu v koncentraci 3 mg.l^{-1} . Davies a spol. (1994) pozorovali pokles celkových bílkovin u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) po akutní expozici atrazinu v koncentraci $50\text{ }\mu\text{g.l}^{-1}$. Prasad and Reddy (1994) pozorovali po expozici atrazinu u tlamouna mosambického (*Tilapia mossambica*) pokles kalcia v plazmě. V našem testu došlo k signifikantnímu snížení ($p < 0,01$) celkových bílkovin, triglyceridů, laktátdehydrogenázy, kalcia, anorganického fosfátu a signifikantnímu zvýšení ($p < 0,01$) koncentrace glukózy a amoniaku v krevní plazmě. Vachunková (2007) popisuje signifikantní snížení ($p < 0,01$) anorganického fosfátu, triglyceridů, kalcia a statisticky významné zvýšení ($p < 0,01$) glukózy a amoniaku po expozici kapra obecného přípravku na bázi triazinu Gardoprim plus Gold 500 SC v koncentraci 96hLC_{50} 13 mg.l^{-1} s obsahem terbutylazinu a S-metolachloru. Dále uvádí statisticky významné zvýšení ($p < 0,01$) alaninaminotransferázy, aspartataminotransferázy, kreatinkinázy a celkových bílkovin, které jsme naopak my v testu nepozorovali.

Chování ryb v průběhu testu

Změny v chování ryb po působení přípravku na bázi triazinu nastávají již hodinu po započetí testu. Ryby ztrácejí koordinaci pohybů, objevují se trhavé pohyby, výjezdy k hladině a převrácení na bok. Následuje velmi dlouhá fáze útlumu, zpomalují se dýchací pohyby skřelí, ryba leží na boku a hyne. Neumann (1990) popisuje projevy intoxikace jako poruchy motility, projevy deprese, dyspnoe, tonicko-klonické křeče. Podobné příznaky popisují při akutní otravě atrazinem i Hussein a spol. (1996) u okounovce nilského a sumička zlatého a Saglio a Trijasee (1998) u karase stříbřitého (*Carassius auratus*).

Pitva ryb

Po skončení testu stanovení biochemického a hematologického profilu byla provedena pitva ryb a bylo zjištěno zvětšení tělní dutiny a transudát v tělní dutině. Lze předpokládat, že ke zvýšení úniku proteinů došlo v důsledku poškození ledvinových tubulárních epiteliálních buněk. Následkem toho byla diagnostikována hypoproteinémie (ze $48,40 \pm 4,90\text{ g.l}^{-1}$ na $24,40 \pm 9,73\text{ g.l}^{-1}$) v krevní plazmě, jež způsobila vznik výpotku v tělní dutině. Svobodová a spol. (1987) popisují vznik transudátu u pstruha duhového po akutní intoxikaci atrazinem (bar. příl. s. IV, obr. 2).

Závěr

V rámci této práce byla akutními testy toxicity určena 96hLC₅₀ po expozici pesticidního přípravku na bázi triazinů Sencor 70 WG se 70% obsahem metribuzinu pro kapra obecného v koncentraci 250,2 mg.l⁻¹. Zařazením přípravku do tzv. R vět, pro kapra obecného R53-látky, které mohou vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí, naplnila tato práce svůj cíl, kterým bylo posouzení toxického vlivu přípravku Sencor 70 WG na ryby. Vliv tohoto přípravku byl posuzován pomocí stanovení biochemického a hematologického profilu. Tyto výsledky mohou být použity pro výběr optimálních pesticidů k ochraně kulturních plodin, a mohou tak pomoci ke snížení kontaminace životního prostředí a vstupu reziduí do potravního řetězce.

Pokusy byly prováděny v akvaristické místnosti, toxikologické laboratoři, laboratoři biochemie a ichtyopathologie na oddělení vodní toxikologie a nemocí ryb ve Výzkumném ústavu rybářském a hydrobiologickém Jihočeské univerzity ve Vodňanech.

Literatura

1. Sencor 70 WG [online]. <http://www.agromanualshop.cz/p243-sencor-70-wg-balení-5-20-g> [cit. 24. 11. 2007]
2. Extoxnet [online]. <http://extoxnet.orst.edu/pips/metribuz.htm> [cit. 18. 4. 2007]
3. DAVIES, PE. – COOK, LSJ. – GOENARSO, D. Sublethal responses to pesticides of several species of Australian freshwater fish and crustaceans and rainbow trout. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1994, vol. 13, p. 1341–1354.
4. DORES, EFGC., et al. Multiresidue Determination of Herbicides in Environmental Waters from Primavera do Leste Region (Middle West of Brazil) by SPE-GC-NPD. *J. Braz. Chem. Soc.*, 2006, vol. 17, no. 5, p. 866–873.
5. HUSSEIN, SY. – EL-NASSER, MA. – AHMED, SM. Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on fresh water fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthys auratus* at Assiut, Egypt. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1996, vol. 57, p. 503–510.
6. JEE, JH. – MASROOR, F. – KANG, JC. Responses of cypermethrin-induced stress in haematological parameters of Korean rockfish, *Sebastes schlegelii* (Hilgendorf). *Aquacul. Res.*, 2005, vol. 36, p. 898–905.
7. KIDD, H. – JAMES, DR. (eds.). *The Agrochemicals Handbook*. 3rd ed. Cambridge, Royal Society of Chemistry Information Services, 1991. 243 p.
8. MASOPUST, J. *Klinická biochemie*. Karolinum, Praha, 2000. 832 s.
9. MAYER, FL. – ELLERSIECK, MR. Manual of acute toxicity: interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals. US Fish and Wildlife Service Resource Publication 160, Washington, DC, 1986. 86 p.
10. MEKKAWY, AA. – HUSSAIN, SY. – AHMED, SM. Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on some blood constituents and protein electrophoretic patterns of *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthys auratus* at Assiut, Egypt. *J. Egypt. Germ. Soc. Zool.*, 1996, vol. 19, p. 283–319.
11. NEUMANN, J. Chemizace zemědělství, farmakologie a toxikologie. 1. vyd. Praha, Státní zemědělské nakladatelství, 1990. 304 s.
12. PRASAD, TAV. – REDDY, DC. Atrazine toxicity on hydro-mineral balance of fish *Tilapia mossambicus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 1994, vol. 28, p. 313–316.
13. SAGLIO, P. – TRIJASSE, S. Behavioural responses to atrazine and diuron in goldfish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1998, vol. 35, p. 484–491.
14. SANDERSON, JT., et al. Effects of Chloro-s-Triazine Herbicides and Metabolites on Aromatase Activity in Various Human Cell Lines and on Vitellogenin Production in Male Carp Hepatocytes. *Environ. Health Perspect.*, 2001, vol. 109, p. 1027–1031.
15. SIMON, LM. – NEMCSÓK, J. – BOROSS, L. Studies on the effects of paraquat on glycogen mobilization in liver of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, 1983, 75C, p. 167–169.
16. SVOBODA, M. Stress in fish – review. *Bulletin of Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodňany*, 2001, vol. 37, s. 169–191.
17. SVOBODOVÁ, Z., et al. *Toxikologie vodních živočichů*. Praha, SZN, 1987. 231 s.
18. SVOBODOVÁ, Z., et al. *Ekotoxikologie*. Praktická cvičení, část I. Brno, VFUT, 2000. 70 s.
19. SVOBODOVÁ, Z. – PEČENÁ M. Changes in the red and white blood picture of carp after acute exposure to toxic substance. *Bull. VÚRH*, Vodňany, 1988, vol. 17, s. 116–128.
20. SVOBODOVÁ, Z. – PRAVDA, D. – PALÁČKOVÁ, J. *Jednotné metody hematologického vyšetřování ryb*. Edice Metodik, Vodňany, VÚRH, 1986. 36 s.
21. VACHUNKOVÁ, Š. *Vliv stresových faktorů na vybrané ukazatele krevní plazmy kapra obecného (Cyprinus carpio)*. Brno, Veterinární a farmaceutická univerzita, 2007. 46 s.
22. WEXLER P., et al. *Encyclopedia of toxicology*. 2nd ed. 2005. 795 p.

Poděkování

Předložená práce byla provedena v rámci Výzkumného záměru MSM 6007665809 a projektu SP/2e7/229/07.

Korespondence: Ing. Josef Velíšek, Ph.D.

Jihočeská univerzita

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

389 01 Vodňany

e-mail: velisek@vurh.jcu.cz

Do redakce došlo 3. 11. 2008