

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Prvkové složení medu v závislosti na jeho geografickém  
původu: včelaření v oblasti Českého lesa**

**Diplomová práce**

**Autor: Bc. Sára Urbanová**

**Obor studia: Ekologické zemědělství**

**Vedoucí práce: Ing. Lukáš Praus, Ph.D.**

**Konzultant práce: prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.**

**© 2021 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Prvkové složení medu v závislosti na jeho geografickém původu: včelaření v oblasti Českého lesa" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26. 4. 2021

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu mé diplomové práce Ing. Lukášovi Prausovi, Ph.D. a konzultantce prof. Ing. Jiřině Szákové, Csc. za cenné rady a informace v oboru půdní chemie, rizikových prvků a psaní vědeckého textu. Také bych ráda poděkovala za prohloubení mých dovedností v laboratoři. Dále bych ráda poděkovala manželům Thomayerovým za umožnění vzorkování materiálu a včel z jejich včelařství a velmi zajímavou diplomovou praxi. Ráda bych také poděkovala své dobré kamarádce Veronice za konstruktivní kritiku a podporu.

# Prvkové složení medu v závislosti na jeho geografickém původu: včelaření v oblasti Českého lesa

## Souhrn

Životní prostředí je místem, kde se odehrává množství nezbytných přirozených procesů, které realizují transport látek, výměnu energie a zároveň je útočištěm všech živých organismů. Půdní prostředí je velmi zranitelný systém, současně je významným rezervoárem rizikových prvků. Kontaminované půdy rizikovými prvky představují závažný environmentální problém, neboť jsou rizikem přestupu těchto prvků do rostlin a dále do potravního řetězce, kde mohou ohrožovat lidské zdraví.

Cílem práce bylo stanovit obsahy rizikových a esenciálních prvků v medech z oblasti Českého lesa a porovnat je s množstvím prvků v dostupné půdní zásobě. Práce se podrobněji věnovala posouzení transferu rizikových prvků z půdy do včel a včelích produktů a zároveň hodnotila citlivost těchto indikačních matic k biodostupnému množství prvků v půdě.

Pro práci bylo vybráno devět stanovišť včel v oblasti Českého lesa. Sledovány byly obsahy osmi prvků (chrom, nikl, měď, zinek, arsen, kadmium, thalium a olovo) ve třech půdních výluzích (0,01 mol/l CaCl<sub>2</sub>, 0,11 mol/l kyselina octová, Mehlich III), vzorcích včel (živé, uhynulé), medu, plástvového pylu a vosku. K vyhodnocení dat byly použity transfer faktory a korelační analýza.

Oblast Českého lesa vykazovala velmi nízkou úroveň kontaminace půd, což umožnilo prověřit detekční schopnost zkoumaných biomonitorů. Obsah rizikových prvků v medu se pohyboval při spodní hranici dříve publikovaných hodnot a je srovnatelný nebo nižší než obsahy z jiných přírodních lokalit v Evropě. Nejvyšší účinnost přestupu v systému půda → včela → med byla zjištěna pro Pb, Tl a Cr. Vztah obsahu rizikových prvků v půdě a v medu byl popsán středně silnou lineární závislostí pro Cr a As a velmi silnou lineární závislostí pro Cu a Pb. Žádný z posuzovaných biomonitorů nevykázal uspokojivou citlivost indikace pro všechny zkoumané rizikové prvky. Pořadí citlivosti indikace prvků v půdě pro jednotlivé biomonitory bylo stanoveno následovně: včely > med > vosk > pyl.

**Klíčová slova:** včela medonosná, med, rizikové prvky, mikroprvky, biomonitoring, půda

# **Elemental composition of honey as affected by its geographic origin: beekeeping in the area of Upper Palatine Forest, Czech Republic**

## **Summary**

The environment is a place where a number of essential natural processes take place, which carry out the transport of substances, the exchange of energy and at the same time it is a refuge for all living organisms. The soil environment is a very vulnerable system, but simultaneously it is an important reservoir of risk elements. Contamination of soils with risk elements is a serious environmental issue, as risk elements may enter plants and thus the food chain, where they can pose a risk to human health.

The aim of the presented work was to determine the content of risk and essential elements in honey samples from the area of the Upper Palatine Forest and to compare it with the contents of elements available in soils. The work dealt in more detail with the assessment of the transfer of risk elements from the soil to bees and their products and at the same time it evaluated the sensitivity of these indication matrices to the bioavailable content of elements in the soil.

Nine bee habitats in the area of the Upper Palatine Forest were selected for the research. A total of eight elements (chromium, nickel, copper, zinc, arsenic, cadmium, thallium, lead) were monitored in three soil extracts (0.01 mol/l CaCl<sub>2</sub>, 0.11 mol/l acetic acid, Mehlich III), bee samples (live, dead), honey, honeycomb pollen and wax. Transfer factors and correlation analysis were used to evaluate the data.

The area of the Upper Palatine Forest showed a low level of soil contamination, which allowed to verify the detection capability of matrices under investigation. The content of risk elements in honey was at the lower limit of published values so far and is comparable or lower than the contents from other natural areas within Europe. The highest efficiency of the transfer in the soil → bees → honey system was observed for Pb, Tl, and Cr. The relationship between risk element contents in soils and honey was described by means of a medium-strong linear dependence for Cr and As and a very strong linear dependence for Cu and Pb. None of the tested biomonitors showed a satisfactory sensitivity of the indication for all evaluated risk elements. The order of indication sensitivity in response to element contents in soils for particular biomonitors was determined as follows: bees > honey > wax > pollen.

**Keywords:** honey bee, honey, risk elements, microelements, biomonitoring, soil

# Obsah

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>LITERÁRNÍ REŠERŠE</b> .....	<b>10</b>
3.1	BIOMONITORING.....	10
3.2	VČELA MEDONOSNÁ – IDEÁLNÍ BIOMONITOR? .....	10
3.2.1	<i>Biologie včely</i> .....	11
3.2.2	<i>Výzkum využití včel a včelích produktů při biomonitoringu kontaminace životního prostředí RP</i> .....	12
3.2.2.1	První myšlenky a raný výzkum .....	12
3.2.2.2	Výzkum v období 1995 – 2010 .....	13
3.2.2.3	Výzkum v období 2011 – 2021 .....	13
3.2.3	<i>Včelí produkty</i> .....	15
3.2.3.1	Med .....	15
3.2.3.2	Ostatní včelí produkty.....	16
3.3	RIZIKOVÉ PRVKY V SYSTÉMU PŮDA ROSTLINA.....	16
3.3.1	<i>Dostupnost a mobilita rizikových prvků v půdě</i> .....	17
3.3.2	<i>Dostupnost rizikových prvků rostlinám</i> .....	19
3.3.3	<i>Stanovení (bio)dostupnosti RP v systému půda – rostlina (výluhové testy)</i> .....	20
3.4	ATMOSFÉRICKÁ DEPOZICE RP .....	20
<b>4</b>	<b>METODIKA</b> .....	<b>22</b>
4.1	OBEČNÁ CHARAKTERISTIKA OBLASTI .....	22
4.2	CHARAKTERISTIKA STANOVIŠŤ .....	22
4.2.1	<i>Bystřice</i> .....	22
4.2.2	<i>Jindřichovka</i> .....	22
4.2.3	<i>Mýtnice</i> .....	23
4.2.4	<i>Novosedly</i> .....	23
4.2.5	<i>Pila</i> .....	23
4.2.6	<i>Ranč</i> .....	23
4.2.7	<i>Sezemín</i> .....	23
4.2.8	<i>Spálenec</i> .....	23
4.2.9	<i>Valtířov</i> .....	24
4.3	ODBĚR VZORKŮ .....	24
4.3.1	<i>Půda</i> .....	24
4.3.2	<i>Včelí produkty</i> .....	24
4.3.2.1	Med .....	25
4.3.2.2	Vosk .....	25
4.3.2.3	Pyl .....	25
4.3.3	<i>Včely</i> .....	25
4.4	PŘÍPRAVA VZORKŮ K PRVKOVÉ ANALÝZE .....	25
4.4.1	<i>Půdní výluh - Mehlich III</i> .....	26
4.4.2	<i>Půdní výluh - roztok chloridu vápenatého</i> .....	26
4.4.3	<i>Půdní výluh - roztok kyseliny octové</i> .....	27
4.4.4	<i>Celkový obsah RP ve včelách a včelích produktech</i> .....	27
4.5	PRVKOVÁ ANALÝZA TECHNIKOU ICP-MS .....	28
4.6	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT .....	28
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY</b> .....	<b>29</b>
5.1	OBSAH A DOSTUPNOST RP V PŮDÁCH .....	29
5.1.1	<i>Výluh pomocí činidla Mehlich III</i> .....	29
5.1.2	<i>Výluh v 0,01 mol/l CaCl<sub>2</sub></i> .....	29
5.1.3	<i>Výluh v 0,11 mol/l CH<sub>3</sub>COOH</i> .....	29
5.2	CELKOVÝ OBSAH RP VE VČELÁCH A VČELÍCH PRODUKTECH .....	30
5.2.1	<i>Včely živé</i> .....	30
5.2.2	<i>Včely mrtvé</i> .....	30
5.2.3	<i>Med</i> .....	30
5.2.4	<i>Vosk</i> .....	31

5.2.5	<i>Pyl</i> .....	31
5.2.6	<i>Transfer faktory rizikových prvků</i> .....	31
5.3	<b>KORELACE MEZI OBSAHY RP STANOVENÝMI RŮZNÝCH TYPECH VZORKŮ</b> .....	40
5.3.1	<i>Arsen (As)</i> .....	40
5.3.2	<i>Kadmium</i> .....	40
5.3.3	<i>Chrom (Cr)</i> .....	41
5.3.4	<i>Měď (Cu)</i> .....	42
5.3.5	<i>Nikl (Ni)</i> .....	42
5.3.6	<i>Olovo (Pb)</i> .....	43
5.3.7	<i>Thalium (Tl)</i> .....	43
5.3.8	<i>Zinek (Zn)</i> .....	44
<b>6</b>	<b>DISKUZE</b> .....	<b>45</b>
6.1	MOBILITA A DOSTUPNOST RP V PŮDÁCH.....	45
6.2	PŘESTUP RP DO VČEL, MEDU A DALŠÍCH VČELÍCH PRODUKTŮ .....	46
6.3	VČELA A VČELÍ PRODUKTY JAKO BIOMONITORY RP V PŮDĚ .....	48
6.4	AUTENTICITA MEDŮ Z ČESKÉHO LESA.....	49
<b>7</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>51</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>52</b>

# 1 Úvod

V životním prostředí, jehož hlavními abiotickými složkami jsou půda, voda a ovzduší, se odehrává mnoho přirozených procesů, které umožňují transport látek, výměnu energie a existenci různých forem života. Půdní prostředí představuje velmi zranitelný systém. Půda je významným rezervoárem rizikových prvků (RP), odkud se tyto prvky přirozeně uvolňují do potravního řetězce (Costa et al. 2019). Obsah RP v půdách primárně závisí na horninovém podloží. Distribuci RP v půdě ovlivňují přirozené procesy, např. zvětrávání hornin, eroze půdy, sedimentace ale také lesní požáry, vulkanická aktivita s následnou depozicí a činnost organismů (Negri et al. 2015). Zásah člověka do přirozených biogeochemických cyklů prvků stále více ovlivňuje výslednou distribuci RP v lokálním i globálním měřítku (Džugan et al. 2018). Antropogenní činnost tímto narušuje přirozenou homeostázi prostředí a jeho samočistící schopnost (Bargańska et al. 2015). Hlavními činiteli nežádoucí redistribuce RP jsou různá odvětví průmyslu, především těžba hornin, minerálů, fosilní paliv a jejich následné zpracování, spalovací procesy včetně dopravy, nakládání s odpady a zemědělství (Bilandžić et al. 2011, Bargańska et al. 2015, Džugan et al. 2018, Costa et al. 2019). Akumulace RP v půdách a zvýšená biodostupnost RP, tj. průvodní jevy při kontaminaci půd, jsou rizikem pro půdní mikroorganismy, bezobratlé i obratlovce, pro kvalitu a bezpečnost rostlinné i živočišné produkce a zdraví člověka. Je pochopitelné, že předmětem zájmu se stále častěji stávají nástroje pro hodnocení a eliminaci těchto rizik.

Monitorování znečištění životního prostředí je velmi komplexní problematika. V praxi zahrnuje identifikaci kontaminantů a jejich zdrojů s využitím analytických metod, posuzování míry rizik negativních účinků kontaminace a jejího šíření, a to vše při zohlednění ekonomického hlediska a veřejného zájmu. Monitoring vyžaduje data z terénu, často z měření velmi nákladným technickým vybavením. Pro získání těchto dat lze využít také alternativní nástroje – biomonitring znečištění (Wolterbeek 2002).

V širším kontextu se tato práce zabývá využitím včel a včelích produktů k indikaci celkové zátěže konkrétní oblasti rizikovými prvky. Tomuto tématu byly věnovány již desítky vědeckých prací (Herrero-Latorre et al. 2017). Náš výzkum specificky cílil na dosud nedostatečně zodpovězené otázky týkající se citlivosti medu v roli bioindikátoru znečištění rizikovými prvky v oblastech s velmi nízkou úrovní kontaminace. Lze v takové oblasti nalézt přímý vztah mezi dostupností RP v půdě a obsahem RP v medu? Lze vyšší citlivosti indikace dosáhnout analýzou jiné biologické matrice, např. pylu, včelího těla nebo vosku?



## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza výzkumu byla definována takto: Obsah rizikových a esenciálních prvků v medech pocházejících z oblasti Českého lesa významně koreluje s dostupnou zásobou prvků v půdě.

Dílčí cíle práce byly stanoveny následovně:

- (i) posouzení transferu rizikových a esenciálních prvků z půdy do včel a včelích produktů ve vytyčené oblasti
- (ii) identifikace nejcitlivější indikační matrice (včela, med, vosk, pyl) korespondující s biodostupností prvků v půdě
- (iii) nalezení parametru (poměrů prvků), který je charakteristický pro vzorky medu ze zkoumané oblasti a mohl by sloužit jako nástroj garance regionálního původu medu

### 3 Literární rešerše

Monitoring kvality životního prostředí je významným prvkem v ochraně krajiny, organismů a zdraví člověka. Bioindikace kvality životního prostředí využívá dva principy, resp. dva pojmy, bioindikátor a biomonitor, které se velmi často používají chybně jako synonyma či se významově zaměňují (Parmar et al. 2016). Bioindikátory jsou organismy (či jejich části), které indikují změnu kvality životního prostředí, přičemž důraz je kladen na kvalitativní podstatu informace. Biomonitory jsou organismy (či jejich části), jejichž analýzou lze získat kvantitativní informace o kvalitě prostředí (Conti & Cecchetti 2001).

#### 3.1 Biomonitoring

Emise či látky z antropogenních zdrojů mohou v prostředí kontaminovat organismy přímo, nebo také nepřímým způsobem v podobě narušení trofických struktur (Goretti et al. 2020). Pojem biomonitorig znamená využití organismů nebo biologických materiálů k získání informací o vlastnostech biosféry (Ruschioni et al. 2013). Tedy využití živých organismů umožňuje zjištění znečištění životního prostředí (Goretti et al. 2020). Nespornou výhodou této skupiny metod je, že je měřena expozice ze všech možných zdrojů (Sager 2017). Získat relevantní informace pomocí metod biomonitoringu lze například ze změny v chování sledovaného organismu nebo případně dle koncentrací specifických látek v tkáních sledovaného organismu (Ruschioni et al. 2013). Základním stavebním pilířem celého biomonitoringu je volba vhodného biomarkeru neboli žijícího organismu, který jasně a zřetelně demonstruje i malé změny v prostředí (Conti & Botré 2001, Barganska et al. 2015). Výběr takového organismu by měl zahrnovat schopnost organismu akumulovat sledované látky nebo prvky. Dále by se mělo jednat o druh, jehož výskyt není vzácný a je hojně chován. Vhodný organismus by také měl umožnit snadnou manipulaci se vzorky a poskytovat reprezentativní výsledky (Skorbiłowicz et al. 2018). K tomuto účelu se využívají organismy z různých taxonomických jednotek. Stručně se jedná například o houby, nahosemenné rostliny (smrk, borovice), živočichy (hlístice, kroužkovce – žížala, členovce – včela, pavouky, octomilky; měkkýše; hlemýžďe; plazi; ptáky a savce) (Anděl 2011).

#### 3.2 Včela medonosná – ideální biomonitor?

Včela je významným opylovačem krytosemenných rostlin (Costa et al. 2019). Díky opylování udržuje diverzitu flóry a potažmo i fauny. Vyniká florokonstantností, tj. věrností jednomu druhu rostliny, která momentálně kvete. Tím včela zajišťuje spolehlivé a efektivní opylení rostlin (Urban 2018).

Anděl (2011) popisuje včelu jako základní modelový organismus, na kterém se testují především insekticidy, herbicidy a jiné chemické látky využívané v zemědělství. Vhodnost včely pro biomonitoring spočívá v její těsné spjatosti s okolním prostředím (Skorbiłowicz et al. 2018). Díky své specifické etologii je včela denně v kontaktu s mnoha potenciálními polutanty z různých složek prostředí (Goretti et al. 2020). Předností včely jako biomarkeru je její citlivost ke změnám v prostředí a zároveň je vcelku hojně rozšířeným, resp. chovaným organismem (Zhelyazkova 2012, Ruschioni et al. 2013). Včela je také velmi pohyblivá. Je schopna interagovat s polutanty v okruhu přibližně 7 km<sup>2</sup> okolo včelína. Intenzitu vzorkování

prostředí včelami dokumentuje Leita et al. (1996), který uvádí, že jeden úl hostí řádově  $10^4$  včelích dělnic, každá z nich v průměru navštíví  $10^3$  rostlin za den, z čehož vzniká  $10^7$  vzorkovacích míst za jeden den. Rashed et al. (2009) uvádí, že každá z tisíce dělnic navštíví tisíc květů za den, což je celkem jeden milion interakcí a možných cest kontaminace. Autoři Celli & Maccagnani (2003) tvrdí, že každá včelí dělnice uskuteční 12 – 15 letů za potravou nebo vodou během jednoho dne. Zároveň navštívuje rostliny různých botanických druhů, dotýká se listů a jehlic stromů, napájí se z různých vodních zdrojů. Tělo včely je pokryto chloupky, které účinně zachytávají částice atmosférického aerosolu a případně také částice půdy (Barganska et al. 2015). Velmi jemné fragmenty kovových částic ulpívajících na vegetaci a vodní hladině mohou být vdechnuty včelami během jejich letu. K indikaci znečištění prostředí cizorodými látkami lze u včel hodnotit různé parametry. Za přímý ukazatel lze považovat mortalitu včel v důsledku závažné intoxikace včel xenobiotiky. Letální účinky xenobiotik však nejsou častým projevem, a tak je běžněji sledován obsah jejich reziduí ve včelích produktech, včelích larvách či včele samotné. V tomto druhém případě se nejčastěji jedná o přítomnost těžkých kovů, fungicidních či herbicidních látek. Zhelyazkova (2012) nazývá tělo včely „biobariérou“, která je schopna filtrovat nežádoucí látky a tím zabránit jejich vstup do včelích produktů.

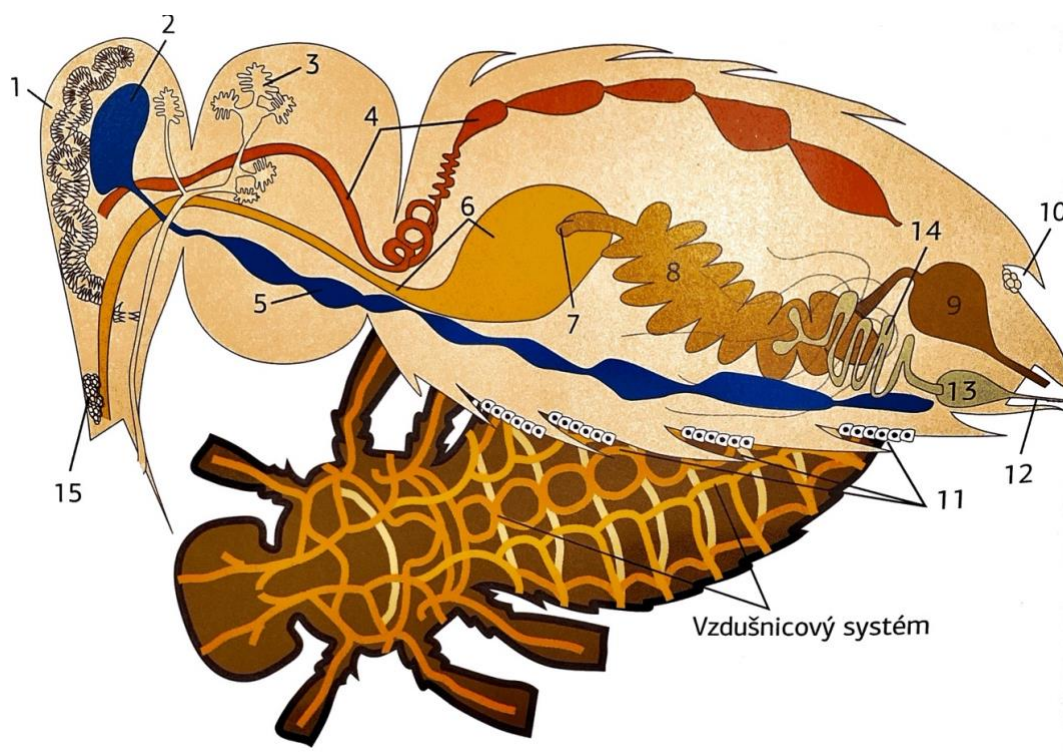
### 3.2.1 Biologie včely

Nejstarším nalezeným exemplářem včely je fosílie v jantaru pocházející z Pobaltské oblasti. Její stáří se odhaduje na 40 milionů let a pochází z období eocénu. Její vzhled odpovídá spíše vose. Tento druh včely je vyhynulý a řadí se do vlastního rodu *Electrapis* (Winston 1987). Moderní včela medonosná (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) patří mezi blanokřídlí hmyz (*Hymenoptera*), rod *Apis*. Tento rod zahrnuje 5 druhů včel: včela medonosná (*A. mellifera*), včela zlatá (též obrovská) (*A. dorsata*), včela skalní (*A. laboriosa*), včela východní (*A. cerana*) a včela květná (*A. florea*) (Winston 1987, Urban 2018).

Tělo včely (Obrázek 1) se dělí na tři základní části: hlava (caput), hrud' (thorax) a zadeček (abdomen) (Snodgrass 1956). Hlava je trojúhelníkovitého tvaru. Na hlavě je umístěno celkem pět očí, tři oči jednoduché (ocelli) a pár očí složených (omatidia). Na hlavě jsou umístěna i tykadla, kterými včela rozpoznává feromony. Ústní ústrojí je lízavě sací.

Na hrudi se nachází jeden pár křídel s viditelnou žilnatinou. K hrudi jsou uchyceny 3 páry končetin. Každá končetina se skládá z šesti článků. Přední končetiny slouží k čištění tykadla a zadní končetiny k ukládání pylu. Pyl je ukládán do pylového košíčku na vnější straně zadních končetin. Hrud' je pokryta hustými chloupky (Wilson–Rich 2018). Abdomen je největším článkem včelího těla. Nachází se v něm zažívací orgány, medný váček, jedová žláza, žihadlo a vzdušné vaky. V případě trubců a matky jsou přítomny reprodukční orgány (Snodgrass 1956).

Vývojový cyklus včely má čtyři stádia. Matka naklade vajíčko na dno buňky v plástvi. Z vajíčka se stane larva s chitínovou pokožkou. Larva kolem svého těla vytvoří zámotek a z něj posléze kuklu. Z kukly přechází v dospělého jedince. Vývoj dělnice trvá celkem 21 dní od naklazení vajíčka. Délka života včelí dělnice je odvislá od ročního období. Zimní včely jsou uzpůsobeny k přezimování a délka jejich života se pohybuje od 7 do 9 měsíců. Včely z letního období žijí přibližně 6 – 8 týdnů (Snodgrass 1956).



**Obrázek 1** Stavba těla včely: 1 - hltanová žláza, 2 - mozek (mozková uzlina), 3 - slinné žlázy, 4 - aorta a trubcovité srdce, 5 - ganglia, 6 - jícen a medný váček, 7 - česlo, 8 - žlaznatý žaludek, 9 - výkalový váček, 10 - Nasonova žláza, 11 - voskové žlázy, 12 - žihadlo, 13 - jedový váček, 14 - jedová žláza, 15 - kusadlová žláza (zdroj: schéma a popisky Urban 2018).

### 3.2.2 Výzkum využití včel a včelích produktů při biomonitoringu kontaminace životního prostředí RP

#### 3.2.2.1 První myšlenky a raný výzkum

První souvislosti mezi včelou a hodnocením znečištění životního prostředí se datují dle Konopka et al. (2019) k roku 1935. Zdroj této informace však nelze ve zmíněné publikaci dohledat či jinak ověřit. Rok 1935 zmiňuje i Crane (1984) s odkazem na československého vědce J. Svobodu, který se v dílčích pracích z let 1961 a 1962 věnoval intoxikaci včel arsenem (As) v blízkosti metalurgických provozů či využití medu pro monitorování radioizotopu  $^{90}\text{Sr}$  v prostředí (Herrero-Latorre et al. 2017). Svoboda je tak mnohými autory považován za průkopníka využití včel a včelích produktů pro účely biomonitoringu kontaminace prostředí rizikovými prvky (Bargańska et al. 2016, Smith & Weis 2020). Od roku 1970, především pak v 80. letech 20. století, dochází k nárůstu vědeckého zájmu o využití včel a včelích produktů jako biomonitorů RP. Přehled těchto raných prací uvádí Celli & Maccagnani (2003). Zkoumána byla zprvu především závislost mezi obsahem RP v medu a rostlinném materiálu. Opakovaně bylo zjištěno, že míra kontaminace medu závisí na regionu jeho původu (dle míry urbanizace, dopravní infrastruktury a přítomnosti průmyslové činnosti v okolí stanoviště včel), na druhu rostlin, jejichž pyl a nektar byl včelami sbírán, a na typu medu (květový × medovicový). Postupně se formovala myšlenka, že obsah RP ve včelách a medu může citlivě indikovat míru znečištění atmosféry, půdy, zdrojů vody a rostlin (Crane

1984). Záhy se objevila i první kritika, Jones (1987) považuje med za nedostatečně citlivý biomonitor pro RP. Jako hlavní důvod uvedl značnou variabilitu obsahů RP v medu, která je způsobena variabilitou navštívených rostlin, vlivem sezónnosti a průběhu počasí, zejm. množství a rozložení srážek. Naopak, jako potenciálně vhodné biomonitory RP označili někteří autoři vlastní těla včelích dělnic (Velemínský et al. 1990).

### 3.2.2.2 Výzkum v období 1995 – 2010

Toto období je charakteristické snahou o potvrzení hypotézy, zda med představuje vhodnou matici pro posouzení míry kontaminace prostředí RP. Častým výzkumným cílem bylo srovnání obsahu RP ve vzorcích medu z různých regionů. Bohužel byly tyto studie zřídka doplněny o sběr dalších relevantních vzorků, např. půdy, rostlin, atmosférické depozice, které by kvantifikovaly skutečnou míru zatížení lokality RP. Zvýšené obsahy RP v medu tak byly jednoduše připisovány blízkosti potenciálního zdroje znečištění či obecnému charakteru oblastí (průmyslová × městská × přírodní) (Tuzen et al. 2007, Stankovska et al. 2008). Mnozí autoři umístili experimentální úly do silně kontaminovaných oblastí a získali příznivé výsledky. Leita et al. (1996) stanovili vysoké obsahy Cd, Pb a Zn v medu ze včelínů v blízkosti velmi frekventované silnice ( $10^4$  automobilů za den). Dále byl nalezen lineární vztah mezi obsahem Cd v medu a v rostlinách jetele lučního hojně se vyskytujícího v dané lokalitě. Med, mateří kašička i samotné včely byly vyhodnoceny jako užitečné biomonitory kontaminace z dopravy. Rashed et al. (2009) zaznamenali dostatečnou citlivost medu pro rozlišení málo a více kontaminovaných oblastí Cu, Pb a Zn. Z této práce dále vyplývá, že nalezení pozitivní korelace mezi obsahy RP v medu a rostlinách v okolí stanoviště včelstva je výrazně snazší, nikoliv však samozřejmé, než pro dvojici med a půda a že míra korelace závisí na konkrétním RP. Někteří autoři indikační schopnost medu nadále rozporovali. Conti & Botrè (2001) porovnávali zatížení včel a včelích produktů Cd, Cr a Pb, které byly vzorkovány v centru italské metropole a v jejím širším okolí. Analýza medu poskytla méně reprezentativní výsledky v porovnání se vzorky pylu, propolisu a vosku. Nejcitlivějším biomonitorem byla těla včel. Bogdanov et al. (2007) uvádí, že rozdíly v obsahu RP v souboru 95 vzorků švýcarského medu jsou primárně způsobeny rozdílným botanickým původem medu, nikoliv rozdílným geografickým původem či rozdílnou expozicí rizikovým prvkům z prostředí. Skutečnost, že na základě hodnot obsahu jednoho konkrétního RP v medu nelze spolehlivě usuzovat původ medu, inspirovala kolektiv García et al. (2006) k aplikaci pokročilého chemometrického vyhodnocení dat. Metody vícerozměrně statistické analýzy na souboru 40 vzorků medu ze severozápadního Španělska umožnily spolehlivé rozlišení medů vyprodukovaných ve venkovských oblastech od medů pocházejících z měst a průmyslových oblastí. Pozornost byla nově věnována také přípravě reprezentativních vzorků medu, který je ze své podstaty velmi heterogenní maticí, a rizikům jeho kontaminace při manipulaci se vzorky (Caroli et al. 1999). Tyto faktory mohou nepříznivě ovlivnit spolehlivost získaných dat. Analytické aspekty stanovení RP ve včelím medu přehledně shrnul Pohl et al. (2009).

### 3.2.2.3 Výzkum v období 2011 – 2021

Vysoký počet publikací věnovaných využití včel a včelích produktů jako biomonitorů kontaminace prostředí RP zřetelně dokumentuje nárůst vědeckého zájmu o tuto problematiku

v poslední dekádě. Řada studií potvrdila platnost hypotéz z předešlých dekád, zvláště nižší citlivost bioindikace pomocí medu v porovnání s vlastním včelím tělem (Lambert et al. 2012, Silici et al. 2016, Čirić et al. 2020) nebo ostatními včelími produkty (Formicki et al. 2013). Dle Džugan et al. (2018) nebylo možné dle obsahů Cd, Pb, Al a Tl stanovených ve vzorcích medu z jihovýchodního Polska predikovat, zda byly vzorky odebrány v městských, průmyslových či přírodních lokalitách. Obsahy RP v medu ze včelích úlů vzdálených 10 – 22 km od tepelných elektráren v Turecku byly překvapivě velmi nízké (Silici et al. 2016). Je tedy zřejmé, že spoléhání se výhradně na indikaci pomocí medu by mohlo vést k chybnému hodnocení míry kontaminace lokality. Tělo včely zastává roli bariery pro přestup RP z vnějšího prostředí do medu (Džugan et al. 2018). Mechanismus této funkce však dosud nebyl dostatečně objasněn.

Z výše uvedeného lze ospravedlnit příklon k častějšímu využívání včelích těl namísto medu, ke kterému v literatuře dochází v poslední dekádě (Perugini et al. 2011, van der Steen et al. 2012, Zarić et al. 2017, Skorbilowicz et al. 2018, Goretti et al. 2020). Objevily se nové otázky, např. která část včelího těla je rizikovým prvkům nejvíce exponována a jaké jsou rozdíly v lokální depozici mezi jednotlivými RP (Wang et al. 2013, Negri et al. 2015, Sadowska et al. 2019). S tímto dále souvisí způsob přípravy vzorků a výběr části včelího těla k robustní analýze, která poskytne reprezentativní výsledky (Sadowska et al. 2019). Dále není zcela objasněno, zda prvková analýza včel citlivěji indikuje kontaminaci RP, která pochází z atmosférické depozice (např. z poléťavého prachu) anebo z půdy (zvířené jemné částice či po translokaci rostlinami) či z jiných zdrojů (Negri et al. 2015, Goretti et al. 2020), případně zda je možné odlišit antropogenní zdroj RP od přírodního (Zarić et al. 2017). Zatímco Costa et al. (2019) našli těsnou lineární závislost mezi kontaminací povrchu včel (Pb a Ni) a nezávisle kontinuálně měřeným znečištěním atmosféry v Miláně (Itálie), van der Steen et al. (2015) lineární závislost pro Cd, Pb a V nezjistili, zřejmě kvůli velmi nízkým koncentracím těchto RP v atmosféře zkoumaných lokalit na území Holandska.

Rozsáhlý výzkum variability obsahu RP v medu v závislosti na jeho geografickém původu pokračuje, a to v rámci (i) mikroregionu (Formicki et al. 2013, Ruschioni et al. 2013, Kováčik et al. 2016); (ii) porovnání mezi jednotlivými regiony daného státu (Bilandžić et al. 2011, Di Bella et al. 2015, Oroian et al. 2016, Czipa et al. 2017); (iii) porovnání mezi jednotlivými státy (Krakowska et al. 2015, Meli et al. 2018). Je třeba vnímat význam těchto studií nejen z hlediska biomonitoringu, ale i bezpečnosti konzumace této oblíbené potraviny. Otázka lineárního vztahu mezi obsahem RP v medu a v půdě v okolí úlu zatím nebyla uspokojivě zodpovězena. Czipa et al. (2017) prezentovali statisticky významné korelace pro několik RP, kdežto Zarić et al. (2017) žádné korelace nezjistili.

Pozornost byla také věnována variabilitě obsahu RP ve vzorcích medu i včel z daného stanoviště v čase (Lambert et al. 2012, van der Steen et al. 2012, Ruschioni et al. 2013, Zarić et al. 2017, Skorbilowicz et al. 2018). Míra variability obsahu RP v těchto matricích v čase byla značná a lišila se v závislosti na konkrétním RP. Van der Steen et al. (2012) odebírali vzorky včelích dělnic ve dvoutýdenním intervalu v období červenec – září na několika lokalitách v Holandsku. Jednotlivé RP vykazovaly různě posunutá maxima obsahu během sezóny. Zarić et al. (2017) zjistili vyšší variabilitu obsahu RP ve včelách mezi jednotlivými ročníky než v průběhu roku.

Pro účely biomonitoringu kontaminace RP byla ověřována vhodnost souvisejících méně tradičních matric, např. propolisu (Popov et al. 2017) či nektaru rostlin (Gutiérrez et al. 2020), praktické využití těchto biomonitorů je však sporné. Vzorkování a jeho reprezentativnost, experimentální design a interpretace výsledků ve výzkumu včel a přidružených tématech má svá specifika (Pirk et al. 2013). V této souvislosti se kriticky vyjádřili Herrero-Latorre et al. (2017), kteří upozornili, že většina studií vykazuje velké nedostatky v reprezentativnosti vzorkování. V poslední dekádě se při zpracování dat rozšířilo využití metod vícerozměrné analýzy, která usnadnila interpretaci velkých datových souborů či přispěla k objevu nových souvislostí (Di Bella et al. 2015, Krakowska et al. 2015, Oroian et al. 2016, Zarić et al. 2017).



*Obrázek 2 Hotspoty, kde dochází k ulpění největšího množství prachových částic z atmosféry (zdroj: Negri et al. 2015).*

### **3.2.3 Včelí produkty**

#### **3.2.3.1 Med**

Během svých letů sbírá včela nektar z rostlin, medovici produkovanou hmyzem čeledi mšicovití (*Aphididae*), pryskyřici ze stromů, pyl a vodu (Devillers & Pham-Delègue 2002). Nektar obsahuje od 5 do 80 % sacharidů, přičemž obvyklý obsah se pohybuje okolo 30 – 40 %. Zastoupena je nejvíce sacharóza (50 – 70 %). V menší míře se v nektaru vyskytuje fruktóza a glukóza (průměrně 17 %) (Crane 1999, Krakowska et al. 2015). Jejich obsah je dán rostlinným druhem, ze kterého nektar nebo medovice pochází. Nektar slouží jako zdroj energie pro kolonii (Kevan 1999). Je základní složkou, ze které včely vyrábí med. Předpokladem přeměny v med je odstranění vody. Evaporace vody je urychlena pohybem včelích křídel a příznivou teplotou v úlu (Devillers & Pham-Delègue 2002). Přeměna nektaru v med probíhá primárně procesem předávání medu skrze ústní ústrojí mezi dělnicemi. Tím dochází též ke snížení obsahu vody. Zároveň nektar obohacují o enzym invertázu, který dělnice vytvářejí v hltanové žláze. Invertáza přemění většinu obsažené sacharózy na fruktózu a glukózu. Výsledný obsah sacharidů je natolik vysoký, že zabraňuje plísním a kvasinkám v množení. Z hltanové žlázy do nektaru uvolňují také enzym glukózooxidázu, který katalyzuje vznik kyseliny glukonové, která následně katalyzuje přeměnu části glukózy na peroxid vodíku, který plní antibakteriální funkci (Crane 1999). Celý proces tvorby medu je ukončen,

pokud je výsledný obsah vody nižší než 18 %. Včely pak med zalepí voskovými víčky v buňkách plástve, kde jej skladují do zásoby na zimní období (Devillers & Pham-Delègue 2002).

Med je ceněn pro snadnou stravitelnost. Zpracováním a skladováním medu je ovlivněna jeho nutriční hodnota (Kováčik et al. 2016). Med obsahuje širokou škálu makroprvků a mikroprvků (Kacaniova et al. 2009), především draslík (K), vápník (Ca), měď (Cu), hořčík (Mg), mangan (Mn), železo (Fe) a zinek (Zn) (Krakowska et al. 2015). Kromě vysokého obsahu sacharidů obsahuje aminokyseliny, barviva, stopové množství tuků a aromatických látek, organické a anorganické kyseliny, enzymy a hormony. Vitamíny jsou zastoupeny ve větší míře vitamíny C, K a B. Pro medovicové medy je typický vyšší obsah vitamínu K (Sager 2017) a zpravidla menší množství pylu. Obsah minerálních látek se odvíjí od minerálního složení rostlin a dle typu medu (Meli et al. 2018). Existuje markantní rozdíl mezi medem květovým (0,1 – 0,2 % min. l.) a medovicovým (1 a více % min. l.) (Bilandžić et al. 2011). Složení medu je obecně ovlivněno interakcemi včely s rostlinami, půdou, vodou a atmosférou (Kacaniova et al. 2009, Formicki et al. 2013, Herrero–Latorre et al. 2017).

### 3.2.3.2 Ostatní včelí produkty

Propolis je produkt tvořený včelami z pryskyřice stromů. V úlu se využívá jako tmel nebo lepidlo. Pyl je pro včelí kolonii primárním zdrojem proteinů a vitamínů. Obsah bílkovin v pylu je od 6 do 28 %. Zároveň obsahuje přibližně deset pro včely esenciálních aminokyselin (Devillers & Pham-Delègue 2002). Vosk je složitá látka tvořená estery mastných kyselin, kyselinami a uhlovodíky. Jedná se o inertní látku nestravitelnou pro všechny savce potažmo pro člověka. Včely jej tvoří voskotvornými žlázami umístěnými na abdomenu. Jeden kilogram vosku odpovídá 1 250 000 voskovým šupinkám. Mateří kašička je produkována mladšími dělnicemi, které produkují potravu pro larvy v hlavových žlázách. Pro larvu matky je tvořena mateří kašička živinově bohatší, než pro larvy dělnic a trubců. Obsahuje 150 bioaktivních látek, přibližně 66 % vody, 18 – 25 % bílkovin, 3 – 4 % sacharidů a 5 % tuku (Mizrani & Lensky 2013).

## 3.3 Rizikové prvky v systému půda rostlina

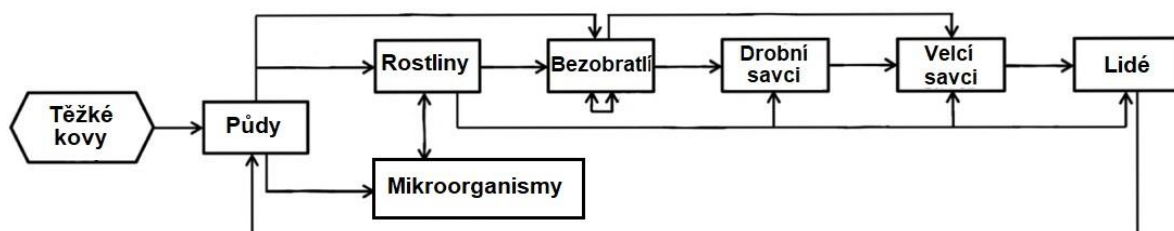
Těžké kovy jsou uváděny jako jedny z nejvíce nebezpečných polutantů (Järup 2003, Rashed et al. 2009). Khan et al. (2015) definují těžké kovy jako kovové prvky o specifické hustotě vyšší než 5 g/cm<sup>3</sup>. Do této kategorie lze zařadit kadmium (Cd), olovo (Pb), rtuť (Hg) a zinek (Zn). Dragović et al. (2008) mezi těžké kovy řadí navíc také chrom (Cr), měď (Cu), mangan (Mn) a nikl (Ni). Striktně vzato, do takto definované skupiny nelze zařadit některé významné toxické prvky, např. arsen (polokov) či beryllium (nízká specifická hustota), které nespĺňují výše uvedená kritéria. Z tohoto důvodu je účelné přiklonit se k používání označení „rizikové prvky“, jehož kritériem není kategorizace prvků na základě fyzikálně-chemických vlastností.

Jiným hlediskem kategorizace kovů je jejich zbytnost/nezbytnost pro správnou funkci metabolických procesů v živých systémech. Kovy lze takto dělit na esenciální (např. Cu, Fe, Mn, Ni, Zn) a neesenciální (Al, As, Cd, Pb, Hg). Neesenciální kovy nejsou pro organismy bezpodmínečně potřebné a některé mohou působit toxicky i při velmi malé expozici. Zástupce



rizikových prvků nalezneme ve skupině esenciálních i neesenciálních kovů, je zřejmé, že hlavním faktorem „rizika“ je především dávka, resp. expozice, a vlastnosti cílového organismu (Khan et al. 2015).

Kontaminace půdy a následná kontaminace rostlin rizikovými prvky je závažným environmentálním a zdravotním rizikem (Khan et al. 2009, Lai et al. 2010, Momodu & Anyakora 2010). Půda je hlavním rezervoárem rizikových prvků přirozeného i antropogenního původu (Wuana & Okieimen 2011). Anorganické formy rizikových prvků v půdě jsou charakteristické svou perzistencí (nejsou biologicky degradovatelné) a vyznačují se latentní toxicitou. Jsou stále přítomny v prostředí a biogeochemických cyklech (Džugan et al. 2018). Celkový obsah RP v půdě však nelze považovat za objektivní parametr vyjadřující míru rizika kontaminace potravního řetězce (Obrázek 3). K hodnocení skutečných environmentálních rizik je vhodné zavést koncept biodostupnosti. Biodostupný podíl RP v půdě je podmnožinou celkového obsahu daného prvku v půdě. Vlastní definice pojmu biodostupnost byla v literatuře zavedena různými autory často velmi odlišně a nejednoznačně (Kim et al. 2015). Komplexní význam biodostupnosti interpretovali Peijnenburg et al. (1997), biodostupnost definovali jako dynamický proces skládající se ze tří složek: 1) environmentální dostupnost (zahrnuje fyzikálně-chemické procesy uvolnění RP z půdní matrice); 2) environmentální biodostupnost (fyziologické procesy, které se podílejí na vstupu RP do organismu; 3) toxikologická biodostupnost (akumulace RP v organismu a jeho účinek).



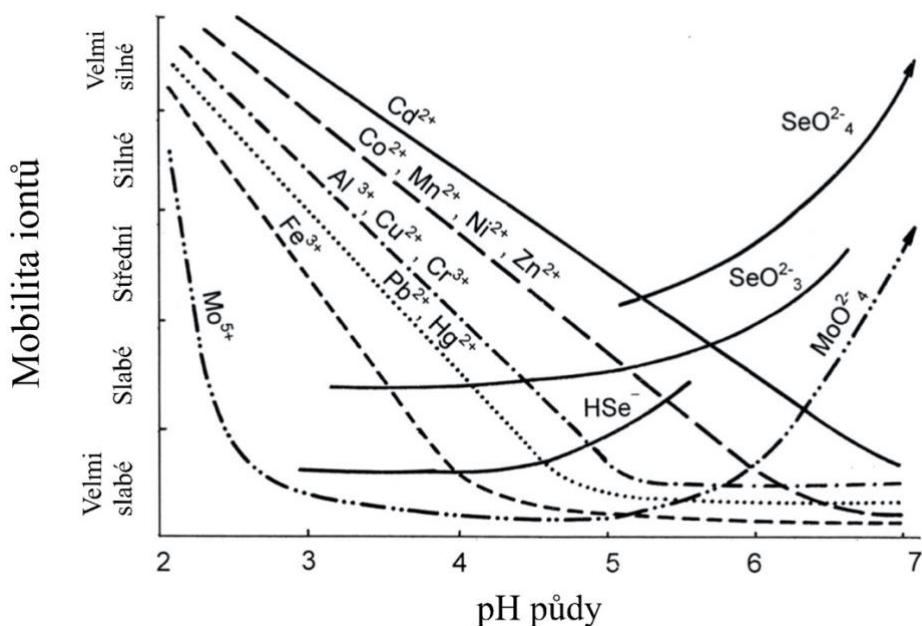
**Obrázek 3** Transport rizikových prvků z půdního prostředí do rostlin a dalších organismů (převzato a upraveno dle Gall et al. 2015).

### 3.3.1 Dostupnost a mobilita rizikových prvků v půdě

Tato kapitola pojednává o environmentální dostupnosti RP jako složky biodostupnosti zavedené v předchozí kapitole. Podle Kim et al. (2015) je RP environmentálně dostupný, pokud se nachází v rozpuštěné formě v půdním roztoku či je potenciálně dostupný ve formě adsorbované na půdní matrici. Pod pojmem potenciálně dostupný podíl RP si lze představit maximální množství daného prvku, které se může uvolnit z půdní matrice do půdního roztoku za nejméně environmentálně příznivých podmínek. V následujícím textu budou stručně zmíněny půdní procesy, které podmiňují dostupnost RP v půdě a půdní charakteristiky, které mají na tyto procesy vliv.

Sorpce/desorpce, rozpouštění/srážení, tvorba a disociace komplexů jsou nejvýznamnější půdní procesy, které ovlivňují mobilitu a dostupnost RP v půdě (Kim et al. 2015). Mezi jednotlivými RP existují značné rozdíly v predispozici k těmto procesům (McBride 1994). Zmíněné půdní procesy jsou lokalizovány především na fázovém rozhraní pevná půdní částice – půdní roztok. Vlastnosti tohoto rozhraní jsou klíčové z hlediska transportu RP do potravního řetězce.

Mezi nejvýznamnější půdní fyzikálně-chemické charakteristiky patří půdní reakce (pH), oxidačně-redukční potenciál, kationtově-výměnná kapacita (KVK) a obsah organické hmoty (Antoniadis et al. 2017). Půdní pH je jednoznačně nejvýznamnější veličinou, ovlivňuje rovnováhy sorpční, srážecí i stabilitu komplexů (Shaheen et al. 2013). Často je pH půd uváděno v souvislosti s redoxním potenciálem, neboť tato dvojice veličin řídí tzv. speciaci prvku (chemická forma výskytu daného prvku) v půdním roztoku. Zásadním poznatkem je, že různé specie daného RP mohou vykazovat zcela odlišné sklony k sorpci, srážení a komplexaci, tedy odlišnou mobilitu a dostupnost v půdě. Velmi patrné je toto kontrastní chování pro RP, u nichž mohou být v půdním roztoku stabilní kationtové i aniontové formy, např.  $\text{Cr}^{3+}$  a  $\text{CrO}_4^{2-}$  (Bradl 2004). Některé jevy, např. sorpce RP, závisí na kvalitě půdních částic. Nositelům sorpční kapacity v půdě jsou především oxidy a hydroxidy Al, Fe a Mn, dále jílové minerály a koloidní organická hmota (Shaheen et al. 2013). Zastoupení těchto složek v půdě pozitivně koreluje s kationtově-výměnnou kapacitou a úzce souvisí s půdním druhem a do jisté míry také s půdním typem. Obecně lze očekávat, že RP v půdách písčitých jsou mobilnější než v půdách hlinitých či jílovitých (Khan et al. 2015). Půdní organická hmota (rozpuštěná, koloidní či částicová) je velmi heterogenní, obtížně definovatelnou směsí (molekulová hmotnost, funkční skupiny, reaktivita) molekul (Aiken et al. 2011). Její vliv na mobilitu a dostupnost RP nelze zobecnit. Půdní organická hmota se podílí na vzniku komplexů s RP, přičemž výsledný komplex může mobilitu RP v půdním prostředí zvýšit nebo snížit (Harter & Naidu 1995). V úvahu je třeba brát nejen vlastnosti organického ligandu, ale také konkrétního RP. Stabilita některých specifických komplexů, např. mezi  $\text{Hg}^{2+}$  a thiolovými skupinami (-SH) je mimořádně vysoká (Aiken et al. 2011). Z uvedeného vyplývá, že posuzování a předpověď mobility a dostupnosti RP na základě měřitelných půdních charakteristik (pH, KVK, obsah organické hmoty) je nespolehlivé a nepraktické.



**Obrázek 4** Korelace půdní reakce a mobility iontů (převzato a upraveno dle Kabata-Pendias & Pendias 2001).

### 3.3.2 Dostupnost rizikových prvků rostlinám

Míra dostupnosti RP rostlinám se významově překrývá se druhou složkou biodostupnosti, tj. s environmentální biodostupností, definovanou v kapitole 3.3 podle Peijnenburg et al. (1997). Biodostupnost RP je v první řadě podmíněna stejnými faktory, které ovlivňují dostupnost a mobilitu RP v půdě, tj. fyzikálně-chemické vlastnosti půd a specifické půdní procesy popsané v kapitole 3.3.1.

Transport z půdy (půdního roztoku) do kořenů je hlavní cestou vstupu RP do rostlin (Edelstein & Ben-Hur 2018, Gupta et al. 2019). Půdní roztok – povrch kořenů je v pořadí již druhým významným fázovým rozhraním určujícím mobilitu RP v terestrických ekosystémech. Pro svůj zásadní význam byla na tomto rozhraní na straně půdy definována tzv. rhizosféra, což je vrstva půdy (jednotky mm) obklopující rhizodermální buňky. Exkrecí kořenových exudátů (směs cukrů, karboxylových kyselin, aminokyselin, fenolů, polysacharidů, polyuronových kyselin a exoenzymů) rostlina významně ovlivňuje fyzikálně-chemické vlastnosti rhizosféry a sekundárně také mikrobiální aktivitu v tomto prostoru (Zhu et al. 2020). Kořenové exudáty přímo i nepřímo ovlivňují kromě nejdůležitějších půdních parametrů (pH a redoxní potenciál) také sorpční, rozpouštěcí a komplexační rovnováhy v rhizosféře (Antoniadis et al. 2017). Rhizosféra tak představuje mikrosvět s diametrálně odlišnou intenzitou půdních procesů v porovnání s okolní půdou.

Rizikové prvky mohou vstupovat do kořene ve formě kationtů, aniontů i neutrálních komplexů (Edelstein & Ben-Hur 2018). Jako první krok příjmu RP se nejčastěji uvádí adsorpce RP z půdního roztoku na povrch kořenů. Dochází k interakcím RP s funkčními skupinami polysacharidů rhizodermálních buněk, které jsou často zprostředkovány kořenovým slizem (mucigel) (Shahid et al. 2017). Z apoplastu kořene mohou RP vstupovat až do vzestupného transpiračního proudu, pokud nejsou v kořenu imobilizovány. Na transportu RP se mohou podílet pasivní transport difúzí i aktivní transmembránový transport zprostředkovaný transportéry (Gupta et al. 2019, Gomes et al. 2017). Výše uvedený popis vstupu a pohybu RP v rostlinách je velmi zjednodušený a nevystihuje specifické rozdíly ve snadnosti transportu jednotlivých RP a jednotlivých specií téhož RP (Zhu et al. 2020, Haider et al. 2021). Biodostupnost RP závisí také na abiotických faktorech prostředí, zvláště na teplotě a vzdušné i půdní vlhkosti, které řídí intenzitu transpirace (Gomes et al. 2017). Druh nebo též varieta rostliny a fenologická fáze jejího vývoje jsou dalšími faktory ovlivňujícími biodostupnost RP (Khan et al. 2015, Haider et al. 2021). Nutno poznamenat, že se plynule dostáváme ke třetí složce biodostupnosti podle členění v kapitole 3.3, tj. toxikologická biodostupnost. Různé druhy rostlin se liší v geneticky podmíněných schopnostech příjmu, translokace, kompartmentalizace a akumulace RP (Antoniadis et al. 2017). Extrémním příkladem diverzity těchto schopností je existence tzv. hyperakumulátorů, které jsou schopny akumulovat v sušině více než 0,1 % RP (Gall et al. 2015). U běžných druhů rostlin se však vyvinuly mechanismy bránící translokaci a redistribuci RP, např. sekvestrace chelátů do vakuol, tvorba málo mobilních či zcela imobilních forem RP v rostlině nebo fyziologické změny v kořenu na buněčné úrovni (Lux et al. 2011, Antoniadis et al. 2017). Rostlina se takto chrání před narušením esenciálních metabolických procesů a před negativními vlivy RP na vznik nové životaschopné generace, např. vyloučením akumulace RP do pylových zrn, resp. semen.

### 3.3.3 Stanovení (bio)dostupnosti RP v systému půda – rostlina (výluhové testy)

Z předešlého textu vyplývá, že environmentální biodostupnost RP závisí na chemické formě RP a na kvalitě asociace RP s půdní matricí. Takové informace se však získávají přímými analytickými metodami obtížně (Madrid et al. 2007). Jednostupňové extrakční metody představují nejběžnější a zřejmě také nejjednodušší nástroj pro hodnocení a předpověď dostupného podílu RP v půdě rostlinám (Rao et al. 2008, Pinto et al. 2015). Extrakční činidla mohou být klasifikována podle mechanismu uvolnění RP z půdní matrice, McLaughlin et al. (2000) uvádí tyto mechanismy: rozpouštění, komplexace, desorpce/iontová výměna a oxidace/redukce. Mnozí autoři (McLaughlin et al. 2000, Pueyo et al. 2004, Menzies et al. 2007) ukázali, že nejtěsnější korelaci mezi obsahem RP v rostlině a množstvím RP vyluhovaným z půdy poskytují roztoky neutrálních solí (např.  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{NaNO}_3$ ). Tato činidla uvolňují především vodorozpustný a iontovýměnný podíl RP v půdě, ačkoliv chloridovému aniontu v  $\text{CaCl}_2$  je pro některé RP připisován také slabší komplexační účinek (Rauet 1998). Za posledních 50 let bylo popsáno či modifikováno mnoho různých extrakčních metod, jejich přehled lze na dohledat v literatuře (Rauet 1998, McLaughlin et al. 2000, Rao et al. 2008). S velkým počtem publikací věnovaných extrakci RP z půdy bohužel souvisí i problém nekonzistence podmínek extrakce (typ a koncentrace činidla, poměr (hmot. či objem.) půdy ku činidlu, doba a intenzita míchání půdní suspenze. Výsledky studií tedy často není možné porovnat mezi sebou (Pueyo et al. 2004). Další komplikace vychází ze skutečnosti, že úspěšnost predikce biodostupnosti rostlinám s využitím konkrétního extrakčního činidla je ovlivněna půdním typem, druhem rostliny a samotným RP (Rauet 1998). Výluhové testy jsou ryze chemickými metodami a jako takové ignorují biologické procesy v půdě, zvláště v rhizosféře. Na druhou stranu, velmi dobré predikce biodostupnosti RP lze dosáhnout, pokud je extrakční metoda aplikována právě na rhizosférní půdu (Pinto et al. 2015).

### 3.4 Atmosférická depozice RP

Vstupu RP do rostlin přes povrch nadzemních orgánů bylo v porovnání s příjmem RP kořeny věnováno málo pozornosti. Také vlastní mechanismus foliárního příjmu na buněčné úrovni a následná distribuce RP v pletivech nebyly jednoznačně postulovány (Luo et al. 2019). Rozlišit původ RP (z půdy  $\times$  atmosféry) obsažených v rostlině je velmi obtížné, neboť se oba způsoby vstupu RP do rostlin mohou uplatňovat současně (Shahid et al. 2017). Rizikové prvky se atmosférickou depozicí mohou navíc akumulovat ve svrchní vrstvě půdy, kde vykazují vysokou environmentální biodostupnost a do rostlin vstupují sekundárně, ačkoliv nejsou litogenního původu (Luo et al. 2019). V oblastech průmyslových aglomerací a v blízkosti významných zdrojů znečištění ovzduší může být foliární příjem RP vyšší než kořeny (Schreck et al. 2012). Rizikové prvky se v atmosféře vyskytují ve formě aerosolu, v českém jazyce se často používá termín poléťavý prach, v širokém intervalu velikosti částic, které plní funkci nosičů RP (Vojtěšek et al. 2009). Po depozici poléťavého prachu na list může principiálně docházet ke vstupu RP skrze různé poruchy integrity kutikuly, stomata, ektodesmy a akvaporinové kanály. O primárním způsobu foliárního vstupu RP do rostlin se stále vede vědecká diskuze (Schreck et al. 2012, Shahid et al. 2017). Podle Xiong et al. (2014)

mohou nejmenší částice polétavého prachu penetrovat dokonce přes kutikulu, tj. primární způsob transportu pro lipofilní částice. Foliární příjem RP obecně závisí na: (i) druhu rostliny a její vývojové fázi (fyzikálně-chemické vlastnosti kutikuly, morfologie a vnitřní stavba listů); (ii) fyzikální a chemické formě RP (vlastnosti RP, velikost a charakter nosiče RP) a (iii) abiotických faktorech prostředí, které mohou ovlivňovat penetrační proces RP přímo (relativní vlhkost vzduchu) či nepřímo skrze metabolické procesy rostlin (vlhkost, teplota a světlo). Množství přijatého RP závisí také na množství RP v kontaktu s rostlinou a na době expozice (Shahid et al. 2017).

## 4 Metodika

V úvodu praktické části je stručně popsána oblast Českého lesa spolu s jejími charakteristikami. Dále jsou zde vymezena jednotlivá stanoviště včelínů, odkud byly odebrány vzorky včelích produktů, včel a půd. Odběrová místa každého stanoviště jsou lokalizována a stručně popsána, včetně hodnot půdní reakce (Tabulka 1). Uvedena je metodika odběru jednotlivých vzorků a použité metody při analýzách vzorků, včetně metod vyhodnocení výsledků.

### 4.1 Obecná charakteristika oblasti

Český les je chráněná krajinná oblast (CHKO) nacházející se v Plzeňském kraji. Jako CHKO byl Český les uznán v roce 2005. Celková rozloha činí 473 km<sup>2</sup> a největší podíl plochy tvoří lesy (81 %), které jsou primárně zastoupeny smrkovým a bukovým porostem. Nejvyšším bodem je hora Čerchov (1042 m n. m.).

Český les se rozkládá na pomezí pohoří Tachovská brázda a Podčeskoleská pahorkatina. Na východní straně je tvořen českým křemenným valem. Pro tuto oblast jsou typickým podložím horniny tvořené přeměněnými jílovými a písčitymi sedimenty. Hlavní horninou je pararula (rula) složená především z křemene, živce a slídy.

Půdy této oblasti jsou často zonální. Jejich typ je ovlivněn působením bioklimatických činitelů. Nejvíce zastoupené půdní typy jsou kyselé až silně kyselé hnědozemě, podzoly a pseudogleje. Pro vyšší nadmořské výšky jsou typické rankery, a naopak v nížinách jsou často nivní půdy.

Většina území Českého lesa spadá do mírného klimatického pásma. Ten lze specifikovat mírným jarem a podzimem, krátkým a vlhkým létem a suchou zimou. Průměrná roční teplota se pohybuje v místech s nadmořskou výškou 400 m okolo 8 °C. Teplotní maximum připadá na červenec (průměrně 14 – 18 °C) a minimum na leden (-2 až -4 °C). Výjimkou je hora Čerchov, která spadá do chladného podnebného pásu a průměrná roční teplota zde dosahuje 4,5 až 5 °C. Oblast se nachází ve srážkovém stínu, roční úhrn srážek činí průměrně 640 mm. V případě Čerchova je průměrný roční úhrn srážek 1127 mm (Správa CHKO Český les 2021).

### 4.2 Charakteristika stanovišť

#### 4.2.1 Bystřice

Bystřice nebo také Fuchsova huť je zaniklá osada v Českém lese, okres Domažlice. Leží na úpatí hory Čerchov v nadmořské výšce 550 m. Včelín je umístěn na pomezí jehličnatého lesa, louky a neudržovaného jabloňového sadu.

#### 4.2.2 Jindřichovka

Stanoviště Jindřichovka se nachází přibližně 5 km od obce Klenčí pod Čerchovem a obce Jindřichova hora. Nadmořská výška je 686 m n. m. Úly jsou umístěny na oploceném pozemku, který se několikrát do roka seče. Necelých 300 m od včelína začíná hustý převážně

jehličnatý les. Stanoviště je umístěno na vyvýšeném místě a v nížině pod ním jsou louky a pastviny.

#### **4.2.3 Mýtnice**

Umístění stanoviště je na místě zaniklé obce Mýtnice (Mauthaus) v nadmořské výšce 530 m. Poblíž se nachází obec Novosedly a proudí zde Nemanický potok. Včelí úly jsou umístěny v zalesněném svahu v pojízdné maringotce. V okolí maringotky je smíšený řídký les a rozlehlá svažité louka.

#### **4.2.4 Novosedly**

Toto stanoviště se nachází na okraji obce Novosedelské hutě, která je součástí obce Nemanice. Stanoviště se nachází v nadmořské výšce 530 m. Úly jsou na okraji oploceného pozemku, který sousedí s menším statkem, lesem, polem a loukou.

#### **4.2.5 Pila**

Pila (Seeg) je bývalá obec v blízkosti Nemanic a Nemanického potoka v bažinaté oblasti. Nadmořská výška je 770 m n. m. Stanoviště včel je umístěno v bezprostřední blízkosti silnice, která je veřejnosti bez povolení nepřístupná, a tudíž velmi málo frekventovaná. V okolí včelína se nachází rozlehlé pastvy skotu a listnatý les.

#### **4.2.6 Ranč**

Stanoviště se nachází na pomezí tří obcí, a to Klenčí pod Čerchovem, Chodov a Trhanov. Nadmořská výška je 456 m. Na oploceném pozemku se nachází velký včelín. V jeho okolí je uměle vytvořené jezírko, jehličnatý les a záhony s okrasnými rostlinami. Roste zde několik ovocných stromů a keřů.

#### **4.2.7 Sezemín**

Obec Sezemín je osada města Poběžovice. Nachází se v nadmořské výšce 435 m. Samotný včelín je umístěn v porostu listnatých stromů přibližně 3 kilometr od obce. Lokalita disponuje rybníkem jako vodním zdrojem. V okolí se dále nachází mnoho luk a převážně listnaté. Toto stanoviště je charakteristické mělkými půdami s vysokým obsahem skeletu.

#### **4.2.8 Spálenec**

Spálenec se nachází mezi obcemi Spáleneček, Malý Spálenec a Česká Kubice. Jeho nadmořská výška se pohybuje 550 m. Úly jsou umístěny v rozlehlém bývalém vojenském areálu. Skrze pozemek vede neveřejná asfaltová příjezdová cesta. Porost je tvořen jehličnatými stromy a v odlehlé části pozemku je smíšený les. Půda je zde velmi skeletovitá. Včely jsou umístěny přibližně 3 – 5 m od plotu, za kterým se nachází středně frekventovaná silnice mezi dvěma obcemi.

## 4.2.9 Valtířov

Bývalá obec Valtířov se nachází přibližně 3 km od obce Nový Kramolín v nadmořské výšce 462 m. Včelíny jsou umístěny na pomezí nesečené louky a listnatého lesa.

*Tabulka 1 Seznam zkoumaných stanovišť, jejich zkratka, půdní reakce a poloha dle GPS.*

Stanoviště	Značení	pH půd (CaCl <sub>2</sub> )	GPS souřadnice:
Bystřice	(B)	4,3 ± 0,3	49.3573219N, 12.80774769E
Jindřichovka	(J)	4,5 ± 0,1	49.4200583N, 12.7521364E
Mýtnice	(M)	4,6 ± 0,3	49.4496908N, 12.7079186E
Novosedly	(N)	4,2 ± 0,1	49.4503844N, 12.7272167E
Pila	(P)	4,5 ± 0,2	49.4453131N, 12.6907522E
Ranč	(R)	4,7 ± 0,7	49.4324294N, 12.8090211E
Sezemín	(SZ)	4,8 ± 0,7	49.5026300N, 12.7406492E
Spálenec	(SP)	4,9 ± 0,5	49.3662036N, 12.8827108E
Valtířov	(V)	4,3 ± 0,4	49.4720619N, 12.7589914E

## 4.3 Odběr vzorků

Odběry všech typů vzorků probíhaly od konce května do srpna roku 2020 na vybraných stanovištích (Tabulka 1). Vzorky včelích produktů a včel byly odebírány způsobem, aby co nejlépe reprezentovaly všechny přítomné včelí úly na daném stanovišti. V případě půd, vzhledem ke značné prostorové heterogenitě a omezenému počtu půdních vzorků z jedné lokality, nelze však zaručit, že odebrané vzorky vždy spolehlivě reprezentují půdy na dané lokalitě. Při odběru a manipulaci se vzorky byly vždy použity jednorázové bezlatexové rukavice bez pudru. Vzorky byly odebrány do čistých (výplach ultračistou H<sub>2</sub>O) plastových nádob s uzávěrem z důvodu minimalizace rizika kontaminace vzorků, nebude-li uvedeno jinak.

### 4.3.1 Půda

Vzorky půd byly odebrány v srpnu 2020. Ke vzorkování byla použita nášlapná sondýrka. Celkem bylo odebráno 36 půdních vzorků, z každého stanoviště byly odebrány čtyři nezávislé vzorky. Každý ze vzorků byl odebrán v jiné části stanoviště, přičemž minimální vzdálenost mezi odběrovými místy činila 50 m. Žádný ze vzorků nebyl odebrán mimo perimetr 200 m od včelínu. Vzorky byly uloženy do plastových pytlíků s uzavíráním. Hmotnost jednoho vzorku zeminy byla minimálně 500 g (vlhký stav). Vzorky půd nebyly dlouhodobě skladovány, 72 h po odběru byly vysušeny, homogenizovány a analyzovány.

### 4.3.2 Včelí produkty

Včelí produkty (kromě medu) z daného stanoviště byly odebírány vždy v rámci jednoho dne, aby nebyla včelstva oslabována nadměrnými zásahy do úlu. Vzorky včelích produktů byly skladovány v temnu při teplotě -20 °C.



#### 4.3.2.1 Med

Květový med byl odebírán v den jeho vytočení (přelom květen/červen 2020) z medových pláství pomocí medometu do polyethylenových zkumavek (50 ml). Objem odebraného vzorku byl přibližně 45 – 50 ml.

#### 4.3.2.2 Vosk

Vzorky vosku byly odebírány v rukavicích přímo ze včelího úlu z pláství, případně volných staveb a uloženy do polyethylenových nádob. Vosk byl vzorkován z více úlů na jednom stanovišti tak, aby vznikl směsný vzorek. Hmotnost jednoho vzorku ze stanoviště byla přibližně 10 g.

#### 4.3.2.3 Pyl

K pokusu byl využit pyl perga neboli včelí chleba. Jedná se o pyl, který je včelami uložen do buněk plástve a upěchován malým množstvím medu (25 % medu, 75 % pylu z rousek). K tomu včely přidávají enzymy, kvasinky a probiotické bakterie. V buňce plástve probíhá anaerobní proces kvašení, kterým vzniká včelí chléb, který je až 4krát lépe stravitelný (Herbert & Shimanuky 1978). Pyl byl odebírán z buněk v plástvi a uložen do plastové nádoby. Pyl byl vzorkován z více úlů na jednom stanovišti tak, aby vznikl směsný vzorek. Hmotnost jednoho vzorku ze stanoviště byla přibližně 5 g.

### 4.3.3 Včely

Odběr včel probíhal spolu s odběry včelích produktů (květen 2020). Sbírány byly již mrtvé včelí dělnice z česna a bezprostředního okolí úlu (z porostu, ležící na půdě). Z každého stanoviště bylo posbíráno cca 40 mrtvých dělnic a byl vytvořen směsný vzorek. Druhou částí odběru byl odchyt živých včel přímo z úlů, a to v počtu cca 40 dělnic z každého stanoviště. Usmrcení včel proběhlo rychlým zmrazením. Oba typy vzorků byly uloženy do plastových nádob a skladovány při teplotě  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## 4.4 Příprava vzorků k prvkové analýze

Vzorky půd byly sušeny v hliníkových vaničkách při teplotě  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  po dobu 48 h v sušárně (DRY-Line DL53, VWR, Německo) a následně přesáty přes síto o velikosti ok 2 mm. V případě větších půdních agregátů byla využita porcelánová třecí miska s tloučkem a následně opětovně přesáto (Obrázek 5). Získané homogenní vzorky jemnozeme byly extrahovány pomocí tří různých činidel v roztoku (Mehlich III, kyselina octová, chlorid vápenatý).

Po rozmrazení při laboratorní teplotě byly vzorky pylu a včel sušeny na plastových Petriho miskách při teplotě  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  po dobu 48 h v sušárně. Z těchto vzorků byly odebrány alikvotní podíly pro stanovení sušiny při ohřevu na  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  až do konstantní hmotnosti. Vzorky medu byly po rozmrazení krátce skladovány při  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  a bezprostředně před navažováním vzorků byly temperovány ve vodní lázni ( $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) pro snadnější promíchání a manipulaci. Vzorky vosku byly před analýzou skladovány při  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.4.1 Půdní výluh - Mehlich III

K extrakci půd byl použit výluhový test Mehlich III dle metodiky Pierzynski (2000). Do plastových lahvíček bylo naváženo 10 g (s přesností na jedno desetinné místo) jemnozeme, vždy po čtyřech vzorcích z jednoho stanoviště. Půda byla zalita 100 ml roztoku Mehlich III, který obsahuje: 0,2 mol/l  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ; 0,25 mol/l  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ; 0,015 mol/l  $\text{NH}_4\text{F}$ ; 0,013 mol/l  $\text{HNO}_3$ ; 0,001 mol/l EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová). Vzorky byly následně třepány (Advanced 15000-2, VWR, Německo) po dobu 10 min při frekvenci 200 kmitů/min. Půdní suspenze byly zfiltrány přes filtrační papír (KA 2, záchyt částic > 8  $\mu\text{m}$ , Papírny Perštein, ČR) vložený do skleněných nálevek (Obrázek 6). Čiré filtráty byly zachyceny do polyethylenových zkumavek, ve kterých byly skladovány v temnu při 4 °C. Připraveny byly také dva slepé (procedurální) vzorky bez navážky půd, se kterými bylo jinak manipulováno stejným způsobem jako se vzorky půd. Před vlastní analýzou byly vzorky zředěny 7× s 1% (m/v)  $\text{HNO}_3$  (Analpure®, Analytika, ČR).



Obrázek 5 Homogenizace vzorků půdy (zdroj: autorka). Obrázek 6 Filtrace půdních suspenzí (zdroj: autorka).

#### 4.4.2 Půdní výluh - roztok chloridu vápenatého

K extrakci půd pomocí 0,01 mol/l  $\text{CaCl}_2$  byla využita metodika Houba et al. (2000). Vzorek jemnozeme o hmotnosti 5 g (s přesností na tři desetinná místa) byl navážen (Explorer®PRO, OHAUS, Švýcarsko) do centrifugačních zkumavek Nalgene®. Následně byly půdy zality 50 ml roztoku  $\text{CaCl}_2$  (Obrázek 7). Zkumavky byly poté třepány v ležaté poloze na horizontální třepače (LT2, Kavalier, ČSR) po dobu 60 min při intenzitě třepání č. 4. Po vytřepání stály vzorky 60 min v klidu. Poté byly vzorky odstředěny (Hettich Universal 30 RF, Hettich, Německo) při 4500 otáčkách/min po dobu 5 min (Obrázek 8). Po odstředění byly roztoky nad sedimentem přelity do polyethylenových zkumavek, okyseleny 200  $\mu\text{l}$   $\text{HNO}_3$  a

skladovány při 4 °C. Připraveny byly také dva slepé (procedurální) vzorky. Před analýzou byly vzorky zředěny 5× s 1% (m/v) HNO<sub>3</sub>. Část vzorků půd v suspenzi bylo využito ke stanovení výměnného pH (pH 2700, Eutech Instruments, Singapur), tyto vzorky byly vyřazeny z následných analýz z důvodu rizika kontaminace po kontaktu s elektrodou.

#### 4.4.3 Půdní vyluh - roztok kyseliny octové

Do centrifugačních zkumavek Nalgene® bylo naváženo 2,5 g jemnozeme (s přesností na tři desetinná místa). Vzorek půdy byl zalit 50 ml roztoku 0,11 mol/l kyseliny octové (Analpure®, Analytika, ČR) podle upravené metodiky Rauret et al. (2000). Zkumavky byly poté třepány v ležaté poloze na horizontální třepačce po dobu 16 h při intenzitě třepání č. 4. Poté byly vzorky odstředěny při 4500 otáčkách/min po dobu 8 min. Po odstředění byly roztoky nad sedimentem přelity do polyethylenových zkumavek a skladovány při 4 °C. Připraveny byly také dva slepé (procedurální) vzorky.



*Obrázek 7* Vzorky připravené na třepání (zdroj: autorka). *Obrázek 8* Vzorky po odstředění (zdroj: autorka).

#### 4.4.4 Celkový obsah RP ve včelách a včelích produktech

Vzorky pylu, celých včelích těl, vosku (každý vzorek 0,2 g) a medu (0,5 g) byly naváženy (s přesností na 4 desetinná místa) do čistých křemenných zkumavek ve třech opakováních. Ke vzorkům byly pipetovány 3 ml HNO<sub>3</sub> (Analpure®) a 3 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Rotipuran®, Carl Roth, Německo). Vzorky byly následně zmineralizovány v mikrovlnném rozkladném systému (Discover SP-D, CEM, USA) při definovaném teplotním programu (ohřev na 180 °C za 10 min a 10 min při 180 °C). Mineralizáty vzorků byly kvantitativně přelity do 50ml plastových zkumavek, doplněny ultračistou H<sub>2</sub>O (≥ 18,2 MΩ/cm; MilliQ system, Millipore, SAS, Francie) na konečný objem 30 ml a analyzovány technikou ICP-MS.

## 4.5 Prvková analýza technikou ICP-MS

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) je analytická technika, která nalézá široké uplatnění při prvkových analýzách vzorků životního prostředí. V oblasti stopové a ultrastopové analýzy rizikových prvků se ICP-MS v konfiguraci s jedním kvadrupólovým hmotnostním filtrem (ICP-QMS) stala v posledních dvou dekádách běžným instrumentálním vybavením výzkumných, ale i řady komerčních laboratoří. Mezi přednosti této techniky patří: (i) rychlá multiprvková analýza s vysokou úrovní automatizace, (ii) velmi nízké detekční limity pro většinu prvků, (iii) široký lineární dynamický rozsah a (iv) možnost přizpůsobení pro různé aplikační oblasti a typy matric. Velmi zjednodušeně lze provozní princip ICP-MS popsat takto: kapalný vzorek je převeden na velmi jemný aerosol homogenní disperze pomocí zmlžovače a mlžné komory; aerosol je přeměněn v argonovém plazmatu (7000 °C) na kationty v plynné fázi, které jsou dále fokusovány systémem iontových čoček až k hmotnostnímu filtru (tj. kvadrupól), který separuje částice dle poměru  $m/z$  (hmotnost/náboj); detektor následně zaznamenává počet částic, které prošly kvadrupólem za jednotku času (Mihaljevič et al. 2004).

Vlastní přístroj ICP-MS použitý pro kvantifikaci RP v této práci byl Agilent 7700x (Agilent Technologies, USA) v následující konfiguraci: autosampler ASX-500, mikrokonzentrický zmlžovač MicroMist, dvouplášťová Scottova mlžná komora, oktapólová kolizní/reakční cela (v heliovém módu pro snížení intenzity polyatomických spektrálních interferencí, které způsobují falešně pozitivní signál u některých prvků), kvadrupól a software MassHunter (verze 2012). Citlivost přístroje byla denně optimalizována pomocí ladícího roztoku (1  $\mu\text{g/l}$  Ce, Mg, Co, Li, Tl a Y). Ke kalibraci přístroje byla použita řada roztoků, které obsahovaly každý z analytů v rozmezí koncentrací 0,001 – 500  $\mu\text{g/l}$  a byly připraveny ředěním certifikovaného roztoku (ASTASOL<sup>®</sup>-MIX, AN9090MN, Analytika, ČR). Při přípravě kalibračních roztoků byl použit přístup částečného sjednocení matric. Matricí kalibračních roztoků pro stanovení koncentrace RP v mineralizátech byl 5% (m/v) roztok  $\text{HNO}_3$  a pro stanovení RP v půdních vylučích matricí byl zředěný roztok příslušného činidla (Mehlich III,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). Pro korekci signálu analytů na vliv matrice vzorků a pro korekci na drift signálu v čase byl použit interní standard 100  $\mu\text{g/l}$  Sc, Ge, Rh, In, Lu, který byl připraven ředěním standardního roztoku (ASTASOL<sup>®</sup>-MIX, TUNE 01, Analytika, ČR). Správnost výsledků stanovení RP ve vzorcích byla pravidelně ověřována paralelními stanoveními RP v certifikovaných referenčních materiálech SRM 1547 (Peach leaves, NIST, USA) a BCR<sup>®</sup>-185R (Bovine liver, BCR, Belgie), a to přípravou vzorků podle kapitoly 4.4.4 a analytickou koncovkou ICP-MS.

## 4.6 Statistické zpracování dat

K přípravě dat a výpočtu hodnot základních popisných statistik (aritmetický průměr, směrodatná odchylka, variační koeficient) pro datové soubory byl použit Excel 2019 (Microsoft Office, Microsoft). K výpočtu hodnot výběrového párového Pearsonova korelačního koeficientu ( $r$ ) na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  a k vytvoření korelační matice byl použit statistický software Statistica 13.5 (TIBCO Software). Transfer faktory (TF)

hodnotící účinnost přestupu RP mezi jednotlivými typy vzorků, resp. riziko šíření RP v systému půda-pyl-včela-včelí produkty, byly vypočteny např. takto:

$$TF(\text{včelaž.} \rightarrow \text{med}) = \frac{\text{obsahRPvmedu}}{\text{obsahRPvživévčele}}$$

## 5 Výsledky

### 5.1 Obsah a dostupnost RP v půdách

#### 5.1.1 Výluh pomocí činidla Mehlich III

Tabulka 2 zobrazuje množství extrahovatelných RP z půd jednotlivých lokalit pomocí činidla Mehlich III. Nejvyšší množství (průměr z devíti lokalit) bylo zaznamenáno u Zn (7,91 µg/g). Tato hodnota je však výrazně ovlivněna velmi vysokou hodnotou Zn(Mehlich III) na lokalitě Mýtnice (43,2 µg/g). Druhým nejvýznamnějším RP(Mehlich III) bylo Pb (6,1 µg/g). Dalšími RP v pořadí dle zastoupení byly: Cu > Ni > Cr > Cd > As > Tl. Variabilita hodnot jednotlivých RP(Mehlich III), vyjádřená jako variační koeficient, se na souboru lokalit pohybovala v rozmezí 29 – 168 %. Nejnižší variabilita (29 – 37 %) byla zjištěna pro Cr, Ni, Cu, Cd a Tl. Z tabelovaných hodnot vyplývá, že žádné ze stanovišť nevyniká relativně zvýšenými hodnotami pro všechny nebo alespoň pro většinu RP. Relativně zvýšené hodnoty pro několik RP byly stanoveny na lokalitách Valtířov, Ranč a Novosedly. Naopak nejméně zvýšených hodnot bylo zjištěno pro Bystřici, Sezemín a Mýtnici.

#### 5.1.2 Výluh v 0,01 mol/l CaCl<sub>2</sub>

Tabulka 3 uvádí množství extrahovatelných RP z půd jednotlivých lokalit roztokem CaCl<sub>2</sub>. Nejvyšší množství bylo v průměru zaznamenáno opět u Zn (1,63 µg/g). Výrazné maximum Zn(CaCl<sub>2</sub>) bylo opět zjištěno na lokalitě Mýtnice (5,47 µg/g), pravděpodobně se tedy nejedná o artefakt při stanovení Zn(Mehlich III). Dalšími RP v pořadí dle zastoupení byly: Ni > Pb ~ Cd ~ Cu > Cr > As > Tl. Je zřejmé, že oproti výsledkům Zn(Mehlich III) došlo ke změně pořadí významnosti prvků. Variabilita dat pro jednotlivé RP(CaCl<sub>2</sub>) na celém souboru lokalit byla výrazně vyšší v porovnání s extrakcí Mehlich III. Pro většinu prvků (Ni, Cu, Zn, Cd, Tl a Pb) byly hodnoty variačních koeficientů > 50 %. Při identifikaci lokalit s vyšším potenciálem rizika na základě výluhu CaCl<sub>2</sub> je třeba hodnotit každý RP individuálně. Relativně vyšší obsahy mobilního Pb byly stanoveny na lokalitách Ranč a Valtířov, vyšší obsahy mobilního Cd na lokalitách Novosedly a Jindřichovka.

#### 5.1.3 Výluh v 0,11 mol/l CH<sub>3</sub>COOH

V tabulce 4 jsou uvedena množství extrahovatelných RP z půd jednotlivých lokalit roztokem kyseliny octové. Nejvyšší množství bylo v průměru zaznamenáno opět u Zn (8,02 µg/g), potvrzeno bylo také výrazné maximum na lokalitě Mýtnice (43,5 µg/g). Dalšími RP v pořadí dle obsahu byly: Ni ~ Pb > Cu > Cd ~ Cr > As > Tl. Pořadí prvků více kopíruje pořadí sestavené pro CaCl<sub>2</sub> než pro Mehlich III. Relativní síla extrakčních činidel pro RP a zároveň celková míra variability extrakčních dat na souboru lokalit byla v pořadí Mehlich III

> CH<sub>3</sub>COOH > CaCl<sub>2</sub>. Relativně vyšší obsahy mobilního Pb byly stanoveny na lokalitách Ranč, Valtířov a Novosedly, vyšší obsahy mobilního Cd na lokalitách Novosedly, Jindřichovka, Ranč a Pila.

## 5.2 Celkový obsah RP ve včelách a včelích produktech

Hodnoty obsahu RP ve včelách a pylu jsou vztaženy na sušinu, ve vzorcích medu a vosku jsou vztaženy na čerstvou hmotu.

### 5.2.1 Včely živé

Tabulka 5 informuje o celkovém obsahu jednotlivých RP stanovených ve vzorcích živých včel podle lokality včelínu. Nejvyšší obsahy (průměr z devíti lokalit) byly zaznamenány pro výrazně biogenní stopové prvky Zn (101 µg/g) a Cu (24,0 µg/g). Pro tyto dva prvky byly vypočteny také nejnižší hodnoty variačního koeficientu, a to shodně 29 %, což dokumentuje relativně stabilní zastoupení těchto prvků ve včele neohledě na lokalitu. Průměrné obsahy dalších RP byly v pořadí: Ni > Cd > Pb > As ~ Cr > Tl. Průměrné obsahy těchto prvků byly nižší než 1,0 µg/g, obsahy As, Cr a Tl byly nižší než 0,05 µg/g. Variabilita obsahu stopových množství RP ve včelách je značná, hodnoty variačního koeficientu pro Cr, Ni, Cd a Tl byly vyšší než 85 %. Obsahy jednotlivých RP ve včelách na jednotlivých stanovištích tak nabývají různá lokální maxima a minima (Tabulka 5).

### 5.2.2 Včely mrtvé

Tabulka 6 zobrazuje výsledky stanovení obsahu jednotlivých RP ve vzorcích uhynulých včel podle lokality včelínu. Shodně se živými včelami byly nejvyšší obsahy zjištěny u Zn (123 µg/g) a Cu (24,9 µg/g). V porovnání se živými včelami byla pozorována nižší variabilita obsahů mezi jednotlivými lokalitami pro většinu RP. Průměrné obsahy dalších RP sledovaly toto pořadí: Ni ~ Cd ~ Cr > Pb > As > Tl. Pro uhynulé včely si lze povšimnout trendu zvýšení obsahu Cr, Zn, As, Cd, Tl a Pb v porovnání se včelami živými. Naopak pokles byl pozorován u Ni. Tyto změny však nedosahují statistické významnosti vlivem vysoké variability dat.

### 5.2.3 Med

Tabulka 7 uvádí celkové obsahy jednotlivých RP ve vzorcích medu dle lokality příslušných včelínů. Nejvyšší průměrné obsahy byly naměřeny pro Zn (0,64 µg/g) a Cu (0,56 µg/g). Průměrný obsah všech ostatních RP byl nižší než 0,05 µg/g, a to v pořadí dle zastoupení: Ni > Pb > Cr > Cd ~ Tl > As. Průměrné obsahy velmi toxického Pb, Cd a As byly pouze 0,032 µg/g, 0,001 µg/g a 0,0007 µg/g. Nejvyšší lokální extrém byl zaznamenán na stanovišti Ranč, kde vzorky medu vykazovaly zvýšené obsahy Pb (0,170 ± 0,035 µg/g). Pro obsahy Cu a Pb byly zjištěny velmi vysoké hodnoty variačních koeficientů (169 a 171 %), upozorňující na značný vliv lokality na obsah těchto RP v medu. Naopak variabilita obsahů Cr, Ni a As mezi lokalitami byla nízká a vyrovnaná (37 – 38 %).

#### 5.2.4 Vosk

Tabulka 8 informuje o celkovém obsahu jednotlivých RP stanovených ve vzorcích vosku dle lokality včelínu. Nejvyšší průměrné obsahy byly zaznamenány pro Zn (7,12 µg/g) a Cu (0,84 µg/g). Pořadí dalších RP dle obsahu ve vosku bylo následující: Ni > Pb ~ Cr > As > Cd > Tl. V porovnání s medem došlo k nápadné změně v pořadí pro As, jehož relativní význam dle zastoupení se významně zvýšil. V porovnání s medem je vosk výrazně více kontaminovanou maticí RP, s výjimkou Tl. Variabilita obsahů RP mezi vosky z různých stanovišť je dle hodnot variačních koeficientů velmi vysoká (61 – 100 %). Ve vosku z několika lokalit byly stanoveny relativně vyšší obsahy Pb (Valtířov, Ranč a Mýtнице) s průměrnými hodnotami 0,216 – 0,262 µg/g.

#### 5.2.5 Pyl

Tabulka 9 prezentuje výsledky analýzy obsahu RP ve vzorcích plástvového pylu na jednotlivých lokalitách včelstev. Nejvyšší průměrné obsahy byly opět zaznamenány pro Zn (42,8 µg/g) a Cu (9,58 µg/g). Pořadí dalších RP dle obsahu v pylu bylo následující: Ni > Cd > Cr ~ Pb > Tl > As. V porovnání s ostatními typy vzorků došlo k výrazné změně pořadí pro Cd, jehož obsah v pylu předčil ostatní silně toxické RP. Variabilita obsahů RP mezi vzorky pylu z různých lokalit je dle hodnot variačních koeficientů nižší, Zn (6 %), Cu (20 %), Cr, Pb a As (28 - 31 %). Nebylo možné identifikovat žádné stanoviště s významně zvýšeným obsahem Pb v pylu. Na několika lokalitách však byly stanoveny relativně vyšší obsahy Cd (Jindřichovka, Pila a Mýtнице) s průměrnými hodnotami 0,141 – 0,210 µg/g a vyšší obsah Tl (Novosedly) 0,133 µg/g.

#### 5.2.6 Transfer faktory rizikových prvků

Vyšší hodnoty transfer faktoru (TF) vyjadřují vyšší účinnost transferu daného RP mezi definovanou dvojicí vzorků. Hodnoty TF, nehledě na konkrétní RP a typ vzorků, se pohybovaly v širokých mezích od < 0,01 do 271 (Tabulka 10). Nejnižší hodnoty TF byly zaznamenány pro dvojici včely živé → med (< 0,01 až 0,43), nejvyšší hodnoty TF pro dvojici půda → pyl (0,85 až 271). Identifikace obecně nejvíce mobilního RP v systému půda-rostlina-včela-včelí produkty je obtížná, neboť hodnoty TF v závislosti na posuzované dvojici typů vzorků velmi kolísají (Tabulka 10).

*Tabulka 2 Vyluhovatelné množství rizikových prvků v půdách experimentálních stanovišť pomocí činidla Mehlich III.*

	Cr		Ni		Cu		Zn		As		Cd		Tl		Pb	
	μg/g															
stanoviště	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$
<b>SP</b>	0,158	0,068	0,74	0,31	1,836	0,609	2,14	0,53	0,118	0,073	0,0573	0,0247	0,0064	0,0016	2,313	0,942
<b>B</b>	0,244	0,030	0,47	0,05	1,687	0,524	2,19	0,80	0,045	0,024	0,0726	0,0225	0,0156	0,0028	5,568	1,406
<b>V</b>	0,194	0,027	0,52	0,24	1,131	0,150	2,89	0,68	0,066	0,011	0,0869	0,0176	0,0207	0,0037	7,500	1,869
<b>J</b>	0,100	0,018	0,62	0,32	1,522	0,153	2,87	0,65	0,027	0,011	0,1420	0,0260	0,0191	0,0026	6,477	0,841
<b>P</b>	0,185	0,031	0,55	0,04	1,872	0,441	3,54	0,96	0,017	0,010	0,1081	0,0177	0,0161	0,0022	5,271	0,955
<b>R</b>	0,141	0,010	0,44	0,08	2,616	0,965	5,91	2,06	0,055	0,016	0,1215	0,0232	0,0190	0,0107	11,860	1,285
<b>N</b>	0,128	0,019	0,93	0,34	2,426	0,157	6,18	1,50	0,028	0,005	0,1744	0,0710	0,0204	0,0021	7,239	0,944
<b>SZ</b>	0,164	0,038	0,51	0,26	1,588	0,414	2,26	1,18	0,090	0,058	0,0783	0,0362	0,0138	0,0056	5,053	2,579
<b>M</b>	0,083	0,016	0,34	0,21	0,970	0,172	43,21	11,18	0,065	0,024	0,0753	0,0249	0,0118	0,0052	3,662	1,002
	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V
<b>všechna stanoviště</b>	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%
	0,155	32	0,57	31	1,739	31	7,91	168	0,057	57	0,1018	37	0,016	29	6,105	44

$\bar{x}$  značí aritmetický průměr;  $\sigma$  je směrodatná odchylka; V je koeficient variace



*Tabulka 3 Vyluhovatelné množství rizikových prvků v půdách experimentálních stanovišť roztokem 0,01 mol/l CaCl<sub>2</sub>.*

	<b>Cr</b>		<b>Ni</b>		<b>Cu</b>		<b>Zn</b>		<b>As</b>		<b>Cd</b>		<b>Tl</b>		<b>Pb</b>	
	μg/g															
<b>stanoviště</b>	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$
<b>SP</b>	0,019	0,009	0,11	0,07	0,045	0,024	0,47	0,19	0,008	0,005	0,0155	0,0075	0,0005	0,0004	0,012	0,005
<b>B</b>	0,014	0,007	0,21	0,07	0,029	0,017	0,96	0,38	0,003	0,002	0,0536	0,0106	0,0012	0,0006	0,044	0,038
<b>V</b>	0,010	0,008	0,14	0,11	0,027	0,015	1,17	0,40	0,006	0,003	0,0430	0,0208	0,0021	0,0013	0,117	0,014
<b>J</b>	0,012	0,001	0,11	0,04	0,018	0,003	0,67	0,20	0,003	0,001	0,0715	0,0088	0,0011	0,0001	0,027	0,004
<b>P</b>	0,009	0,002	0,18	0,10	0,024	0,003	1,13	0,82	0,003	0,001	0,0561	0,0226	0,0008	0,0002	0,016	0,007
<b>R</b>	0,007	0,004	0,13	0,04	0,094	0,016	1,00	0,38	0,005	0,002	0,0473	0,0414	0,0012	0,0011	0,199	0,110
<b>N</b>	0,003	0,001	0,38	0,15	0,038	0,013	3,12	0,50	0,004	0,001	0,1202	0,0425	0,0014	0,0003	0,042	0,008
<b>SZ</b>	0,008	0,004	0,12	0,03	0,029	0,015	0,72	0,12	0,005	0,004	0,0309	0,0043	0,0003	0,0003	0,035	0,006
<b>M</b>	0,006	0,002	0,06	0,03	0,015	0,004	5,47	2,48	0,003	0,000	0,0359	0,0235	0,0008	0,0004	0,014	0,010
	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V
<b>všechna stanoviště</b>	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%
	0,010	48	0,16	59	0,035	67	1,63	100	0,005	37	0,0527	57	0,0010	51	0,056	111

$\bar{x}$  značí aritmetický průměr;  $\sigma$  je směrodatná odchylka; V je koeficient variace

*Tabulka 4 Vyluhovatelné množství rizikových prvků v půdách experimentálních stanovišť roztokem 0,11 mol/l kyseliny octové.*

	<b>Cr</b>		<b>Ni</b>		<b>Cu</b>		<b>Zn</b>		<b>As</b>		<b>Cd</b>		<b>Tl</b>		<b>Pb</b>	
	μg/g															
<b>stanoviště</b>	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$
<b>SP</b>	0,051	0,016	0,44	0,20	0,223	0,149	2,27	0,72	0,024	0,013	0,0478	0,0134	0,0015	0,0006	0,115	0,034
<b>B</b>	0,129	0,011	0,37	0,06	0,225	0,056	2,74	0,78	0,011	0,003	0,0724	0,0200	0,0029	0,0010	0,299	0,057
<b>V</b>	0,088	0,020	0,35	0,07	0,086	0,032	2,93	1,37	0,018	0,007	0,0734	0,0044	0,0049	0,0018	0,418	0,262
<b>J</b>	0,052	0,004	0,30	0,03	0,086	0,024	3,39	0,54	0,010	0,002	0,1094	0,0090	0,0032	0,0004	0,185	0,020
<b>P</b>	0,078	0,025	0,44	0,07	0,142	0,038	3,54	1,05	0,009	0,002	0,0917	0,0081	0,0024	0,0004	0,185	0,054
<b>R</b>	0,060	0,021	0,28	0,09	0,412	0,158	4,97	2,35	0,016	0,001	0,0932	0,0120	0,0033	0,0019	0,720	0,326
<b>N</b>	0,069	0,015	0,73	0,35	0,261	0,074	7,09	2,05	0,012	0,001	0,1623	0,0720	0,0035	0,0007	0,378	0,119
<b>SZ</b>	0,055	0,013	0,30	0,16	0,093	0,068	1,74	1,44	0,017	0,012	0,0542	0,0276	0,0014	0,0002	0,167	0,128
<b>M</b>	0,035	0,014	0,20	0,03	0,041	0,010	43,54	18,09	0,016	0,004	0,0603	0,0170	0,0026	0,0008	0,115	0,030
	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V
<b>všechna stanoviště</b>	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%
	0,069	40	0,38	41	0,174	67	8,02	167	0,015	31	0,0850	41	0,0029	37	0,287	68

$\bar{x}$  značí aritmetický průměr;  $\sigma$  je směrodatná odchylka; V je koeficient variace

*Tabulka 5 Celkové obsahy rizikových prvků ve vzorcích živých včel z jednotlivých stanovišť.*

	Cr		Ni		Cu		Zn		As		Cd		Tl		Pb	
	μg/g															
stanoviště	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$
<b>SP</b>	0,036	0,012	3,80	2,08	20,68	1,45	69,90	0,70	0,026	0,010	0,1017	0,0268	0,0005	0,0000	0,055	0,004
<b>B</b>	0,065	0,010	2,19	0,08	34,39	0,16	112,69	4,14	0,046	0,002	0,2166	0,0451	0,0035	0,0023	0,081	0,007
<b>V</b>	0,082	0,049	0,17	0,02	16,07	2,31	65,63	7,96	0,043	0,003	0,2403	0,0854	0,0022	0,0009	0,113	0,027
<b>J</b>	0,043	0,008	0,12	0,01	25,58	4,34	112,27	9,58	0,010	0,005	0,0322	0,0233	0,0107	0,0022	0,067	0,035
<b>P</b>	0,021	0,003	0,60	0,01	13,38	1,61	58,63	7,26	0,015	0,004	0,4332	0,1324	0,0000	0,0000	0,046	0,009
<b>R</b>	0,024	0,005	0,28	0,13	20,01	5,30	103,39	5,91	0,060	0,011	0,8832	0,2610	0,0035	0,0005	0,140	0,015
<b>N</b>	0,004	0,004	0,37	0,21	29,31	0,45	125,00	8,23	0,027	0,005	0,1110	0,0254	0,0068	0,0011	0,053	0,006
<b>SZ</b>	0,003	0,003	1,07	0,34	26,47	5,39	124,64	15,70	0,022	0,009	0,1876	0,0357	0,0031	0,0003	0,066	0,027
<b>M</b>	0,005	0,002	0,12	0,07	30,41	2,10	136,19	8,79	0,043	0,018	0,0842	0,0169	0,0007	0,0003	0,057	0,023
	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V
<b>všechna stanoviště</b>	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%
	0,031	89	0,97	129	24,03	29	100,93	29	0,032	51	0,2545	104	0,0035	100	0,075	42

$\bar{x}$  značí aritmetický průměr;  $\sigma$  je směrodatná odchylka; V je koeficient variace

*Tabulka 6 Celkové obsahy rizikových prvků ve vzorcích uhynulých včel z jednotlivých stanovišť.*

	Cr		Ni		Cu		Zn		As		Cd		Tl		Pb	
	μg/g															
stanoviště	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$
<b>SP</b>	0,042	0,001	0,64	0,17	26,73	3,03	115,03	6,13	0,048	0,020	0,1001	0,0098	0,0014	0,0010	0,064	0,027
<b>B</b>	0,325	0,304	0,78	0,12	28,31	0,50	139,62	44,34	0,102	0,026	0,7598	0,2302	0,0051	0,0019	0,273	0,013
<b>V</b>	0,240	0,034	0,34	0,09	23,00	0,14	141,00	5,97	0,181	0,004	0,9184	0,1925	0,0095	0,0032	0,535	0,033
<b>J</b>	0,344	0,293	0,58	0,18	29,52	3,48	131,76	7,39	0,075	0,025	0,4051	0,0725	0,0106	0,0038	0,312	0,136
<b>P</b>	0,173	0,033	0,33	0,09	19,97	3,02	102,88	5,19	0,055	0,018	0,7589	0,4264	0,0006	0,0004	0,169	0,024
<b>R</b>	4,395	1,743	2,09	0,42	23,25	5,99	111,61	15,28	0,086	0,032	0,8030	0,3000	0,0046	0,0001	0,316	0,053
<b>N</b>	0,096	0,018	0,58	0,12	29,29	4,55	140,57	22,20	0,065	0,028	1,4635	0,4322	0,0093	0,0038	0,173	0,029
<b>SZ</b>	0,166	0,015	0,40	0,06	27,11	0,22	133,44	1,54	0,064	0,012	0,3970	0,0907	0,0051	0,0001	0,401	0,066
<b>M</b>	0,261	0,145	0,36	0,01	17,34	2,54	92,71	23,38	0,071	0,004	0,4594	0,1831	0,0069	0,0006	0,370	0,181
	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V
<b>všechna stanoviště</b>	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%
	0,671	209	0,68	81	24,95	17	123,18	15	0,083	48	0,6739	58	0,0059	59	0,291	49

$\bar{x}$  značí aritmetický průměr;  $\sigma$  je směrodatná odchylka; V je koeficient variace

*Tabulka 7 Celkové obsahy rizikových prvků ve vzorcích medu z jednotlivých stanovišť.*

	<b>Cr</b>		<b>Ni</b>		<b>Cu</b>		<b>Zn</b>		<b>As</b>		<b>Cd</b>		<b>Tl</b>		<b>Pb</b>	
	$\mu\text{g/g}$															
<b>stanoviště</b>	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$
<b>SP</b>	0,010	0,003	0,05	0,02	0,422	0,057	0,73	0,32	0,001	0,000	0,0023	0,0002	0,0001	0,0000	0,007	0,002
<b>B</b>	0,013	0,007	0,04	0,03	0,092	0,005	0,26	0,02	0,000	0,000	0,0004	0,0001	0,0009	0,0001	0,007	0,002
<b>V</b>	0,015	0,009	0,03	0,01	0,185	0,010	0,43	0,03	0,001	0,000	0,0012	0,0001	0,0010	0,0001	0,004	0,003
<b>J</b>	0,007	0,001	0,08	0,04	0,275	0,104	0,82	0,26	0,001	0,000	0,0015	0,0003	0,0019	0,0002	0,053	0,014
<b>P</b>	0,005	0,001	0,05	0,01	0,536	0,188	0,68	0,10	0,001	0,000	0,0011	0,0003	0,0008	0,0000	0,020	0,012
<b>R</b>	0,008	0,002	0,08	0,02	3,078	0,428	1,54	0,60	0,001	0,000	0,0016	0,0002	0,0019	0,0001	0,170	0,035
<b>N</b>	0,009	0,002	0,03	0,01	0,125	0,006	0,44	0,10	0,000	0,000	0,0007	0,0001	0,0014	0,0001	0,022	0,001
<b>SZ</b>	0,011	0,006	0,05	0,01	0,182	0,005	0,52	0,01	0,001	0,000	0,0014	0,0001	0,0020	0,0000	0,003	0,000
<b>M</b>	0,005	0,001	0,03	0,00	0,128	0,017	0,37	0,02	0,001	0,000	0,0006	0,0002	0,0002	0,0000	0,003	0,001
	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V
<b>všechna stanoviště</b>	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%
	0,009	38	0,05	38	0,558	171	0,64	59	0,001	37	0,0012	50	0,0011	63	0,032	169

$\bar{x}$  značí aritmetický průměr;  $\sigma$  je směrodatná odchylka; V je koeficient variace

Tabulka 8 Celkové obsahy rizikových prvků ve vzorcích vosku z jednotlivých stanovišť.

stanoviště	Cr		Ni		Cu		Zn		As		Cd		Tl		Pb	
	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$
	$\mu\text{g/g}$															
<b>SP</b>	0,020	0,008	0,68	0,16	0,533	0,255	3,15	0,60	0,010	0,006	0,0030	0,0014	0,0002	0,0000	0,064	0,001
<b>B</b>	0,017	0,007	0,05	0,04	0,326	0,110	2,49	0,70	0,009	0,002	0,0024	0,0006	0,0003	0,0002	0,041	0,018
<b>V</b>	0,287	0,042	0,13	0,05	0,711	0,019	8,71	3,88	0,015	0,007	0,0059	0,0019	0,0008	0,0003	0,262	0,034
<b>J</b>	0,090	0,051	0,10	0,02	0,307	0,011	6,86	2,02	0,027	0,005	0,0095	0,0017	0,0008	0,0005	0,107	0,018
<b>P</b>	0,235	0,047	0,82	0,13	0,872	0,342	9,67	3,22	0,010	0,001	0,0095	0,0019	0,0010	0,0000	0,144	0,020
<b>R</b>	0,116	0,004	0,45	0,34	2,711	1,772	16,67	5,90	0,018	0,007	0,0210	0,0095	0,0029	0,0005	0,216	0,072
<b>N</b>	0,206	0,048	0,09	0,05	0,283	0,085	2,57	1,16	0,014	0,004	0,0052	0,0014	0,0004	0,0004	0,107	0,012
<b>SZ</b>	0,019	0,011	0,10	0,03	0,215	0,074	2,32	0,33	0,036	0,015	0,0033	0,0003	0,0001	0,0001	0,053	0,012
<b>M</b>	0,094	0,026	0,44	0,03	1,597	0,135	11,69	3,97	0,051	0,037	0,0143	0,0022	0,0022	0,0003	0,241	0,145
	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V
<b>všechna stanoviště</b>	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%
	0,120	84	0,32	91	0,839	98	7,12	71	0,021	68	0,0082	75	0,0010	100	0,137	61

$\bar{x}$  značí aritmetický průměr;  $\sigma$  je směrodatná odchylka; V je koeficient variace

*Tabuľka 9 Celkové obsahy rizikových prvků ve vzorcích plástvového pylu z jednotlivých stanovišť.*

	Cr		Ni		Cu		Zn		As		Cd		Tl		Pb	
	μg/g															
stanovišť	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$
<b>SP</b>	0,048	0,009	2,45	0,68	10,42	1,77	39,91	4,50	0,009	0,000	0,0761	0,0076	0,0015	0,0003	0,035	0,002
<b>B</b>	0,075	0,039	1,49	0,48	11,16	1,77	43,46	2,05	0,009	0,004	0,0829	0,0331	0,0005	0,0001	0,044	0,018
<b>V</b>	0,055	0,008	1,10	0,16	9,92	1,44	40,07	2,86	0,008	0,005	0,0300	0,0065	0,0097	0,0022	0,061	0,024
<b>J</b>	0,097	0,048	0,92	0,25	9,32	1,05	46,32	0,94	0,014	0,007	0,1413	0,0740	0,0176	0,0031	0,068	0,028
<b>P</b>	0,093	0,005	1,90	0,36	12,79	0,81	44,84	0,99	0,008	0,002	0,1616	0,0267	0,0006	0,0003	0,045	0,016
<b>R</b>	0,068	0,020	1,08	0,29	9,72	0,19	41,28	5,56	0,006	0,001	0,0666	0,0234	0,0075	0,0018	0,049	0,017
<b>N</b>	0,051	0,031	0,76	0,09	6,14	0,05	44,64	4,95	0,007	0,005	0,0913	0,0252	0,1325	0,0378	0,063	0,047
<b>SZ</b>	0,067	0,037	0,44	0,04	8,40	0,17	40,65	1,14	0,005	0,004	0,0646	0,0087	0,0031	0,0013	0,034	0,013
<b>M</b>	0,043	0,013	1,13	0,35	8,35	1,16	44,47	3,47	0,007	0,002	0,2095	0,0214	0,0034	0,0012	0,031	0,004
	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V	$\bar{x}$	V
<b>všetchna stanovišť</b>	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%	μg/g	%
	0,066	29	1,25	49	9,582	20	42,85	6	0,008	31	0,1027	55	0,0196	218	0,048	28

$\bar{x}$  značí aritmetický průměr;  $\sigma$  je směrodatná odchylka; V je koeficient variace

Tabulka 10 Hodnoty transfer faktorů rizikových prvků pro vybrané dvojice vzorků.

Transfer faktor	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Tl	Pb
půda* → pyl	6,71	7,84	270,6	26,22	1,79	1,95	19,01	0,85
pyl → včela ž.	0,47	0,78	2,51	2,36	4,01	2,48	0,18	1,57
pyl → med	0,14	0,04	0,06	0,02	0,09	0,01	0,06	0,67
pyl → vosk	1,81	0,25	0,09	0,17	2,62	0,08	0,05	2,85
včela ž. → včela u.	21,35	0,70	1,04	1,22	2,56	2,65	1,71	3,85
včela ž. → med	0,29	0,05	0,02	0,01	0,02	0,00	0,33	0,43
včela ž. → vosk	3,83	0,33	0,03	0,07	0,65	0,03	0,28	1,82

\* vyluhovatelné množství rizikových prvků v 0,01 mol/l CaCl<sub>2</sub>

### 5.3 Korelace mezi obsahy RP stanovenými různými typy vzorků

#### 5.3.1 Arsen (As)

Na souboru půd z devíti experimentálních lokalit byla nalezena statisticky významná velmi silná pozitivní korelace ( $r = 0,947$ ) mezi hodnotami množství As vyluhovaného z půd pomocí činidla Mehlich III a roztoku 0,11 mol/l CH<sub>3</sub>COOH (Tabulka 11). Velmi silná pozitivní korelace ( $r = 0,903$ ) byla zaznamenána rovněž mezi výsledky výluhových testů půd pomocí roztoku CH<sub>3</sub>COOH a 0,01 mol/l CaCl<sub>2</sub>. Středně silná pozitivní korelace ( $r = 0,463$ ) byla prokázána mezi celkovými obsahy As ve vzorcích živých a uhynulých včel. Obsahy As ve vzorcích živých včel a pylu byly negativně korelovány ( $r = -0,463$ ), což vyjadřuje vztah, kdy vyšší obsahy As v pylu nezpůsobily vyšší kontaminaci včelího těla, naopak, kontaminace živé včely měla překvapivě klesající tendenci.

Tabulka 11 Korelace mezi obsahy As v různých typech vzorků, které byly odebrány na pokusných lokalitách (vyjádřeny pomocí korelačních koeficientů).

	kys. octová	CaCl <sub>2</sub>	Mehlich III	včela ž.	včela m.	pyl	med	vosk
kys. octová	1	0,903*	0,947*	0,272	0,077	-0,314	0,390	0,083
CaCl <sub>2</sub>	0,903*	1	0,813*	0,124	0,124	-0,208	0,308	-0,288
Mehlich III	0,947*	0,813*	1	0,177	-0,031	-0,306	0,354	0,167
včela ž.	0,272	0,124	0,177	1	0,463	-0,463	-0,140	0,009
včela m.	0,077	0,124	-0,031	0,463	1	0,021	-0,007	-0,152
pyl	-0,314	-0,208	-0,306	-0,463	0,021	1	0,024	-0,167
med	0,390	0,308	0,354	-0,140	-0,007	0,024	1	0,380
vosk	0,083	-0,288	0,167	0,009	-0,152	-0,167	0,380	1

\* statisticky významná korelace ( $p < 0,05$ )

#### 5.3.2 Kadmium

Množství Cd vyluhovaného z půd pomocí roztoku CaCl<sub>2</sub> velmi silně pozitivně ( $r = 0,974$ ) korelovalo s množstvím Cd uvolněného pomocí roztoku CH<sub>3</sub>COOH (Tabulka 12). Velmi silné pozitivní korelace ( $r = 0,966$ ) byly zaznamenány rovněž mezi výsledky výluhových testů půd pomocí činidla Mehlich III a roztoku CH<sub>3</sub>COOH ( $r = 0,966$ ) a pomocí činidla Mehlich III a roztoku CaCl<sub>2</sub> (0,908). Těsná lineární závislost ( $r = 0,811$ ) byla nalezena mezi hodnotami



Cd(CaCl<sub>2</sub>) z půdy a celkovými obsahy Cd ve vzorcích mrtvých včel. Středně silná korelace ( $r = 0,676$ ) byla zjištěna také mezi obsahem Cd v mrtvé včele a hodnotami Cd(Mehlich III). Obsahy Cd v živých včelách a vosku byly středně silně pozitivně korelovány ( $r = 0,674$ ). Naopak středně silnou negativní korelaci ( $r = -0,573$ ) mezi sebou vykazovaly obsahy Cd v uhynulých včelách a medu. Mezi množstvím mobilního Cd v půdě, vyjádřeným hodnotou Cd(CaCl<sub>2</sub>), a obsahem Cd v medu byla zjištěna středně silná negativní korelace ( $r = -0,472$ ).

**Tabulka 12** Korelace mezi obsahy Cd v různých typech vzorků, které byly odebrány na pokusných lokalitách (vyjádřeny pomocí korelačních koeficientů).

	kys. octová	CaCl <sub>2</sub>	Mehlich III	včela ž.	včela m.	pyl	med	vosk
<b>kys. octová</b>	<b>1</b>	0,974*	0,966*	0,033	0,788*	0,049	-0,308	0,119
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	0,974*	<b>1</b>	0,908*	-0,104	0,811*	0,078	-0,472	-0,019
<b>Mehlich III</b>	0,966*	0,908*	<b>1</b>	0,104	0,676*	0,075	-0,175	0,257
<b>včela ž.</b>	0,033	-0,104	0,104	<b>1</b>	0,216	-0,242	0,153	0,674*
<b>včela m.</b>	0,788*	0,811*	0,676*	0,216	<b>1</b>	-0,200	-0,573	0,052
<b>pyl</b>	0,049	0,078	0,075	-0,242	-0,200	<b>1</b>	-0,331	0,343
<b>med</b>	-0,308	-0,472	-0,175	0,153	-0,573	-0,331	<b>1</b>	0,040
<b>vosk</b>	0,119	-0,019	0,257	0,674	0,052	0,343	0,040	<b>1</b>

\* statisticky významná korelace ( $p < 0,05$ )

### 5.3.3 Chrom (Cr)

Množství Cr vyluhovaného z půd pomocí činidla Mehlich III velmi silně pozitivně ( $r = 0,887$ ) korelovalo s množstvím Cr uvolněného pomocí roztoku CH<sub>3</sub>COOH (Tabulka 13). Středně těsná pozitivní korelace ( $r = 0,676$ ) se projevila mezi obsahem Cr v medu a živých včelách a také mezi půdním výluhem Cr(Mehlich III) a obsahem Cr v medu ( $r = 0,667$ ). Dále byla nalezena řada středně silných pozitivních korelací, jmenovitě mezi Cr(CH<sub>3</sub>COOH) a obsahem Cr v živých včelách ( $r = 0,642$ ), mezi Cr(CH<sub>3</sub>COOH) a obsahem Cr v medu ( $r = 0,599$ ), mezi Cr(Mehlich III) a obsahem Cr v živých včelách ( $r = 0,589$ ), mezi Cr(CaCl<sub>2</sub>) a obsahem Cr v živých včelách ( $r = 0,553$ ). Negativní středně silná korelace ( $r = -0,464$ ) byla zjištěna mezi Cr(CaCl<sub>2</sub>) a obsahem Cr ve vosku.

**Tabulka 13** Korelace mezi obsahy Cr v různých typech vzorků, které byly odebrány na pokusných lokalitách (vyjádřeny pomocí korelačních koeficientů).

	kys. octová	CaCl <sub>2</sub>	Mehlich III	včela ž.	včela m.	pyl	med	vosk
<b>kys. octová</b>	<b>1</b>	0,215	0,887*	0,642	-0,094	0,264	0,599	0,120
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	0,215	<b>1</b>	0,397	0,553	-0,220	0,135	0,312	-0,464
<b>Mehlich III</b>	0,887*	0,397	<b>1</b>	0,589	-0,105	0,192	0,667	0,021
<b>včela ž.</b>	0,642	0,553	0,589	<b>1</b>	-0,069	0,166	0,676	0,187
<b>včela m.</b>	-0,094	-0,220	-0,105	-0,069	<b>1</b>	0,067	-0,132	-0,021
<b>pyl</b>	0,264	0,135	0,192	0,166	0,067	<b>1</b>	-0,240	0,026
<b>med</b>	0,599	0,312	0,667*	0,676*	-0,132	-0,240	<b>1</b>	-0,002
<b>vosk</b>	0,120	-0,464	0,021	0,187	-0,021	0,026	-0,002	<b>1</b>

\* statisticky významná korelace ( $p < 0,05$ )

### 5.3.4 Měď (Cu)

Velmi silná pozitivní korelace ( $r = 0,921$ ) byla zjištěna mezi půdním výluhem  $\text{Cu}(\text{CaCl}_2)$  a obsahem Cu v medu (Tabulka 14). Byly zaznamenány velmi silné korelace mezi množstvími Cu vyluhovanými z půd jednotlivými extrakčními činidly. Hodnoty korelačních koeficientů se mezi párovými hodnotami  $\text{Cu}(\text{CaCl}_2)$  a  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COOH})$  a  $\text{Cu}(\text{Mehlich III})$  pohybovaly v rozmezí 0,768 až 0,901. Velmi silná korelace byla zjištěna mezi obsahem Cu ve vzorcích medu a vosku ( $r = 0,847$ ). Velmi těsný lineární vztah ( $r = 0,755$ ) byl pozorován mezi půdním výluhem  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COOH})$  a obsahem Cu v medu. Středně silná pozitivní korelace byla stanovena mezi hodnotami  $\text{Cu}(\text{CaCl}_2)$  a obsahem Cu ve vosku ( $r = 0,682$ ). Středně silné negativní korelace byly odhaleny pro obsahy Cu mezi dvojicemi vzorků uhynulá včely – vosk ( $r = -0,611$ ) a živé včely – pyl ( $r = -0,506$ ).

*Tabulka 11 Korelace mezi obsahy Cu v různých typech vzorků, které byly odebrány na pokusných lokalitách (vyjádřeny pomocí korelačních koeficientů).*

	kys. octová	$\text{CaCl}_2$	Mehlich h III	včela ž.	včela m.	pyl	med	vosk
kys. octová	<b>1</b>	0,904*	0,901*	-0,042	0,247	0,003	0,755*	0,469
$\text{CaCl}_2$	0,904*	<b>1</b>	0,768*	-0,230	0,051	-0,014	0,921*	0,682*
Mehlich III	0,901*	0,768*	<b>1</b>	-0,099	0,354	-0,104	0,633	0,273
včela ž.	-0,042	-0,230	-0,099	<b>1</b>	0,379	-0,506	-0,332	-0,253
včela m.	0,247	0,051	0,354	0,379	<b>1</b>	-0,298	-0,181	-0,611
pyl	0,003	-0,014	-0,104	-0,506	-0,298	<b>1</b>	0,127	0,089
med	0,755*	0,921*	0,633	-0,332	-0,181	0,127	<b>1</b>	0,847*
vosk	0,469	0,682*	0,273	-0,253	-0,611	0,089	0,847*	<b>1</b>

\* statisticky významná korelace ( $p < 0,05$ )

### 5.3.5 Nikl (Ni)

Pro nikl byly zaznamenány velmi silné korelace mezi množstvími Ni vyluhovanými z půd jednotlivými extrakčními činidly (Tabulka 15). Hodnoty korelačních koeficientů se mezi párovými hodnotami  $\text{Ni}(\text{CaCl}_2)$  a  $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COOH})$  a  $\text{Ni}(\text{Mehlich III})$  pohybovaly v rozmezí 0,712 až 0,913. Velmi silná korelace byla zaznamenána pro dvojici vzorků pyl – vosk ( $r = 0,740$ ) a středně silné korelace mezi obsahy Ni ve dvojicích pyl – živá včela ( $r = 0,698$ ) a uhynulá včela – med ( $r = 0,616$ ).

*Tabulka Korelace mezi obsahy Ni v různých typech vzorků, které byly odebrány na pokusných lokalitách (vyjádřeny pomocí korelačních koeficientů).*

	kys. octová	CaCl <sub>2</sub>	Mehlich III	včela ž.	včela m.	pyl	med	vosk
kys. octová	<b>1</b>	0,913*	0,899*	0,151	-0,152	0,096	-0,338	-0,056
CaCl <sub>2</sub>	0,913*	<b>1</b>	0,712*	-0,064	-0,023	-0,162	-0,335	-0,299
Mehlich III	0,899*	0,712*	<b>1</b>	0,242	-0,163	0,093	-0,109	-0,092
včela ž.	0,151	-0,064	0,242	<b>1</b>	-0,031	0,698*	-0,068	0,265
včela m.	-0,152	-0,023	-0,163	-0,031	<b>1</b>	-0,034	0,616	0,078
pyl	0,096	-0,162	0,093	0,698*	-0,034	<b>1</b>	-0,023	0,740*
med	-0,338	-0,335	-0,109	-0,068	0,616	-0,023	<b>1</b>	0,131

\* statisticky významná korelace ( $p < 0,05$ )

### 5.3.6 Olovo (Pb)

Velmi silná pozitivní korelace ( $r = 0,961$ ) byla zjištěna mezi půdním výluhem Pb(CaCl<sub>2</sub>) a obsahem Pb v živých včelách (Tabulka 16). Byly zaznamenány velmi silné korelace mezi množstvími Pb vyluhovanými z půd jednotlivými extrakčními činidly. Hodnoty korelačních koeficientů se mezi párovými hodnotami Pb(CaCl<sub>2</sub>) a Pb(CH<sub>3</sub>COOH) a Pb(Mehlich III) pohybovaly v rozmezí 0,896 až 0,950. Hodnoty půdního výluhu Pb(CH<sub>3</sub>COOH) silně korelovaly ( $r = 0,786$ ) s obsahy Pb stanovenými v medu. Hodnoty Pb(CH<sub>3</sub>COOH) a obsahy Pb ve vosku byly slabě korelovány ( $r = 0,409$ ), podobně Pb(CH<sub>3</sub>COOH) a obsahy Pb v plástvovém pylu ( $r = 0,402$ ). Velmi těsný lineární vztah byl zjištěn mezi mobilním půdním obsahem Pb(CaCl<sub>2</sub>) a obsahem Pb v medu ( $r = 0,788$ ), méně těsný vztah byl mezi Pb(CaCl<sub>2</sub>) a obsahem Pb ve vosku ( $r = 0,519$ ) či v uhynulých včelách ( $r = 0,411$ ). Vzorky živých včel a medu vykazovaly poměrně silnou korelaci ( $r = 0,694$ ) v obsahu Pb. Středně silné korelace byly pozorovány mezi obsahy Pb ve dvojicích vzorků živé včely – uhynulé včely ( $r = 0,532$ ) a živé včely – vosk ( $r = 0,492$ ).

*Tabulka 12 Korelace mezi obsahy Pb v různých typech vzorků, které byly odebrány na pokusných lokalitách (vyjádřeny pomocí korelačních koeficientů).*

	kys. octová	CaCl <sub>2</sub>	Mehlich III	včela ž.	včela m.	pyl	med	vosk
kys. octová	<b>1</b>	0,950*	0,944*	0,864*	0,246	0,402	0,786*	0,409
CaCl <sub>2</sub>	0,950*	<b>1</b>	0,896*	0,961*	0,411	0,280	0,788*	0,519
Mehlich III	0,944*	0,896*	<b>1</b>	0,805*	0,333	0,538	0,826*	0,407
včela ž.	0,864*	0,961*	0,805*	<b>1</b>	0,532	0,242	0,694*	0,492
včela m.	0,246	0,411	0,333	0,532	<b>1</b>	0,153	0,006	0,547
pyl	0,402	0,280	0,538	0,242	0,153	<b>1</b>	0,239	0,151
med	0,786*	0,788*	0,826*	0,694*	0,006	0,239	<b>1</b>	0,293
vosk	0,409	0,519	0,407	0,492	0,547	0,151	0,293	<b>1</b>

\* statisticky významná korelace ( $p < 0,05$ )

### 5.3.7 Thalium (Tl)

Pro thalium byly zjištěny velmi silné korelace mezi množstvími Tl vyluhovanými z půd jednotlivými extrakčními činidly (Tabulka 17). Hodnoty korelačních koeficientů se mezi párovými hodnotami Tl(CaCl<sub>2</sub>) a Tl(CH<sub>3</sub>COOH) a Tl(Mehlich III) pohybovaly v rozmezí 0,753 až

0,985. Silná korelace pro obsah Tl byla prokázána mezi vzorky mrtvých a živých včel ( $r = 0,727$ ). Obsah Tl v uhynulých včelách koreloval středně silně s mobilním podílem Tl v půdě, např. s  $Tl(CH_3COOH)$  ( $r = 0,664$ ), a s obsahem Tl v pylu ( $r = 0,457$ ). Hodnoty  $Tl(Mehlich\ III)$  korelovaly středně silně s obsahem Tl v medu ( $r = 0,642$ ), v uhynulých včelách ( $r = 0,632$ ), v živých včelách ( $r = 0,561$ ) a v pylu ( $r = 0,433$ ). Míru lineárního vztahu mezi obsahem Pb v živých včelách a medu lze hodnotit jako středně silnou ( $r = 0,667$ ), podobně pro dvojici živé včely – pyl ( $0,465$ ).

**Tabulka 13** Korelace mezi obsahy Tl v různých typech vzorků, které byly odebrány na pokusných lokalitách (vyjádřeny pomocí korelačních koeficientů).

	kys. octová	CaCl <sub>2</sub>	Mehlich III	včela ž.	včela m.	pyl	med	vosk
kys. octová	<b>1</b>	0,985*	0,802*	0,304	0,664	0,293	0,167	0,247
CaCl <sub>2</sub>	0,985*	<b>1</b>	0,753*	0,252	0,604	0,305	0,100	0,137
Mehlich III	0,802*	0,753*	<b>1</b>	0,561	0,632	0,433	0,642	0,177
včela ž.	0,304	0,252	0,561	<b>1</b>	0,727*	0,465	0,667*	-0,143
včela m.	0,664	0,604	0,632	0,727*	<b>1</b>	0,457	0,397	-0,003
pyl	0,293	0,305	0,433	0,465	0,457	<b>1</b>	0,208	-0,198
med	0,167	0,100	0,642	0,667*	0,397	0,208	<b>1</b>	0,047
vosk	0,247	0,137	0,177	-0,143	-0,003	-0,198	0,047	<b>1</b>

\* statisticky významná korelace ( $p < 0,05$ )

### 5.3.8 Zinek (Zn)

Pro zinek byly vypočteny velmi silné korelace mezi množstvími Zn vyluhovanými z půd jednotlivými extrakčními činidly (Tabulka 18). Hodnoty korelačních koeficientů se mezi párovými hodnotami  $Zn(CaCl_2)$  a  $Zn(CH_3COOH)$  a  $Zn(Mehlich\ III)$  pohybovaly v rozmezí 0,914 až 0,999. Středně silný korelační vztah ( $r = 0,649$ ) byl zjištěn pro obsahy Zn v medu a vosku. Obsah Zn v živých včelách koreloval středně silně s mobilním obsahem Zn v půdě, např. s  $Tl(CaCl_2)$  ( $r = 0,538$ ). U zinku se vyskytl nejvyšší počet negativních korelací ze všech sledovaných prvků, např. pro dvojice  $Zn(CH_3COOH)$  a mrtvé včely ( $r = -0,623$ ), obsah Zn ve vosku a v mrtvých včelách ( $r = -0,616$ ).

**Tabulka 14** Korelace mezi obsahy Zn v různých typech vzorků, které byly odebrány na pokusných lokalitách (vyjádřeny pomocí korelačních koeficientů).

	kys. octová	CaCl <sub>2</sub>	Mehlich III	včela ž.	včela m.	pyl	med	vosk
kys. octová	<b>1</b>	0,923*	0,999*	0,487	-0,623	0,301	-0,240	0,364
CaCl <sub>2</sub>	0,923*	<b>1</b>	0,914*	0,538	-0,428	0,378	-0,348	0,229
Mehlich III	0,999*	0,914*	<b>1</b>	0,482	-0,640	0,278	-0,213	0,390
včela ž.	0,487	0,538	0,482	<b>1</b>	0,080	0,354	-0,164	-0,118
včela m.	-0,623	-0,428	-0,640	0,080	<b>1</b>	-0,141	-0,306	-0,616
pyl	0,301	0,378	0,278	0,354	-0,141	<b>1</b>	-0,157	0,036
med	-0,240	-0,348	-0,213	-0,164	-0,306	-0,157	<b>1</b>	0,649
vosk	0,364	0,229	0,390	-0,118	-0,616	0,036	0,649	<b>1</b>

\* statisticky významná korelace ( $p < 0,05$ )

## 6 Diskuze

Předpokladem hodnocení transportu RP v systému půda-rostlina-včela-včelí produkty je stanovení obsahu sledovaných RP v jednotlivých vzorcích tohoto systému. Transport RP lze posuzovat zvláště pro jednotlivé experimentální lokality ( $n = 9$ ) a zvláště pro jednotlivé RP ( $n = 8$ ). Dílčí data následně umožňují nalezení a zobecnění význačných trendů a závislostí. Prvním krokem je kvantifikace, přesněji vyjádřeno odhad, množství rizikových prvků, která jsou v půdě mobilní, a tudíž potenciálně biodostupná. Právě tyto podíly RP představují prvotní riziko přestupu z půdy až do konečného článku uvažovaného řetězce, např. do včelího medu.

### 6.1 Mobilita a dostupnost RP v půdách

Extrakce půd definovaným činidlem za předepsaných podmínek a následné stanovení prvků ve vzniklém výluhu je základním nástrojem hodnocení půd z hlediska mobility a dostupnosti RP. Podle očekávání ve většině případů extrakční účinnost RP sledovala trend Mehlich III  $> 0,11$  mol/l  $\text{CH}_3\text{COOH} > 0,01$  mol/l  $\text{CaCl}_2$  (Tabulka 2 - 4). Metoda Mehlich III je široce využívána pro praktické hodnocení zásobenosti půd živinami, a to prostřednictvím stanovení přístupných živin v půdě (Penn et al. 2018). Objevily se však i pokusy pro využití metody Mehlich III pro hodnocení půdní dostupnosti RP rostlinám. V přímém porovnání s jinými extraktanty však toto činidlo zpravidla vykazovalo nižší schopnost predikce biodostupnosti RP (Pinto et al. 2015). Složení činidla Mehlich III vysvětluje jeho značnou vyluhovací sílu, je kyselé (obsahuje  $\text{HNO}_3$  a  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{pH} = 2,5$ ), aktivuje výměnu kationtů ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), dalším módem rozpouštění je komplexační účinek (EDTA) a rozpouštění půdních minerálů hliníku komplexací s fluoridovým aniontem (Penn et al. 2018). Vztah vyluhovací síly Mehlich III  $> 0,11$  mol/l  $\text{CH}_3\text{COOH}$  pro RP (Tabulka 2 a 4) je zřejmý, roztok dle Mehlicha má vyšší koncentraci kyseliny octové a obsahuje další zmíněné komponenty. Vyluhování půd zředěným roztokem  $\text{CH}_3\text{COOH}$  je respektovaná metoda pro odhad podílu RP dostupného rostlinám. Byla navržena jako první extrakční krok v rámci uznávané BCR (Community Bureau of Reference) sekvenční extrakce, který uvolňuje výměnný podíl RP a podíl rozpustný v kyselinách (Rauret et al. 2000). Při extrakci našich půd neutrálním roztokem soli ( $0,01$  mol/l  $\text{CaCl}_2$ ) bylo dosaženo nejnižší výtěžnosti RP. Toto činidlo má nižší iontovou sílu a postrádá účinek rozpouštění vyvolaný nízkým  $\text{pH}$  (Houba et al. 2000). Řada studií potvrdila vhodnost roztoku  $\text{CaCl}_2$  k hodnocení reálné biodostupnosti RP rostlinám. Např. Pinto et al. (2015) našli statisticky významné korelace mezi množstvím Cr, Ni, As, Pb a Cd extrahovaným  $\text{CaCl}_2$  z rhizosféry půdy a obsahy těchto RP v rostlinách salátu.

K hodnocení potenciální biodostupnosti RP na našich lokalitách jsme tedy využili  $\text{CaCl}_2$  výluh a výsledky jsme konfrontovali s jinými autory (McBride et al. 2003; Rodrigues et al. 2013). Vzhledem ke skutečnosti, že jsme nestanovili celkové obsahy RP v našich půdách, nelze komentovat celkovou zátěž lokalit RP, nehledě, zda jsou RP přirozeného či antropogenního původu, to ovšem není na závadu. Porovnání výsledků z extrakce RP pomocí  $\text{CaCl}_2$  do jisté míry boří představu, že naše půdy z oblasti Českého lesa jsou z hlediska vstupu RP do potravního řetězce nutně bezpečnější než půdy intenzivně hospodářsky využívané. Např. obsah Cd( $\text{CaCl}_2$ ) v půdách z našich experimentálních lokalit činí  $0,053 \pm 0,030$   $\mu\text{g/g}$ , což je více než zjistili Rodrigues et al. (2013) na souboru půd ( $n = 45$ ) z městské aglomerace

(průměr 0,02 µg/g) nebo McBride et al. (2003) v různě hnojených zemědělských půdách (průměrně < 0,01 µg/g). Extrakce s CaCl<sub>2</sub> při hodnocení biodostupnosti RP citlivě zohledňuje pH půd, které je na našich lokalitách výrazně kyselé (výměnné pH 3,9 – 5,4) (Tabulka 1), což obecně zvyšuje mobilitu kationtových forem RP. Vyluhovatelná množství dalších RP v CaCl<sub>2</sub> (As, Pb, Zn, Ni, Cu) v našich půdách jsou srovnatelná či častěji nižší než hodnoty uvedené v McBride et al. (2003) a Rodrigues et al. (2013). Lze tedy konstatovat, že biodostupné množství RP (s výjimkou Cd) v půdách našich lokalit se nevymyká běžným hodnotám, které byly zjištěny v oblastech, které nejsou zatíženy silnou antropogenní kontaminací či výrazným geogenním zdrojem. Pro hodnocení transportu RP v systému půda-rostlina-včela-včelí produkty bude v dalším textu nezbytné hodnotit jednotlivá stanoviště zvlášť, tedy uvažovat rozdílné místní podmínky. S výjimkou chromu byly mezi výtěžnostmi extrakcí RP (Mehlich III), RP(CH<sub>3</sub>COOH) a RP(CaCl<sub>2</sub>) nalezeny statisticky významné pozitivní korelace (Tabulka 11 - 18). Jako primární index dostupnosti RP rostlinám byl pro další posuzování zvolen výluh CaCl<sub>2</sub>.

## 6.2 Přestup RP do včel, medu a dalších včelích produktů

Pro svůj význam je včelí med nejčastěji analyzovaným včelím produktem. Na základě hodnot stanovených obsahů velmi toxických RP (As, Cd, Cr, Pb, Tl) a s přihlédnutím k množství medu konzumovaného člověkem lze všechny zkoumané medy z oblasti Českého lesa považovat za bezpečné. Většina medů splnila přísné mezní indikační hodnoty pro potenciální environmentální rizika (Tabulka 7), které byly dříve stanoveny takto: Cd (0,01 µg/g), Cr (0,02 µg/g), Ni (0,2 µg/g) a Pb (0,05 µg/g) (Ruschioni et al. 2013). Indikační hodnotu dosáhly, resp. překročily, pouze vzorky medu ze stanoviště Jindřichovka a Ranč pro zvýšený obsah Pb (0,05 ± 0,01 µg/g a 0,17 ± 0,04 µg/g). Obsahy RP v medech z Českého lesa jsou srovnatelné či nižší než obsahy RP ve vzorcích medu pocházejících z přírodních oblastí v Itálii (Ruschioni et al. 2013) či v Polsku (Džugan et al. 2018). Také z porovnání s medy charakterizovanými v dalších studiích (Tabulka 19) vyplývá, že naše medy vykazují obsahy RP převážně při spodní hranici rozmezí publikovaných hodnot.

Ve vlastních tělech včel byly stanoveny významně vyšší obsahy RP v porovnání se vzorky medů, což jasně deklarují také hodnoty transfer faktorů TF(včela živá→med) (Tabulka 10). Vyšší obsahy RP ve vzorcích včelích dělnic v porovnání se včelími produkty zaznamenala řada autorů (Leita et al. 1996, Perugini et al. 2011, Lambert et al. 2012, van der Steen et al. 2012, Ruschioni et al. 2013, Negri et al. 2015, van der Steen et al. 2015, Džugan et al. 2018, Costa et al. 2019, Ćirić et al. 2020, Goretti et al. 2020). V publikaci Skorbiłowicz et al. (2018) se uvádí, že včela při produkci medu z nektaru filtruje suroviny skrze své tělo, čímž zabraňuje vstupu většího množství RP do finálního produktu. Stejnou domněnku vyjádřila Zhelyazkova (2012), která tento proces popsala pojmem „biobariérová funkce včelího těla“. Námi vypočtené hodnoty TF(včela živá→med) < 1 pro všechny RP jsou v souladu s touto funkcí. Mezní hodnoty obsahů RP ve včelách indikující potenciální environmentální rizika byly definovány následovně: Cd (0,10 µg/g), Cr (0,12 µg/g), Ni (0,3 µg/g) a Pb (0,7 µg/g) (Ruschioni et al. 2013). Je překvapivé, že naše vzorky včel dosáhly či překročily indikační hodnoty pro Cd (7 z 9 stanovišť), Ni (5 stanovišť), kdežto pro Pb, u kterého byly zjištěny zvýšené obsahy v medu na dvou stanovištích, k překročení indikační hodnoty pro včely nedošlo. Toto zjištění zřejmě vyplývá ze skutečnosti, že včely jsou obecně považovány

za citlivější indikátor kontaminace prostředí než med (Lambert et al. 2012; Silici et al. 2016; Ćirić et al. 2020). Je však také otázkou, zda byly indikační hodnoty vhodně nastaveny. Z pohledu hodnot TF(včela živá→med) největší riziko přestupu do medu vykazují Pb (0,43), Tl (0,33) a Cr (0,29) (Tabulka 10). Faktorů ovlivňujících množství RP ve včelách, a tedy i v medu, je více. Především nelze opomenout atmosférickou depozici (Costa et al. 2019), kdy dochází k ulpění prachových částic s obsahem RP na okrajích křídel, na hlavě a na zadních nohou (Negri et al. 2015). Sadowska et al. (2019) zkoumala obsah RP v abdomenu včel, které byly před analýzou omyty, aby se snížilo zkreslení výsledků vlivem atmosférické depozice RP na povrchu včelího těla. Ze závěru studie vyplývá, že citlivým markerem kontaminace Cd je obsah Cd uvnitř abdomenu, kdežto As a Cr je lépe kvantifikovat na povrchu včely.

Vyšší obsahy RP (s výjimkou Ni) byly stanoveny ve vzorcích uhynulých včel v porovnání s včelami živými. Tento výsledek vysvětlují Leita et al. (1996) delší dobou expozice starých včel během jejich života, vyloučit však nelze ani sekundární kontaminaci již uhynulých včel.

Důležitým mezičlánkem přestupu RP z půdy do včely je rostlina. Tento vztah byl v naší studii hodnocen pomocí TF(půda→pyl). Pylová zrna jsou dle Cloutier-Hurteau et al. (2014) velmi náchylná ke kontaminaci RP. Kromě příjmu a translokace RP rostlinami z půdy často dochází ke kontaminaci pylu atmosférickou depozicí, a tím i k falešnému zvýšení hodnot TF(půda→pyl). Je však vhodné zdůraznit, že hodnotu TF(půda→pyl) může ovlivnit řada jiných faktorů, např. vymývání RP dešťovými srážkami (z pylu i z půdy). Conti & Botré (2001) hodnotí pyl jako méně vhodnou matici ke sledování obsahu RP v prostředí z důvodu nižší citlivosti. Nejnižší účinnost přestupu v systému půda-rostlina, resp. půda-pyl (Tabulka 10), byla pozorována pro Pb, což je v souladu s jeho obecně nižší mobilitou a translokací rostlinami (Kabata-Pendias & Pendias 2001). Kromě výrazně biogenních prvků Cu a Zn byla velmi vysoká hodnota TF(půda→pyl) zjištěna pro thalium, což zřejmě koresponduje s vysokou mobilitou  $Tl^+$  iontů. Pyl odebraný na stanovištích v Českém lese měl významně nižší obsah Ni, Zn a Pb než pyl vzorkovaný ve Velké Británii (Lambert et al. 2012) a Polsku (Formicki et al. 2013). Zvláště markantní je disproporce u Pb, kde zmínění autoři stanovili v průměru 5× až 40× vyšší obsahy oproti našemu pylu. Takové hodnoty pravděpodobně signalizují vyšší úroveň kontaminace daných oblastí atmosférickou depozicí Pb. Toto srovnání kontaminace pylu může být poněkud zavádějící. V našem případě se jedná o pyl plástvový, tedy pyl více zpracovaný včelami, zatímco citovaní autoři použili pyl rouskový. Složení plástvového pylu z Třeboňska zkoumali Velemínský et al. (1990). Jejich výsledky pro celkové obsahy Cd, Cu a Zn jsou srovnatelné s našimi hodnotami, ale obsah Pb byl na Třeboňsku v průměru 20× vyšší. Je třeba vzít v potaz, že jejich vzorkování pylu probíhalo v roce 1987, tedy v době obecně vyšší úrovně znečištění atmosféry a zátěže prostředí olovem z automobilové dopravy.

Z relativně vysokých hodnot TF(pyl→včela) pro As a Cd (Tabulka 10) lze hypotetizovat, že včelí tělo je efektivnějším akumulátorem těchto prvků v porovnání s Pb. Toto tvrzení je v souladu s biofiltrační schopností včely, jejíž účinnost byla dle našich výsledků v relaci  $Cd \sim As \gg Pb$ .

Sledování obsahu RP ve vosku je prozatím spíše okrajovým tématem, může však poskytnout užitečné doplňkové informace o mobilitě RP a jejich akumulaci v této matici. Ćirić et al. (2020) prokázali náchylnost vosku k akumulaci Cr a Pb, jejichž obsah dokonce předčil hodnoty ve včelích dělnicích. Vysoké obsahy Pb ve vosku (až 3,1  $\mu\text{g/g}$ ) zjistili také

Formicki et al. (2013). Odpovídající vztah odhalila naše analýza vosků z Českého lesa, kde Pb a Cr byly jedinými RP s hodnotami  $TF(\text{včela živá} \rightarrow \text{vosk}) > 1$ . Ve shodě s Formicki et al. (2013) a Ćirić et al. (2020) naše výsledky (Tabulka 7 a 8) jednoznačně potvrdily vyšší zátěž vosku toxickými RP (Cr, As, Cd, Pb) v porovnání s medem.

### 6.3 Včela a včelí produkty jako biomonitory RP v půdě

Předpokladem nalezení vhodného biomonitoru pro indikaci environmentálních rizik spojených s obsahem RP v půdě je ověření citlivosti zkoumaného biomonitoru. V našem případě se jednalo o prověření schopnosti včel a včelích produktů deponovat RP v závislosti na zatížení stanoviště RP. Obsah RP v biomonitoru by měl být lineárně závislý na obsahu biodostupného podílu RP v půdě. K hodnocení způsobnosti biomonitoru byl zvolen Pearsonův korelační koeficient vyjadřující těsnost lineárního vztahu mezi hodnotou  $RP(\text{CaCl}_2)$ , případně  $RP(\text{CH}_3\text{COOH})$ , a obsahem RP v matrici posuzovaného vzorku. Těsný lineární vztah je známkou vyšší citlivosti, a tedy vhodnosti biomonitoru. Zásadním nedostatkem většiny publikovaných prací zabývajících se touto problematikou je absence kvantifikace skutečného znečištění indikovaného prostředí. Většina autorů pouze porovnávala obsah RP v různých biomonitorech (zejm. včela, med, vosk, pyl) bez vazby na stanoviště (Formicki et al. 2013; Džugan et al. 2018).

Jen velmi málo autorů se pokusilo o hodnocení transferu RP v celém systému půda-rostlina-včela-včelí produkt či v dílčích systémech půda-včela, půda-včelí produkt. Zarić et al. (2017) hledali korelace mezi obsahem RP v půdách a včelách, zcela neúspěšně. Příčinou selhání korelační analýzy může být i použití hodnot celkových obsahů RP v půdách namísto biodostupných podílů RP. Rashed et al. (2009) se zabývali korelacemi mezi obsahem RP v půdě a v rostlinách, ovšem nalezení vztahu mezi půdou a medem bylo již velmi obtížné. Jedinou dostupnou prací, kde se podařilo nalézt významné korelace mezi obsahy RP v půdách a medech, je zřejmě Czipa et al. (2017), ačkoliv i tito autoři charakterizovali zkoumané půdy pouze celkovými obsahy RP. Za zmínku stojí především jejich velmi vysoké hodnoty Pearsonova korelačního koeficientu ( $r$ ) pro Cu (0,99), Pb (0,98), Zn (0,95), As (0,88) a záporná korelace pro Ni (-0,95). Příčinou těchto neobvykle těsných lineárních vztahů může být vysoká míra homogenity zastoupení druhů na včelí pastvě (slunečnice roční a trnovník akát) na všech pěti experimentálních lokalitách.

Prvním významným závěrem vyplývajícím z našich dat (Tabulka 11 až 18) je neexistence jednoho univerzálního biomonitoru, který by vykazoval uspokojivou citlivost indikace pro všechny RP. Je tedy nezbytné posuzovat biomonitory pro jednotlivé RP zvlášť. V první řadě je účelné se vypořádat s často polemizovanou indikační citlivostí včel a medu. Včely živé se ukázaly nejcitlivějším biomonitorem pro půdní obsah potenciálně biodostupného Pb ( $r = 0,96$ ) a Zn ( $r = 0,54$ ), uhynulé včely pro Cd ( $r = 0,81$ ) a Tl ( $r = 0,66$ ). Med byl nejcitlivější matricí pro indikaci Cu ( $r = 0,92$ ) a As ( $r = 0,39$ ) v půdě. Pro indikaci Cr vykazovaly živé včely ( $r = 0,64$ ) a med ( $r = 0,60$ ) srovnatelnou citlivost. Pro nikl nebyla nalezena žádná korelace. Včely tedy představují poněkud citlivější matrici v porovnání s medem. Indikační schopnost vosku pro RP v půdě byla významná pouze pro Cu ( $r = 0,68$ ) a Pb ( $r = 0,52$ ). Překvapením je zjištění, že obsah RP v pylu byl pouze slabě korelován s RP v půdě ( $r \leq 0,40$ ). Obtížné uchopitelná je také absence korelace mezi obsahem jakéhokoliv RP v pylu a medu. Ačkoliv



byl odebírán na všech stanovištích květový med, druhová skladba rostlin ve včelí pastvě v jednotlivých lokalitách mohla být pestrá. Rozdíly v příjmových a translokačních vlastnostech rostlin mohly vliv rozdílu v hodnotách  $RP(CaCl_2)$  stírat. Vyloučit nelze ani vliv nedostatečné reprezentativnosti vzorkování půd na stanovištích a také vliv atmosférické depozice některých RP na povrchu rostlin.

Je pochopitelné, že citlivost jednotlivých biomonitorů může být limitující zvláště v oblastech s nízkou úrovní kontaminace RP. Zajímavé srovnání se nabízí, pokud se zaměříme na transfer RP v systému půda-včela-med výhradně na stanovištích s nejvyšším obsahem daného RP v půdě. Ukázkou příkladného transferu RP je situace na stanovištích Velemín a Ranč s nejvyššími hodnotami  $Pb(CaCl_2)$  (Tabulka 3). Tato maxima obsahu půdního Pb se promítla do lokálních maxim v obsahu Pb v živých včelách na obou stanovištích (Tabulka 5) a dále do maxima v obsahu Pb v medu na stanovišti Ranč (Tabulka 7). U žádného jiného RP nebyl mezi půdou, včelami a medem pozorován obdobný velmi dobře čitelný lineární transfer, což je v souladu, s již zmíněnou nižší účinností biofiltrace včely ve vztahu k Pb.

## 6.4 Autenticita medů z Českého lesa

Předpoklad, že prvkové složení medu je ovlivněno kvalitou (prvkovým složením) prostředí v okolí včelích úlů, vedl k myšlence využití prvkové analýzy medu k potvrzení regionální autenticity a klasifikace medů. Ukázalo se však, že vysoká variabilita obsahu prvků, jejíž zdroje byly zmíněny v kapitole 3.2.2, je závažnou překážkou nalezení příznačných rozdílů mezi různými medy. Ačkoliv byly k potvrzení autenticity regionálního původu medu použity pokročilé metody chemometrické analýzy, hlavní komplikací zůstává dominantní vliv druhového složení rostlin ve včelí pastvě (Bogdanov et al. 2007), který překrývá vliv regionálních charakteristik, např. složení půd. Při autentizaci regionálního původu medu byly zaznamenány pouze dílčí úspěchy, a to za předpokladu, že medy pocházely z velmi kontrastních klimatických oblastí (Krakowska et al. 2015) nebo se porovnávání týkalo pouze medů ze dvou regionů (Di Bella et al. 2015).

Také celková variabilita obsahů prvků v medech z oblasti Českého lesa (devět stanovišť včelínů) je značná. Hodnoty variačních koeficientů pro obsahy některých RP (Pb, Cu) převyšovaly 150 %. Je pravděpodobné, že diskriminace medů se neobejde bez zahrnutí obsahů makroprvků a dalších esenciálních mikroprvků do chemometrické analýzy (Oroian et al. 2016). Navzdory původnímu plánu, k ověřování autenticity původu medu z Českého lesa v rámci našeho výzkumu nakonec nedošlo. Závažnými důvody byly: (i) zmíněná vysoká variabilita dat a potřeba vyššího počtu vzorků, které by zajistily spolehlivost výsledků chemometrické analýzy; (ii) nedostatek různých vzorků medu způsobený jeho velmi nízkými výnosy v roce 2020 vlivem nepříznivého počasí; (iii) organizační omezení vyplývající z opatření v boji proti pandemii viru SARS-CoV-2.

*Tabulka 19 Celkový obsah rizikových prvků v medu dle různých autorů.*

Publikace	μg/g					
	Cd	Pb	Cu	Zn	Cr	Ni
Jones (1987)	0,0003-0,3	0,002-0,2	0,035-6,51	-	-	-
Lambert et al. (2012)	-	0,004-0,378	-	-	-	-
Tuzen et al. (2007)	0,001-0,018	0,008-0,106	0,23-2,41	1,1-12,7	0,002-0,04	0,003-0,03
Kacaniová et al. (2009)	-	-	-	0,25-3,82	-	0,06-0,60
Velemínský et al. (1990)	0,01-0,05	0,05-0,44	0,16-0,93	1,2-4,5	-	-
Rashed et al. (2009)	0,005-0,43	1,0-2,6	1,4-2,3	6,1-12	0,65-2,5	0,2-1,0
Bogdanov et al. (2007)	0,001-0,026	0,003-0,329	0,051-3,32	0,016-4,13	0,001-0,037	0,001-2,0
Krakowska et al. (2015)	0,02-0,44	0,11-2,78	0,20-1,53	2,38-9,31	-	-
Di Bella et al. (2015)	-	0,01-0,15	0,06-0,98	0,76-9,51	0,06-0,94	0,02-0,45
<b>Tato práce</b>	<b>0,0006-0,0023</b>	<b>0,003-0,17</b>	<b>0,09-3,08</b>	<b>0,26-1,54</b>	<b>0,005-0,015</b>	<b>0,03-0,08</b>

## 7 Závěr

Včela a včelí produkty v roli biomonitorů znečištění životního prostředí rizikovými prvky (RP) jsou stále oblastí aktivního výzkumu. V rámci této práce byla zkoumána citlivost indikace přítomnosti osmi rizikových prvků (As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, Tl, Zn) v půdách pomocí vzorků medu a alternativních matric (včelí tělo, vosk a plástvový pyl). Odběr vzorků byl záměrně proveden na stanovištích včelínů v oblasti CHKO Český les, které splnily předpoklad velmi nízké úrovně kontaminace půd, a tudíž mohly prověřit detekční schopnost vybraných biomonitorů. Medy z Českého lesa vykazovaly obsahy RP převážně při spodní hranici rozmezí publikovaných hodnot a byly srovnatelné či nižší než v medech pocházejících z jiných evropských přírodních oblastí. Pouze u medů ze dvou stanovišť byly dosažena, resp. překročena, velmi přísná preventivní indikační hodnota potenciálního environmentálního rizika ( $0,05 \mu\text{g/g Pb}$ ), a to z důvodu mírně zvýšeného obsahu Pb ( $0,05 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$  a  $0,17 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$ ). Pořadí průměrných obsahů sledovaných RP v medech bylo:  $\text{Zn} \sim \text{Cu} > \text{Ni} > \text{Pb} > \text{Cr} > \text{Cd} \sim \text{Tl} > \text{As}$ . Pořadí obsahů významně toxických RP v jednotlivých biomonitorech bylo: uhynulé včely  $>$  živé včely  $>$  pyl  $\sim$  vosk  $>$  med. Přestup RP systémem půda  $\rightarrow$  včela  $\rightarrow$  včelí produkty byl specifický pro jednotlivé RP. Účinnost přestupu je zřejmě ovlivňována specifickými fyziologickými procesy na úrovni rostlin a včel. V souvislosti s často diskutovanou biofiltrační (biobariérovou) schopností včel eliminující vstup RP do včelích produktů lze konstatovat, že nejvyšší účinnost nežádoucího přestupu do medu byla zjištěna pro Pb, Tl a Cr. Z našich dat vyplynulo, že žádný z testovaných biomonitorů nevykazoval uspokojivou citlivost indikace pro všechny RP. Mezi obsahem v medu a množstvím dostupného prvku v půdě byla nalezena středně silná lineární závislost pro Cr a As a velmi silná lineární závislost pro Cu a Pb. Lze tedy konstatovat, že obsah některých prvků v medech z Českého lesa významně koreloval s dostupnou zásobou prvků v půdě. Nicméně pořadí citlivosti indikace RP v půdě pro jednotlivé biomonitory bylo stanoveno takto: včely  $>$  med  $>$  vosk  $>$  pyl. Ze všech sledovaných prvků byla nejcitlivější indikační schopnost včel a včelích produktů pozorována pro Pb. Značná variabilita obsahů některých RP v jednotlivých typech vzorků snižovala pravděpodobnost nalezení korelačních závislostí. Cílem dalšího výzkumu by mělo být detailnější porozumění rozdílné účinnosti přestupu jednotlivých RP systémem půda  $\rightarrow$  včela  $\rightarrow$  včelí produkty, zvláště na úrovni dílčích procesů na povrchu a uvnitř včely.

## 8 Literatura

- Aiken GR, Hsu-Kim H, Ryan JN. 2011. Influence of Dissolved Organic Matter on the Environmental Fate of Metals, Nanoparticles, and Colloids. *Environmental Science and Technology* 45:3196-3201. Available at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es103992s>.
- Anděl P. 2011. *Ekotoxikologie, bioindikace a biomonitoring*. Evernia, Liberec.
- Antoniadis V, Levizou E, Shaheen SM, Ok YS, Sebastian A, Baum C, Prasad MNV, Wenzel WW, Rinklebe J. 2017. Trace elements in the soil-plant interface: Phytoavailability, translocation, and phytoremediation—A review. *Earth-Science Reviews* 171:621-645. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012825216303518>.
- Bargańska Ż, Ślebioda M, Namieśnik J. 2015. Honey bees and their products: Bioindicators of environmental contamination. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 46:235-248. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10643389.2015.1078220>.
- Bilandžić N, Đokić M, Sedak M, Kolanović BS, Varenina I, Končurat A, Rudan N. 2011. Determination of trace elements in Croatian floral honey originating from different regions. *Food Chemistry* 128:1160-1164. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814611005723>.
- Bogdanov S, Haldimann M, Luginbühl W, Gallmann P. 2015. Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *Journal of Apicultural Research* 46:269-275. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2007.11101407>.
- Bradl HB. 2004. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. *Journal of Colloid and Interface Science* 277:1-18. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002197970400356X>.
- Caroli S, Forte G, Iamiceli AL, Galoppi B. 1999. Determination of essential and potentially toxic trace elements in honey by inductively coupled plasma-based techniques. *Talanta*:327–336.
- Celli G, Maccagnani B. 2003. Honey bees as bioindicators of environmental pollution. *Bulletin of insectology* 2003:137-139.
- Ćirić J, Spirić D, Baltić T, Lazić IB, Trbović D, Parunović N, Petronijević R, Đorđević V. 2020. Honey Bees and Their Products as Indicators of Environmental Element Deposition. *Biological Trace Element Research*:1-8. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s12011-020-02321-6>.
- Cloutier-Hurteau B, Gauthier S, Turmel M-C, Comtois P, Courchesne F. 2014. Trace elements in the pollen of *Ambrosia artemisiifolia*: What is the effect of soil concentrations? *Chemosphere* 95:541-549. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004565351301391X>.

- Conti ME, Botré F. 2001. Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. *Environmental Monitoring and Assessment* 2000:267 - 282. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Conti ME, Cecchetti G. 2001. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment Ð a review. *Environmental Pollution*:471-492.
- Costa A, Veca M, Barberis M, Tosti A, Notaro G, Nava S, Lazzari M, Agazzi A, Tangorra FM. 2019. Heavy metals on honeybees indicate their concentration in the atmosphere. a proof of concept. *Italian Journal of Animal Science* 18:309-315. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1828051X.2018.1520052>.
- Crane E. 1984. On the scientific front. *Bee World* 65:47-49. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/0005772X.1984.11098770>.
- Crane E. 1999. *The world history of beekeeping and honey hunting, ilustrované vydání.* Taylor & Francis, New York.
- Czipa N, Diósi G, Phillips C, Kovács B. 2017. Examination of honeys and flowers as soil element indicators. *Environmental Monitoring and Assessment* 189:1-12. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s10661-017-6121-1>.
- Devillers J, Pham-Delègue M-H. 2002. *Honey Bees: Estimating the Environmental Impact of Chemicals.* Taylor & Francis, Kanada.
- Di Bella G, Lo Turco V, Potortì AG, Bua GD, Fede MR, Dugo G. 2015. Geographical discrimination of Italian honey by multi-element analysis with a chemometric approach. *Journal of Food Composition and Analysis* 44:25-35. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157515001362>.
- Dragović S, Mihailović N, Gajić B. 2008. Heavy metals in soils: Distribution, relationship with soil characteristics and radionuclides and multivariate assessment of contamination sources. *Chemosphere* 72:491-495. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653508003330>.
- Dżugan M, Wesołowska M, Zaguła G, Kaczmarski M, Czernicka M, Puchalski C. 2018. Honeybees (*Apis mellifera*) as a biological barrier for contamination of honey by environmental toxic metals. *Environmental Monitoring and Assessment* 190:2-9. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s10661-018-6474-0>.
- Edelstein M, Ben-Hur M. 2018. Heavy metals and metalloids: Sources, risks and strategies to reduce their accumulation in horticultural crops. *Scientia Horticulturae* 234:431-444. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423817307628>.
- Formicki G, Gren A, Stawarz R, Zvysk B, Gal A. 2013. Metal Content in Honey, Propolis, Wax, and Bee Pollen and Implications for Metal Pollution Monitoring. *Pol. J. Environ. Stud.* 22:99-106.
- Gall JE, Boyd RS, Rajakaruna N. 2015. Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. *Environmental Monitoring and Assessment* 187:200-221. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s10661-015-4436-3>.

- García JUAN CARLOS RODRIÄGUEZ, Rodríguez ROBERTO IGLESIAS, Crecente ROSA MARIÄ APENÑ A, García JULIA BARCIELA, Martín SAGRA RIO GARCIAÄA, Latorre CARLOSHERRERO. 2006. Preliminary Chemometric Study on the Use of Honey as an Environmental Marker in Galicia (Northwestern Spain). *J. Agric. Food Chem.*:7206–7212.
- Gomes MA da C, Hauser-Davis RA, Suzuki MS, Vitória AP. 2017. Plant chromium uptake and transport, physiological effects and recent advances in molecular investigations. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 140:55-64. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651317300489>.
- Goretti E et al. 2020. Heavy metal bioaccumulation in honey bee matrix, an indicator to assess the contamination level in terrestrial environments. *Environmental Pollution* 256:2-12. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749119323784>.
- Gupta N, Yadav KK, Kumar V, Kumar S, Chadd RP, Kumar A. 2019. Trace elements in soil-vegetables interface: Translocation, bioaccumulation, toxicity and amelioration - A review. *Science of The Total Environment* 651:2927-2942. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969718339202>.
- Gutiérrez M, Molero R, Gaju M, van der Steen J, Porrini C, Ruiz JA. 2020. Assessing heavy metal pollution by biomonitoring honeybee nectar in Córdoba (Spain). *Environmental Science and Pollution Research* 27:10436-10448. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s11356-019-07485-w>.
- Haider FU, Liqun C, Coulter JA, Cheema SA, Wu J, Zhang R, Wenjun M, Farooq M. 2021. Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 211. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651320317231>.
- Harter, R.D., and Naidu, R. 1995. Role of metal-organic complexation in metalsorption by soils. *Adv. Agron.* 55, 219–264
- Herrero-Latorre C, Barciela-García J, García-Martín S, Pena-Crecente RM. 2017. The use of honeybees and honey as environmental bioindicators for metals and radionuclides: a review. *Environmental Reviews* 25:463-480. Available at <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/er-2017-0029>.
- Houba VJG, Temminghoff EJM, Gaikhorst GA, van Vark W. 2008. Soil analysis procedures using 0.01 M calcium chloride as extraction reagent. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 31:1299-1396. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00103620009370514>.
- Järup L. 2003. Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin* 68:167-182. Available at <https://academic.oup.com/bmb/article/68/1/167/421303>.
- Jones KC. 1987. HONEY AS AN INDICATOR OF HEAVY METAL CONTAMINATION. *Water, Air, and Soil Pollution* 33:179-189.

- Kabata-Pendias A, Pendias H. 2001. Trace Elements in Soils and Plants, 3. vydání. CRC Press, USA.
- Kacaniová M, Knazovicka V, Melich M, Fikselova M, Massanyi P, Stawarz R, Hascik P, Pechociak T, Kuczkowska A, Putała A. 2009. Environmental concentration of selected elements and relation to physicochemical parameters in honey. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 44:414-422. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10934520802659802>.
- Kevan PG. 1999. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 74:373 - 393.
- Khan A, Khan S, Khan MA, Qamar Z, Waqas M. 2015. The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, and associated health risk: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 22:13772-13799. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s11356-015-4881-0>.
- Khan S, Farooq R, Shahbaz S, Khan MA, Sadique M. 2009. Health Risk Assessment of Heavy Metals for Population via Consumption of Vegetables. *World Applied Sciences Journal* 6:1602-1606. IDOSI Publications.
- Kim R-Y, Yoon J-K, Kim T-S, Yang JE, Owens G, Kim K-R. 2015. Bioavailability of heavy metals in soils: definitions and practical implementation—a critical review. *Environmental Geochemistry and Health* 37:1041-1061. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s10653-015-9695-y>.
- Konopka Z, Świsłowski P, Rajfur M. 2019. Biomonitoring of Atmospheric Aerosol with the use of *Apis mellifera* and *Pleurozium schreberi*. *Chemistry-Didactics-Ecology-Metrology* 24:107-116. Available at <https://content.sciendo.com/view/journals/cdem/24/1-2/article-p107.xml>.
- Kováčik J, Grúz J, Biba O, Hedbavny J. 2016. Content of metals and metabolites in honey originated from the vicinity of industrial town Košice (eastern Slovakia). *Environmental Science and Pollution Research* 23:4531-4540. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s11356-015-5627-8>.
- Krakowska A, Muszyńska B, Reczyński W, Opoka W, Turski W. 2015. Trace metal analyses in honey samples from selected countries. A potential use in bio-monitoring. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 95:1-12. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03067319.2015.1055475>.
- Lai H-Y, Hseu Z-Y, Chen T-C, Chen B-C, Guo H-Y, Chen Z-S. 2010. Health Risk-Based Assessment and Management of Heavy Metals-Contaminated Soil Sites in Taiwan. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 7:3595-3614. Available at <http://www.mdpi.com/1660-4601/7/10/3595>.
- Lambert O, Piroux M, Puyo S, Thorin C, Larhantec M, Delbac F, Pouliquen H. 2012. Bees, honey and pollen as sentinels for lead environmental contamination. *Environmental Pollution* 170:254-259. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749112003405>.

- Leita L, Muhlbachova G, Cesco S, Barbattini R, Mondini C. 1996. INVESTIGATION OF THE USE OF HONEY BEES AND HONEY BEE PRODUCTS TO ASSESS HEAVY METALS CONTAMINATION. *Environmental Monitoring and Assessments* 43:1-9. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Luo X, Bing H, Luo Z, Wang Y, Jin L. 2019. Impacts of atmospheric particulate matter pollution on environmental biogeochemistry of trace metals in soil-plant system: A review. *Environmental Pollution* 255:1-11. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749119319864>.
- Lux A, Martinka M, Vaculik M, White PJ. 2011. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *Journal of Experimental Botany* 62:21-37. Available at <https://academic.oup.com/jxb/article-lookup/doi/10.1093/jxb/erq281>.
- Madrid F, Reinoso R, Florido MC, Díaz Barrientos E, Ajmone-Marsan F, Davidson CM, Madrid L. 2007. Estimating the extractability of potentially toxic metals in urban soils: A comparison of several extracting solutions. *Environmental Pollution* 147:713-722. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749106005367>.
- McBride, M.B. 1994. *Environmental chemistry of soils*. Oxford University Press, Inc., New York.
- McBride MB, Nibarger EA, Richards BK, Steenhuis T. 2003. TRACE METAL ACCUMULATION BY RED CLOVER GROWN ON SEWAGE SLUDGE-AMENDED SOILS AND CORRELATION TO MEHLICH 3 AND CALCIUM CHLORIDE-EXTRACTABLE METALS. *Soil Science* 16801:29-38.
- McLaughlin MJ, Zarcinas BA, Stevens DP, Cook N. 2008. Soil testing for heavy metals. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 31:1661-1700. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00103620009370531>.
- Meli MA, Fagiolino I, Desideri D, Roselli C. 2018. Essential and toxic elements in honeys consumed in Italy. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 81:1123-1134. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15287394.2018.1520160>.
- Menzies NW, Donn MJ, Kopittke PM. 2007. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils. *Environmental Pollution* 145:121-130. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749106002338>.
- Mihaljevič M, Strnad L, Šebek O. 2004. VYUŽITÍ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S INDUKČNĚ VÁZANÝM PLAZMATEM V GEOCHEMII. *Chem. listy* 98:123-130.
- Mizrani A, Lensky Y. 2013. *Bee Products: Properties, Applications, and Apitherapy*. Springer Science + Business Media, LLC., Tel-Aviv.
- Momodu MA, Anyakora CA. 2009. Heavy Metal Contamination of Ground Water: The Surulere Case Study. *Research Journal Environmental and Earth Science* 2:39-43.



- Negri I, Mavris C, Di Prisco G, Caprio E, Pellecchia M, Nieh JC. 2015. Honey Bees (*Apis mellifera*, L.) as Active Samplers of Airborne Particulate Matter. PLOS ONE 10:1-22. Available at <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0132491>.
- Oroian M, Prisacaru A, Hretcanu EC, Stroe S-G, Leahu A, Buculei A. 2016. Heavy Metals Profile in Honey as a Potential Indicator of Botanical and Geographical Origin. International Journal of Food Properties 19:1825-1836. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2015.1107578>.
- Parmar TK, Rawtani D, Agrawal YK. 2016. Bioindicators: the natural indicator of environmental pollution. Frontiers in Life Science 9:110-118. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21553769.2016.1162753>.
- Peijnenburg, W., Posthuma, L., Eijsackers, H., & Allen, H. 1997. A conceptual framework for implementation of bioavailability of metals for environmental management purposes. Ecotoxicology and Environmental Safety, 37,163–172.
- Penn C, Rutter E, Arnall D, Camberato J, Williams M, Watkins P. 2018. A Discussion on Mehlich-3 Phosphorus Extraction from the Perspective of Governing Chemical Reactions and Phases: Impact of Soil pH. Agriculture 8:1-20. Available at <http://www.mdpi.com/2077-0472/8/7/106>.
- Perugini M, Manera M, Grotta L, Abete MC, Tarasco R, Amorena M. 2011. Heavy Metal (Hg, Cr, Cd, and Pb) Contamination in Urban Areas and Wildlife Reserves: Honeybees as Bioindicators. Biological Trace Element Research 140:170-176. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s12011-010-8688-z>.
- Pierzynski GM. 2000. Soil Test Phosphorus: Mehlich 3. Southern Cooperative Series Bulletin 396:1-3. USA.
- Pinto E, Almeida AA, Ferreira IMPLVO. 2015. Assessment of metal(loid)s phytoavailability in intensive agricultural soils by the application of single extractions to rhizosphere soil. Ecotoxicology and Environmental Safety 113:418-424. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651314005818>.
- Pirk CWW, de Miranda JR, Kramer M, Murray TE, Nazzi F, Shutler D, van der Steen JJM, van Dooremalen C. 2015. Statistical guidelines for *Apis mellifera* research. Journal of Apicultural Research 52:1-24. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3896/IBRA.1.52.4.13>.
- Pohl P, Sergiel I, Steckha H. 2009. Determination and Fractionation of Metals in Honey. Critical Reviews in Analytical Chemistry 39:276-288. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408340903001250>.
- Popov BB, Hristova VK, Presilski S, Shariati MA, Najman S. 2017. Assessment of heavy metals in propolis and soil from the Pelagonia region, Republic of Macedonia. Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering 36:23–33. Available at <http://www.mjcce.org.mk/index.php/MJCCE/article/view/1004>.
- Pueyo M, López-Sánchez JF, Rauret G. 2004. Assessment of CaCl<sub>2</sub>, NaNO<sub>3</sub> and NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> extraction procedures for the study of Cd, Cu, Pb and Zn extractability in contaminated

- soils. *Analytica Chimica Acta* 504:217-226. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267003013886>.
- Rao CRM, Sahuquillo A, Lopez Sanchez JF. 2008. A Review of the Different Methods Applied in Environmental Geochemistry For Single and Sequential Extraction of Trace Elements in Soils and Related Materials. *Water, Air, and Soil Pollution* 189:291-333. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s11270-007-9564-0>.
- Rashed MN, El-Haty MTA, Mohamed SM. 2009. Bee honey as environmental indicator for pollution with heavy metals. *Toxicological and Environmental Chemistry* 91:389-403. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02772240802294870>.
- Rauet G. 1998. Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment. *Talanta* 46:449–455.
- Rauret G et al. 2000. Application of a modified BCR sequential extraction (three-step) procedure for the determination of extractable trace metal contents in a sewage sludge amended soil reference material (CRM 483), complemented by a three-year stability study of acetic acid and EDTA extractable metal content. *Journal of Environmental Monitoring* 2:228-233. Available at <http://xlink.rsc.org/?DOI=b001496f>.
- Regionální pracoviště Správa CHKO Český les. 2021. AOPK ČR, Praha 11 - Chodov. Available at <https://ceskyles.ochranaprirody.cz> (accessed March 10, 2021).
- Rodrigues SM, Cruz N, Coelho C, Henriques B, Carvalho L, Duarte AC, Pereira E, Römken PFAM. 2013. Risk assessment for Cd, Cu, Pb and Zn in urban soils: Chemical availability as the central concept. *Environmental Pollution* 183:234-242. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749112004459>.
- Ruschioni S, Riolo P, Minuz RL, Stefano M, Cannella M, Porrini C, Isidoro N. 2013. Biomonitoring with Honeybees of Heavy Metals and Pesticides in Nature Reserves of the Marche Region (Italy). *Biological Trace Element Research* 154:226-233. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s12011-013-9732-6>.
- Sadowska M, Gogolewska H, Pawelec N, Sentkowska A, Krasnodębska-Ostręga B. 2019. Comparison of the contents of selected elements and pesticides in honey bees with regard to their habitat. *Environmental Science and Pollution Research* 26:371-380. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s11356-018-3612-8>.
- Sager M. 2017. The Honey as a Bioindicator of the Environment. *Ecological Chemistry and Engineering S* 24:583-594. Available at <http://content.sciendo.com/view/journals/eces/24/4/article-p583.xml>.
- Shaheen SM, Tsadilas CD, Rinklebe J. 2013. A review of the distribution coefficients of trace elements in soils: Influence of sorption system, element characteristics, and soil colloidal properties. *Advances in Colloid and Interface Science* 201-202:43-56. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001868613001206>.
- Shahid M, Dumat C, Khalid S, Schreck E, Xiong T, Niazi NK. 2017. Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal

- uptake. *Journal of Hazardous Materials* 325:36-58. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389416310937>.
- Schreck E, Foucault Y, Sarret G, Sobanska S, Cécillon L, Castrec-Rouelle M, Uzu G, Dumat C. 2012. Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout: Mechanisms involved for lead. *Science of The Total Environment* 427-428:253-262. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969712004123>.
- Silici S, Uluozlu OD, Tuzen M, Soylak M. 2013. Honeybees and honey as monitors for heavy metal contamination near thermal power plants in Mugla, Turkey. *Toxicology and Industrial Health* 32:507-516. Available at <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0748233713503393>.
- Skorbiłowicz M, Skorbiłowicz E, Cieśluk I. 2018. Bees as Bioindicators of Environmental Pollution with Metals in an Urban Area. *Journal of Ecological Engineering* 19:229-234. Available at <http://www.journalssystem.com/jeeng/Bees-as-bioindicators-of-environmental-pollution-with-metals-in-an-urban-area,85738,0,2.html>.
- Smith KE, Weis D. 2020. Evaluating Spatiotemporal Resolution of Trace Element Concentrations and Pb Isotopic Compositions of Honeybees and Hive Products as Biomonitors for Urban Metal Distribution. *GeoHealth* 4:1-17. Available at <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1029/2020GH000264>.
- Snodgrass RE. 1956. *The Anatomy of the Honey Bee*. Cornell University Press, Londýn.
- Stankovska E, Stafilov T, Šajn R. 2008. Monitoring of trace elements in honey from the Republic of Macedonia by atomic absorption spectrometry. *Environmental Monitoring and Assessment* 142:117-126. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s10661-007-9913-x>.
- Steen JJMV der, Kraker J de, Grotenhuis T. 2015. Assessment of the Potential of Honeybees (*Apis mellifera* L.) in Biomonitoring of Air Pollution by Cadmium, Lead and Vanadium. *Journal of Environmental Protection* 06:96-102. Available at <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/jep.2015.62011>.
- Tuzen M, Silici S, Mendil D, Soylak M. 2007. Trace element levels in honeys from different regions of Turkey. *Food Chemistry* 103:325-330. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814606006467>.
- Urban M. 2018. *Včelaření od jara do zimy*. Grada Publishing, Praha.
- van der Steen JJM, de Kraker J, Grotenhuis T. 2012. Spatial and temporal variation of metal concentrations in adult honeybees (*Apis mellifera* L.). *Environmental Monitoring and Assessment* 184:4119-4126. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s10661-011-2248-7>.
- Velemínský M, Starý P. 1990. Honeybees (*Apis mellifera*) as environmental monitors of heavy metals in Czechoslovakia. *Acta Entomol. Bohemoslov.* 87:37-44.

- Wang T-H, Jian C-H, Hsieh Y-K, Wang F-N, Wang C-F. 2013. Spatial Distributions of Inorganic Elements in Honeybees ( *Apis mellifera* L .) and Possible Relationships to Dietary Habits and Surrounding Environmental Pollutants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61:5009-5015. Available at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf400695w>.
- Wilson-Rich N. 2018. *The Bee: A Natural History*. Princeton University Press, USA.
- Winston ML. 1987. *The Biology of the Honey Bee*. Harvard University Press, Londýn, Anglie.
- Vojtěšek M, Mikuška P, Večeřa Z, . 2009. VÝSKYT, ZDROJE A STANOVENÍ KOVŮ V OVZDUŠÍ. *Chem. listy* 103:136-144.
- Wolterbeek B. 2002. Biomonitoring of trace element air pollution: principles, possibilities and perspectives. *Environmental Pollution* 120:11-21.
- Wuana RA, Okieimen FE. 2011. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *ISRN Ecology* 2011:1-20. Available at <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2011/402647/>.
- Xiong T-T, Leveque T, Austruy A, Goix S, Schreck E, Dappe V, Sobanska S, Foucault Y, Dumat C. 2014. Foliar uptake and metal(loid) bioaccessibility in vegetables exposed to particulate matter. *Environmental Geochemistry and Health* 36:897-909. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s10653-014-9607-6>.
- Zarić NM, Ilijević K, Stanisavljević L, Gržetić I. 2017. Use of honeybees (*Apis mellifera* L.) as bioindicators for assessment and source appointment of metal pollution. *Environmental Science and Pollution Research* 24:25828-25838. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s11356-017-0196-7>.
- Zhelyazkova I. 2012. Honeybees: bioindicators for environmental quality. *Bulgarian Journal of Agriculture Science* 18:435 - 442. Agricultural Academy.
- Zhu YM, Yang JG, Wang LZ, Lin ZT, Dai JX, Wang RJ, Yu YS, Liu H, Rensing C, Feng RW. 2020. Factors influencing the uptake and speciation transformation of antimony in the soil-plant system, and the redistribution and toxicity of antimony in plants. *Science of The Total Environment* 738. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969720337530>.

