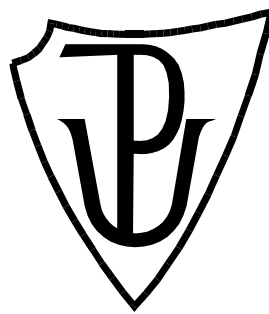


UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie



Bioakumulace těžkých kovů v tkáních raka signálního a možnosti jeho využití pro monitoring těchto látek

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: **Jana Meixnerová**
Studijní program: B1501 Biologie, 1501R027 Biologie a ekologie
Studijní obor: Biologie a ekologie
Forma studia: Prezenční
Vedoucí práce: **RNDr. Petr Hekera, Ph.D**
Rok: 2021

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství. Souhlasím se zveřejněním bakalářské práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.

V Olomouci dne

Poděkování

Děkuji vedoucímu práce RNDr. Petru Hekerovi, Ph.D za vedení i vstřícný přístup. Také děkuji prof. Ing. Pavlu Kozákovi, Ph.D za konzultace. Díky patří i jiným vyučujícím, kteří mi s prací pomohli a také rodině a přátelům za podporu ve studiu.

Abstrakt

Cílem práce je porovnat obsah kovů v sedimentech a v tkáních raka signálního (*Pacifastacus leniusculus*). V této práci byl stanovován obsah Cd, Ni, Pb, Zn, Cu a Cr na třech lokalitách. Dvě lokality s tekoucí vodou představují potok Vodra a Babačka, poslední lokalitou se stojatou vodou byl rybník Prchal. Obsah kovů byl analyzován v hepatopankreatu, exoskeletu, žábrech a břišní svalovině. Je zde zhodnoceno, ve kterých částech těla dochází k akumulaci nejvíce. Tato práce také srovnává, zda se liší distribuce látek v závislosti na stojaté a tekoucí vodě, kdy se ukázal být rozdíl v koncentraci u prvků Ni, Cu a Zn. Práce má dvě části: rešeršní, jež shrnuje obecné poznatky k této problematice, a část praktickou věnovanou vlastním výzkumu. Jako metoda stanovení obsahu kovů byla použita atomová absorpční spektrometrie.

Klíčová slova: rak signální, těžké kovy, bioakumulace, monitoring

Abstract

The goal of this work was to compare metal content in the sediments and tissues of the signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*). The content of Cd, Ni, Pb, Zn, Cu and Cr was determined at three different locations. First two were strings Vodra and Babačka with the running water, third one was a pond Prchal with stagnant water. Metal content was analyzed in hepatopancreas, exoskeleton, gills and abdominal muscles. It was evaluated in which body parts the accumulation occurs the most. This work compares whether the distribution of substances differs depending on stagnant and running water, when there was found a difference in distribution of the elements Ni, Cu and Zn. The work has two parts: a research, which summarizes the general knowledge of this topic, and a practical part devoted to own research. Atomic absorption spectrometry was used as a method for determining metals content.

Key words: signal crayfish, heavy metals, bioaccumulation, monitoring

Seznam zkratek

AAS	atomová absorpční spektrometrie
CAT	catalase, kataláza
Cu/Zn-SOD	copper, zinc superoxide dismutase, Cu/Zn superoxid dismutáza
EU	Evropská unie
MD	mez detekce
MDA	malondialdehyd
MDR	mean diverticular radius, průměrný divertikulární poloměr
MET	mean epithelial thickness, průměrná tloušťka epitelu
PAH	polycyklické aromatické uhlovodíky
PO	fenoloxidasa, fenoloxidáza
ROS	reactive oxygene species, reaktivní formy kyslíku
SOD	superoxide dismutase, superoxid dismutáza
WHO	world health organization, světová zdravotnická organizace

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Cíle práce	2
3	Současný stav řešené problematiky	3
3.1	Kovy ve vodním prostředí	3
3.2	Rak signální	5
3.2.1	Tělní pokryv	5
3.2.2	Trávící soustava	5
3.2.3	Dýchací soustava.....	5
3.2.4	Oběhová soustava.....	6
3.2.5	Nervová soustava	6
3.2.6	Svalová soustava	6
3.2.7	Vylučovací soustava.....	6
3.2.8	Pohlavní soustava.....	6
3.3	Využití raků v biomonitoringu	7
3.4	Vybrané těžké kovy a jejich působení na raky	9
3.4.1	Měď (Cu)	9
3.4.2	Zinek (Zn)	11
3.4.3	Kadmium (Cd)	12
3.4.4	Olovo (Pb).....	13
3.4.5	Chrom (Cr).....	14
3.4.6	Nikl (Ni).....	15
4	Experimentální část.....	17
4.1	Stanovení těžkých kovů v sedimentech.....	17
4.2	Stanovení těžkých kovů v tkáních raků.....	17
5	Výsledky	20
6	Diskuse.....	24
7	Závěr	25
8	Zdroje.....	26
9	Přílohy.....	31

1 Úvod

Tato práce se zabývá bioakumulací těžkých kovů v tkáních raka signálního s možností jeho využití pro monitoring. K monitoringu byly vybrány tři lokality, z toho dvě s tekoucí vodou a jedna se stojatou vodou. Na každém z těchto míst jsem sledovala obsah šesti prvků – niklu (Ni), olova (Pb), kadmia (Cd), zinku (Zn), chromu (Cr) a mědi (Cu). Prvky byly stanoveny v sedimentech a ve čtyřech různých tkáních – hepatopankreatu, exoskeletu, žábrech, břišní svalovině, tedy v místech, kde dochází k největší akumulaci těchto kovů v tělech raků. Jedná se tedy o kombinovanou formu monitoringu, která dokáže lépe posoudit daný dlouhodobější stav prostředí i to, jaký má vliv na biotu.

Výskyt každého z prvků je mnohdy určován více faktory, proto jsou v této práci uvedeny změny, kterým podléhají v závislosti na odlišných podmínkách prostředí. Vysvětlena je také jejich úloha v rámci organismu a případná poškození, která mohou způsobovat. Jsou zde uvedené také různé interakce, ke kterým dochází při styku s ostatními prvky. V neposlední řadě, uvádím, zda má na obsah jednotlivých prvků v tělech raků vliv pohlaví či stáří jedinců.

2 Cíle práce

Prvním cílem práce je srovnat obsah kovů v sedimentech a ve tkáních, aby se prokázalo, který orgán nejlépe odráží stav prostředí, zda u některých prvků je větší tendence k akumulaci ve tkáních než v sedimentech a zda se všechny sledované prvky vyskytují v abiotickém i biotickém prostředí zároveň.

Druhým cílem práce je porovnat, zda se neliší distribuce těchto látek ve stojatých a tekoucích vodách. Vzhledem k odlišným fyzikálním a chemickým faktorům těchto vod a nedostatkem studií na toto téma jsem se rozhodla zjistit, zda i tento faktor nemůže mít vliv na ukládání těžkých kovů ve tkáních, případně zjistit, zda ukládání souvisí pouze s fyziologií jednotlivých orgánů.

Třetí cíl práce je shrnout rešerši této problematiky, tedy výskyt vybraných kovů v přírodě, zejména ve vodním prostředí a popis jednotlivých prvků a jejich působení na raky. V neposlední řadě také využití raků v biomonitoringu, spolu s popisem a anatomií mého modelového druhu – raka signálního (*Pacifastacus leniusculus*).

3 Současný stav řešené problematiky

3.1 Kovy ve vodním prostředí

Pojmem těžké kovy označujeme prvky periodické soustavy se specifickou hmotností vyšší než 5 g/cm^3 . Tyto prvky se v nižších koncentracích přirozeně vyskytují v zemské kůře, mohou se nacházet v různých sloučeninách, pohybují se v geochemických a biologických cyklech.

Významným zdrojem těžkých kovů v přírodě se stala různá odvětví antropogenní činnosti a vzhledem k neschopnosti degradace se tyto látky akumulují v životním prostředí (Kafka & Punčochářová, 2002). Znečištění životního prostředí pak ovlivňuje funkčnost a stabilitu různých ekosystémů (Velíšek et al. 2018).

Nejběžnějšími těžkými kovy v přírodě jsou Cr, Ni, Zn, Mn, Cu, Cd, Co, Pb (Soliman & Moustafa, 2020). Některé kovy jsou v esenciální míře nezbytné. V organismu bývají přítomny jako součást některých enzymů (Cu, Zn, Cr, Fe) (Kafka & Punčochářová, 2002). Neesenciální kovy však mohou být toxické i při velmi nízkých koncentracích, stejně jako mohou být toxické esenciální kovy v koncentracích vyšších (Phillips 1995). Toxicitu pak určuje nejen koncentrace, ale také forma, ve které se nacházejí. Za nejvíce toxickou je považovaná forma iontová.

Rychlý populační nárůst, urbanizace a industrializace vedou k závažnému znečištění vody a půdy. Primárními zdroji kontaminace sladkých vod je vypouštění průmyslových odpadních vod z těžby, farmaceutického průmyslu, galvanického pokovování, elektrotechnického průmyslu, kovovýroby, koželužny, dále jsou zdrojem odtoky z agregátních polí (Vardhan et al. 2019), kde jsou využívány fosfátová hnojiva (obsahující Cd a Pb) a pesticidy (obsahují Pb, Cu, Cd, Hg, As), či spalování fosilních paliv (Kafka & Punčochářová, 2002). Ve vodním prostředí dochází k depozici kovů v sedimentech, z kterých mohou být opět uvolněny změnou hydraulických a fyzikálně-chemických podmínek do vody. Toto znečištění se stává environmentálním problémem, který je třeba řešit (Chen et al. 2019).

Půda spolu se sedimenty je známým rezervoárem těžkých kovů, stav půdy v okolí vodní plochy pak může výrazně ovlivnit i stav sedimentů. Díky těmto interakcím způsobují riziko, jak pro ekosystémy, tak pro lidské zdraví (Chen et al. 2021). Do půdy se kovy dostávají buď zvětráváním mateřské horniny, nebo antropogenní cestou: zavlažováním, atmosférickou depozicí, z likvidace odpadů či z odpadních vod a hnojením (také organickými hnojivy) (Hu et al. 2018).

Přítomnost mikroplastů (<5 mm) ve vodě je také transportní cestou pro těžké kovy. Na povrchu těchto částic byly nalezeny prvky jako Cr, Cu, Ni, Pb nebo Zn ve větší míře než ve vodním prostředí. Pozřením mikroplastů se mohou kontaminovat těžkými kovy i vodní organismy, například ryby (Sarkar et al.

2021). Lidská činnost zvyšuje mobilizaci kovů z povrchu Země, v některých případech mnohonásobně více, oproti přirozené rychlosti mobilizace (Phillips 1995). Fyzikální a chemická forma kovů má vliv na jejich chování v přírodě i účinky v organismu (Anděl 2011).

3.2 Rak signální

Původní areál raka signálního se rozkládá na severozápadě USA a jihozápadě Kanady (Mlíkovský & Stýblo 2006). Díky záměrné introdukci do Evropy je potvrzen výskyt tohoto druhu ve 24 evropských zemích a jedná se tak o nejrozšířenější nepůvodní druh (Štambergová et al. 2009). Do České republiky byl vysazen roku 1980 a spolu s rakem pruhovaným (*Faxonius limosus*) je známým přenašečem račího moru (Mlíkovský & Stýblo 2006).

Nároky na prostředí jsou u raka signálního podobné jako u raka říčního (*Astacus astacus*), oba obývají hlavně potoky a stojaté vody. Rak signální dosahuje délky 16 cm u samců a 12 cm u samic. Pohlavně dospívá kolem 2. až 3. roku života a dožívá se až 20 let (Štambergová et al. 2009). Jeho potravu tvoří zoobentos, rostliny, ryby, saprofágní organismy i další raci. Řadí se tak k omnivorním živočichům (Mlíkovský & Stýblo 2006).

3.2.1 Tělní pokryv

Tělo raka je kryto vnější chitinovou kostrou – kutikulou. Ta je tvořena uhličitánem a fosforečnanem vápenatým, slouží k ochraně a k úponu svalů. Kutikula je pravidelně svlékána díky ecdysonálním hormonům (Štambergová et al. 2009).

3.2.2 Trávicí soustava

Trávicí soustava je tvořena velkým svalnatým žaludkem s lištami a zuby tvořených chitinem, které slouží k rozmělnění potravy. Uvnitř žaludku se nacházejí gastrolity (rakůvky), ty obsahují inkrustující látky, důležité v období svlékání raků (Kozák).

Vnitřním orgánem imunity a metabolismu je hepatopankreas (dříve nazývaný *glandula mediaintestini*), který není homologní k orgánům obratlovců. Jedná se o párovou tubulární žlázu. Tubuly jsou uspořádány do primárních a sekundárních větví, epitelální buňky uvnitř tubulů plní řadu různých funkcí – absorbují živiny, provádějí endocytózu, nitrobuňčně tráví potravní částice, ukládají glykogen, lipidy a vápník. Hlavní role však spočívá v absorpci živin a zprostředkování metabolismu uhlíku a dusíku. Podílí se také na minerální homeostáze, syntéze a eliminaci hormonů, detoxikaci a depozici těžkých kovů. Jde o orgán metabolicky plastický, umožňující adaptaci na nepříznivé podmínky. U korýšů ovlivňuje hepatopankreas také cyklus líhnutí (Röszer 2014).

3.2.3 Dýchací soustava

Dýchací soustavu raka tvoří žábry. Žábry jsou multifunkčním a složitým orgánem raků, který je v těsném kontaktu s okolní vodou (Wei & Yang 2015). Zajišťují iontový transport, základ pro osmoregulaci hemolymfy. Dále se podílejí na acidobazické rovnováze a vylučování amoniaku.

Žábry jsou místem, kde je přijímáno mnoho kovů. Například kationty $\text{Cd}^{\text{II}+}$, $\text{Zn}^{\text{II}+}$, $\text{Pb}^{\text{II}+}$ mohou procházet žaberním epitelem nespecifickými kanály $\text{Ca}^{\text{II}+}$ a dalšími membránovými transportéry (Henry et al. 2012).

3.2.4 Oběhová soustava

Cévní systém je tvořen vakovitým srdcem, z kterého vedou dva párové a tři nepárové systémy tepen (Scholz et al. 2018). Neokysličenou krev sbírá břišní žíla, přivádí ji k žábrům a odtud se krev dostává systémem ostií zpět do srdce (Kozák). Srdce má tři páry ostií, které jsou složeny ze srpkovitých chlopní, směřujících k lumenu srdce (Scholz et al. 2018).

Cévní soustava je otevřená a krev v ní je bezbarvá (Kozák).

3.2.5 Nervová soustava

Centrální nervový systém je tvořen mozkovým gangliem (mozkem) a ventrálním nervovým provazcem umístěným pod trávicím traktem. Z mozkových ganglií vychází pět párových a dva nepárové nervy. Párové nervy jsou okulomotorické, antenální, antenulární, optické a tegumentární. Nepárové nervy spojují mozkové ganglium s gangliem podjícnovým, které zprostředkovává nervovými kořeny spojení s končetinami cephalothoraxu, svaly hrudníku, hrudními i břišními ganglii. Jednotlivé axony jsou zakončeny synapsemi, které zprostředkovávají výměnu informací mezi neurony, motorickými buňkami, senzorickými receptory a mozkovým gangliem (Kubec et al. 2019).

3.2.6 Svalová soustava

Svalovina je tvořena bílou hustou hmotou. Skládá se převážně z proteinů, které tvoří až 88 % a z tuků. Spojení s krunýřem zajišťují chitinové šlachy na konci každého svalu (Kozák).

3.2.7 Vylučovací soustava

Tvoří ji metanefridie s maxiliárními a antenálními žlázami. Maxiliární vyústějí u maxill a antenální žlázy u antén (Smrž 2013).

3.2.8 Pohlavní soustava

Raci jsou gonochoristé, gonády bývají uloženy v hlavohrudi. Oplození je vnější, samice si pomocí pleopodů přichycuje vajíčka na břišní straně těla (Kozák). Vývoj je přímý, bez larválního stádia (Štambergová et al. 2009).

3.3 Využití raků v biomonitoringu

Kovy se stejně jako organické polutanty kumulují v sedimentech a bývají přítomny i ve vodních organismech. Na rozdíl od organických polutantů kovy nepodléhají biodegradaci. Stavy kovů v sedimentech bývají pravidelně kontrolovány, avšak kontaminanty vázané adsorpcí nemusí být hned dostupné pro vodní organismy. Výkyvy těchto látek bývají způsobeny spíše změnou vazebných vlastností, nežli změnou jejich obsahu (Muncaster et al. 1990). Voda a sedimenty jsou nejrozšířenějšími ukazateli pro stanovení kovů, ale nemohou podat důkazy o integrovaném vlivu a možné toxicitě na organismy a ekosystém.

Biomonitoring je založen na konzistenci mezi organismy a jejich životním prostorem. Odráží i stav chronických účinků nízkého dlouhodobého působení znečišťujících látek, díky čemuž je velmi praktickou, citlivou a integrovanou metodou chemických analýz (Zhou et al. 2008).

I bez přímých toxikologických účinků má bioakumulace negativní dopad na celý ekosystém. Jako indikátory mohou sloužit všechny sladkovodní organismy, zpravidla se využívají větší bezobratlí živočichové, ryby nebo zooplankton. K akumulaci toxických látek dochází buď přímo skrz kůži či žábry, nebo pomocí trofického řetězce s působením bioamplifikace (Bettinetti et al. 2012). Raci jsou vhodnými bioindikátory v případech znečištění vodního prostředí, a to jak pro ukazatele látek organických, tak i anorganických (Schilderman et al. 1999). Byli úspěšně využiti v případech velké kontaminace i při znečištění nedetekovatelného v sedimentech (Fletcher et al. 2020). Využívají se pro sledování kontaminace organochloridy, PAH a polycyklickými uhlovodíky (Schilderman et al. 1999). Velmi často se používají při monitoringu těžkých kovů, díky schopnosti hromadit vysoké koncentrace těchto látek ve tkáních (Varol & Sünbül, 2018).

Poškození těžkými kovy lze sledovat také z fyziologických charakteristik. Využívají se změny hepatopankreatu, kdy dochází ke snížení MDR (průměrný divertikulární poloměr) a MET (průměrná tloušťka epitelu) a současnému zvýšení MLR (průměrný luminární poloměr), což signalizuje úbytek trávicích buněk epitelu a snížení jeho výšky. U lysozomů, které se podílí na detoxikaci, dochází k hypertrofii a redukci jejich počtu, což je zřejmě zapříčiněno změnou fluidity a permeability membrány (Antón et al. 2000).

Břišní svalovina je místem, které vykazuje různé akumulační vzorce po expozici kovů. Záleží na daném prvku a roli v metabolismu. Většinou jsou zde kovy ukládány v menší míře, než např. v žábrech či hepatopankreatu. Výskyt kovů v břišní svalovině však představuje vyšší zdravotní riziko při konzumaci raků (Anandkumar et al. 2020).

Raci zaujímají střední pozici trofických řetězců, usnadňují toky energie a živin, štěpí alochtonní i autochtonní materiál na menší částice, které pak využívají zástupci vodního hmyzu, měkkýši či mikrobiální fauna. Několik studií prokázalo korelaci mezi koncentrací kovů v sedimentech, či v pórové vodě sedimentů s toxicitou a růstem a rozmnožováním raků. Více citlivými jsou pak juvenilní jedinci s měkkým krunýřem (Allert et al. 2009).

Využití raků se jeví jako velmi vhodné, díky jejich těsnému kontaktu se sedimenty, schopnosti odolávat stresu a poměrně dlouhé životnosti (Mancinelli et al. 2018).

3.4 Vybrané těžké kovy a jejich působení na raky

3.4.1 Měď (Cu)

Cu je esenciálním prvkem pro člověka i pro jiné organismy, ale v nadměrné koncentraci jsou její účinky toxické. Dle regulací Světové zdravotnické organizace (WHO) je přípustná v povrchových a pitných vodách koncentrace od 0,005–3 mg/g (Khademian et al. 2021).

Rostliny spolu s řasami a živočichy jsou méně náchylní na působení Cu. Pro plísňe, bakterie a nižší houby je toxická, proto je Cu užívána jako součást fungicidních prostředků (Kafka & Punčochářová, 2002). Využívá se ale i jako algicidní přípravek (Velíšek et al. 2018), neboť při vyšších koncentracích má vliv na fotosyntézu a energetický transport. U řas inhibuje růst a při koncentraci nad 5 mg/l jsou její účinky latentní. V nízkých koncentracích naopak růst některých řas podporuje (Liu et al. 2020).

Zdroji Cu v životním prostředí mohou být za určitých podmínek měděná potrubí, srážková voda poblíž hutních závodů, či obydlí s měděnými okapy a střechami. Zpracovávání kovů a těžba rud jsou také zdrojem, kterým se dostává do vodního prostředí.

Přirozený výskyt Cu v podzemních vodách je dán charakterem podloží, ve kterém se uvolňuje formou sulfidů či hydroxiduhličitanů (Velíšek et al. 2018). Pro vodní organismy je většinou silně toxická, vytvářením málo rozpustných sloučenin se však její toxicita snižuje.

Její esenciální zastoupení v přírodě je pro raky nezbytné, neboť zajišťuje správné fungování některých metabolických procesů (Phillips 1995). Cu je obsažena v glykoproteinu hemocyaninu, přítomného u členovců, měkkýšů i některého hmyzu. Hlavní funkcí hemocyaninu je transport kyslíku do tkání. Umožňuje tedy buněčné dýchání. Hemocyanin se syntetizuje v hepatopankreatu, odkud se dostává do hemolymfy. V hemocyaninu je přítomna latentní fenoloxidáza (PO), jež tvoří mikrobicidní melanin s antimikrobiálními účinky (Qin et al. 2018). Slouží i jako důležitý kofaktor pro enzymy, včetně superoxid dismutázy Cu/Zn (Cu/Zn-SOD), cytochrom c, oxidázy a diaminoxidázy. Nepřímo se může účastnit redoxních reakcí a regulovat mitochondriální energetický metabolismus a také mít vliv na reprodukci. Nadměrné množství Cu akumulované v žábrech a hepatopankreatu snižuje aktivitu SOD a katalázy (CAT), čímž se zvyšuje úroveň malondialdehydu (MDA) a reaktivních forem kyslíku (ROS). ROS pak stojí za oxidačním poškozením, ovlivňujícím reprodukční schopnosti, zvláště u samčího pohlaví. Laboratorní pokus, kdy byli raci vystaveni koncentracím Cu^{II} 3 mg/l, prokázal sníženou kvalitu spermií a poškození histologie varlat a již při koncentraci 0,03 mg/l se vakuovalizovali Sertoliho buňky (Zhao et al. 2019).

Cu je senzorycky znečišťující látkou, která má vliv na orientaci narušením funkcí chemoreceptorů. Působí jako kompetitivní inhibitor čichových receptorů. Při expozici Cu, bez ohledu na koncentraci (4,5 mg/l – 450 mg/l) se u raků snižuje schopnost

vyhledávat zdroj potravy. Narušuje orientaci i pohyb směrem k potravě (Lahman et al. 2015).

3.4.2 Zinek (Zn)

Zn se nachází ve vodě, atmosféře i půdě (Kafka & Punčochářová, 2002). Tvoří sloučeniny organické i anorganické, v nichž se vyskytuje pouze ve dvoumocné formě. Dvoumocný je i ve formě iontu a nepodléhá tak redoxním změnám (Kenšová et al. 2014).

Zdrojem Zn, spolu s dalšími kovy (Cr, Cu, Ni, Pb), mohou být odpadní kaly, zejména z průmyslových činností jako je těžba, výroba kovů a jejich povrchová úprava či zpracovávání směsných průmyslových odpadů. Vyplavováním i promýváním se tyto kaly dostávají do životního prostředí, jež znečišťují (Chen et al. 2021). V ČR dle zákona č. 541/2020 o odpadech je specifikováno nakládání s těmito kaly, kdy lze využívat jen upravené kaly se specifickými hodnotami koncentrací a na vymezené plochy (Česko 2020). Jako další zdroj v životním prostředí se uvádí důlní činnost, rafinace Zn, výroba oceli a také spalování uhlí a odpadů. Vypouštěním z továren, domácností a také splachů z půdy se Zn dostává do vodního prostředí (Kenšová et al. 2014).

Úlohu v toxicitě Zn také sehrává tvrdost vody. V měkké vodě se oproti vodě tvrdé jeho efekt zvyšuje.

V esenciální míře je nezbytný pro řadu organismů, ale pro vodní organismy je více toxický než pro suchozemské. Na Zn bývají nejvíce citlivé plůdky lososovitých ryb. K otravám dochází již při velmi nízkých koncentracích okolo 0,01 a 0,1 mg. l⁻¹ (Kafka & Punčochářová, 2002). Třída desetinožců (*Decapoda*) však využívá Cu i Zn, pro řadu biochemických procesů (Phillips 1995). K ukládání do tkání dochází až po překročení prahové expozice. Vliv zde hrají methalothioneiny – detoxikační proteiny, které regulují a kontrolují homeostázu u esenciálních kovů.

Regulace Zn souvisí také s věkem jedince. U juvenilních raků bývají koncentrace vyšší než u jedinců starších jednoho roku. Nejvíce se Zn akumuluje v hepatopankreatu, exoskeletu, zažívacím traktu a břišní svalovině (Kouba et al. 2010).

3.4.3 Kadmium (Cd)

Řadí se mezi teratogeny, karcinogeny a potencionální mutageny. V zemské kůře je přítomno jako sulfidový minerál, ve spojení se zinkovými rudami, olovnatými rudami s obsahem Zn či jako komplexní rudy Cu–Pb–Zn. V průmyslu je až 80 % produkce Cd spojeno s výrobou Zn (na každou tunu Zn připadají 3 kg Cd). Zbylých 20 % Cd vzniká jako vedlejší produkt produkce Pb a Cu. Využívá se hlavně pro výrobu baterií, v menší míře pak pro výrobu pigmentů, povlaků a pokovování, neželezných slitin, fotovoltaických zařízení a také jako stabilizátor plastů.

Do prostředí se dostává těžbou neželezných kovů a procesem rafinace, výrobou a aplikací fosfátových hnojiv, spalováním fosilních paliv a likvidací odpadů. Ve vodě se vyskytuje buď ve formě hydratovaného iontu, nebo tvoří iontové komplexy s anorganickými i organickými látkami. V rozpustné formě migruje ve vodním sloupci, v nerozpustných formách se ukládá do sedimentů. Akumuluje se ve vodních organismech i v zemědělských plodinách.

U juvenilních raků se nachází ve vyšších koncentracích oproti dospělým jedincům. Silně se kumuluje v žábrech (Faroon et al. 2012) a hepatopankreatu (Bellante et al. 2015). Dalšími místy akumulace jsou svalovina a exoskelet. V exoskeletu je nacházen více u dospělých jedinců, díky méně častému svlékání.

Kromě případu u raka červeného (*Procambarus clarkii*), kdy bylo nalezeno větší množství Cd v hepatopankreatu samců oproti samicím, nebyl prokázán významný rozdíl v akumulaci s ohledem na pohlaví jedinců (Kouba et al. 2010). U tohoto druhu raka obsah Cd pozitivně koreluje s délkou a váhou v břišní svalovině. Akumulované Cd bývá detoxikováno ve formě rozpustného cytosolického proteinu metalothioninu (Bellante et al. 2015).

3.4.4 Olovo (Pb)

Spolu s arsenem (As) a Cd patří Pb mezi neesenciální prvky a je tak vysoce toxické pro organismy (Tan et al. 2021). Do trofické sítě se dostává hlavně přes autotrofní organismy v návaznosti na jeho přítomnost v půdě. Zdrojem Pb v životním prostředí je zejména průmysl, chemická výroba, pigmenty do barev, olovnaté sklo, úpravy rudy. Dříve se dostávalo Pb do prostředí spalováním fosilních paliv, především z pohonných látek s přídavkem olova, dnes jsou tyto paliva v EU zakázány. Pb je také přítomno v hnojících a pesticidových přípravcích zemědělství, tudíž může docházet ke splachům i infiltraci do podzemní vody.

Nejvíce toxické je olovo pro živočichy, avšak malí korýši vykazují větší odolnost na jeho působení (Kafka & Punčochářová, 2002). Vstup do vodního prostředí se děje globálně suchou a mokrou atmosférickou depozicí, či za pomoci místních zdrojů způsobující lokální kontaminace. Menšinovým zdrojem tohoto prvku je přírodní znečištění z vulkanických činností či erozí (Velíšek et al. 2018).

V životním prostředí je tento prvek široce rozšířený, představuje riziko také pro lidskou populaci, zejména při konzumaci kontaminovaných organismů, nebo při inhalaci (Szkoda et al. 2014). Pokud se Pb dostane do lidského těla, způsobuje poškození centrální i periferní nervové soustavy, hematopoetického systému, srdeční soustavy, ledvin, jater, reprodukčního systému a také působí jako karcinogen (Tan et al. 2021).

Pro monitoring obsahu Pb a Cd je zvláště vhodný zooplankton a zoobentos, jelikož se obsahy těchto prvků nezvyšují s rostoucím stupněm potravního řetězce (Svobodová et al. 1996). U raků i ryb dochází k přijímání toxických elementů žábami, také se dostává do jejich těla s potravou ze sedimentů. Místem největší akumulace je hepatopankreas, následuje exoskelet a břišní svaly (Tan et al. 2021).

3.4.5 Chrom (Cr)

Cr je esenciálním prvkem (Kouba et al. 2010). Vyskytuje se v několika oxidačních stupních na škále od $-II$ do $+VI$. V prostředí se však vyskytuje nejčastěji ve stupních Cr^{III} a Cr^{VI} . Cr^{III} není toxický pro rostliny a podílí se také ve výživě živočichů (Fendorf, 1995). Větší toxické a karcinogenní účinky má chrom ve formě Cr^{VI} (Kouba et al. 2010). V tomto stavu působí jako silné oxidační činidlo a je žíravou látkou pro rostliny i zvířata. Pouze oxidy Mn jsou schopny oxidovat Cr^{III} na Cr^{VI} . Schopnost redukce mají zase organické částice, Fe^{II} a sulfidy (Fendorf, 1995).

Ve formě mobilního aniontu může být Cr adsorbován do půdy, nebo vyluhován do podzemních vod s následnou absorpcí v tkáních rostlin či živočichů (Kouba et al. 2010). V zemské kůře je to desátý nerozšířenější prvek. V průmyslu pak bývá využíván k pokovování, výrobě slitin, činění kůží, i jako protikorozní prostředek. Zdrojem tohoto prvku ve vodách jsou pak zejména průmyslové odpady či úniky (Fendorf, 1995).

U raka červeného byla jako místa největší depozice určena exoskelet a žábra, pokud se však jedná o velmi silnou expozici tohoto prvku, pak dochází k největšímu ukládání v hepatopankreatu (Kouba et al. 2010). Obsah Cr (a také Ni) je u něj negativně korelován s délkou a hmotností v tkáni hepatopankreatu (Bellante et al. 2015). V menší míře se tento prvek vyskytuje také v hemolymfě a svalech (Bollinger et al. 1997). Rozdílná distribuce byla nalezena v rámci různých druhů a životních stádií, například u raka říčního a raka signálního je místem největší akumulace hepatopankreas. U raka ničivého (*Cherax destructor*) je také větší akumulace v hepatopankreatu, u dospělých jedinců navíc ve větší míře než u juvenilů (Kouba et al. 2010).

3.4.6 Nikl (Ni)

Ni je přítomen v půdě v souvislosti s lithogenními, pedogenními i antropogenními procesy (Albanese et al. 2015). Z půdy se dostává do podzemních i povrchových vod. Jeho výskyt v prostředí bývá ovlivněn mateřskou horninou, ze které se dostává zvětráváním, jež uvolňuje jeho rozpustnější formy (El-Naggar et al. 2021). Ve větším množství se vyskytuje v ultramafických a mafických minerálech, serpentinech (Quantin et al. 2008). Přirozeně se vyskytuje také v některých sedimentárních horninách, ofiolitových komplexech, aluviálních sedimentech, peridotitech, pyroxenech (Panagopoulos et al. 2015). Pokud je Ni v půdě přítomen z přirozených procesů, je většinou imobilní a méně toxický, do vody se dostává jen omezeně a představuje pouze potenciaální riziko, související se změnou fyzikálně chemických parametrů.

Větší hrozbu představuje antropogenní znečištění, z průmyslových odvětví, zpracováním kovů, popílkem z fosilních paliv a prachem z cementu. Ni se používá také pro výrobu nerezové oceli, chemikálií a baterií, bývá obsažen v hnojivech, fungicidech, pesticidech i herbicidech. Z těchto antropogenních zdrojů pak dochází ke kontaminaci půdy i vody, s vyšší mobilitou, která je dána vyšším izotopovým složením, a toxicitou. Mobilita bývá určována faktory prostředí. Vliv má pH, redukčně-oxidační stav, rozpouštění, komplexace, iontová výměna a biologická přeměna. Mobilita usnadňuje adsorpci rostlinami a následný přenos mezi půdou a vodou. Tento přenos se děje také erozí a povrchovým odtokem, či vyplavováním, ke kterému dochází zejména v kyselých půdách s hrubou strukturou, díky slabé vazbě Ni s půdními koloidy.

Ve vodě bývá Ni v rozpustné i částicové formě. Forma rozpustná zahrnuje hydratovaný dvojmocný Ni, anorganické komplexy (OH, Co^{III} , Cl) a organické komplexy s huminovými látkami. Ve formě částicové je Ni v komplexu s koloidy. Nebezpečná je forma s Ca a Mg, kdy se vytváří slabé komplexy (CaMgNiH_4), které uvolňují biologicky dostupné formy, toxické pro vodní organismy (NiCO_3 , NiS, Ni_3S_2 , NiO) (El-Naggar et al. 2012).

Ve vodě existují čtyři hlavní formy Ni. Ni^{II} je relativně stabilní, díky tvorbě komplexů, jedná se však o karcinogenní látku, jež se váže na molekuly DNA. Ni(OH)^+ a $\text{Ni(OH)}^{\text{II}}$ jsou přítomny v rozpětí pH 8–12, $\text{Ni(OH)}^{\text{III}}$ je přítomen při pH od 12–14 (Krishnan et al. 2011). Ni má tendenci vázat se na nerozpustné oxidy Fe a Mn, či na rozpuštěné organické látky v závislosti na oxidačních podmínkách. Při dostatku kyslíku se váže na sulfany, při snížených hodnotách je vázán na nerozpustné sulfidy (El-Naggar et al. 2021).

Není objasněno, zda je Ni esenciálním kovem pro raky (Tunca et al. 2013), avšak u skupiny Isopoda je potřebný pro přenos svalových i nervových akčních potenciálů (Mwangi & Alikhan, 1993). Jeho přítomnost silně koreluje s některými prvky, jako jsou Mn, Pb, Cd v břišní svalovině například u samců raka bahenního (*Astacus leptodactylus*) (Tunca et al. 2013).

V tělech raků bývá Ni akumulován v závislosti na podmínkách prostředí. Místem jeho výskytu je exoskelet, který by se také mohl podílet na vylučování tohoto prvku, dále bývá nalezen v hepatopankreatu, svalovině, žábřách a zažívacím traktu (Kouba et al. 2010). Ve svalovině se Ni podle některých autorů ukládá nejméně (Khan & Nugegoda, 2003), ale jiná studie nenašla významný rozdíl mezi břišními svaly a hepatopankreatem (Finerty et al. 1990). Hepatopankreas a žábra jsou však považována za vhodné ukazatele u znečištěných vod. U raka ničivého byla prokázána schopnost depurace Ni, kdy po přenosu do čisté vody dochází po určité době k jeho eliminaci (Khan & Nugegoda, 2003). Rozdíly v koncentraci Ni v tkáních se nejeví jako sezónně závislé, či závislé na tom, zda žije rak volně či v nádržích (Finerty et al. 1990). Mortalita způsobená Ni je časově a koncentračně závislá. Například u juvenilů raka ničivého po 48 hod. expozici 377 $\mu\text{g/l}$ se pohybuje kolem 10 %, při koncentraci 1275 $\mu\text{g/l}$ je to kolem 50 %. Při koncentraci 2700 mg/l dochází k 100% úmrtnosti již po 4 hodinách (Khan & Nugegoda, 2007). Ni by mohl mít synergický účinek na ukládání ostatních prvků v hepatopankreatu, jako jsou Cu a Zn. V buňkách Ni způsobuje chromozomální aberace a potlačuje imunitní reakce (Mwangi & Alikhan, 1993).

4 Experimentální část

4.1 Stanovení těžkých kovů v sedimentech

Odběr sedimentů proběhl na třech lokalitách – rybník Prchal (GPS: 49°23'27.5"N 15°59'48.0"E), potok Babačka (GPS: 49°25'23.2"N 16°01'45.6"E) a potok Vodra (GPS: 49°20'19.8"N 16°02'43.2"E). Odběry sedimentů se uskutečnily na podzim roku 2020.

Na všech lokalitách bylo odebráno pomocí vzorkovače přibližně 5 kg hrubých sedimentů. Po homogenizaci, odstranění větších částic a dekantaci byl sediment zredukován za pomoci plastového síta s průměrem ok 1,5 mm na množství asi 300 g a uložen do vzorkovnic. Potom byly vzorky sušeny v plastových nádobách při pokojové teplotě. Dosušení proběhlo při teplotě 105 °C po dobu 60 minut v sušičce značky Gallenkamp.

Z každého vzorku se následně odvážilo 500 mg do mineralizační nádoby a pomocí pipety se přidalo 6 ml 35% kyseliny chlorovodíkové (HCl) a 2 ml 65% kyseliny dusičné (HNO₃). Mineralizace probíhala v mikrovlnném mineralizačním zařízení značky Berghof Speedwave 2, program Soil sediment EPA 3052. Po vychladnutí byly vzorky přefiltrovány do zkumavek a byly doplněny destilovanou vodou do objemu 50 ml. Obsah kovů byl stanoven atomovou absorpční spektrometrií (AAS) na přístroji Avanta z firmy GBC.

4.2 Stanovení těžkých kovů v tkáních raků

Odchyt raků probíhal na stejných lokalitách jako odběr sedimentů. Raci byli chytáni ručně s pomocí rybářské sítě. Z rybníku Prchal bylo nasbíráno 8 jedinců (samců) s délkou od rostra po telson $11,30 \pm 1,54$ cm. Z potoku Babačka bylo nasbíráno 8 jedinců (5 samic a 3 samci) s průměrnou délkou $6,38 \pm 1,2$ cm. Z potoku Vodra byly nasbírány 4 jedinci (1 samice a 3 samci) s průměrnou délkou $7,15 \pm 0,81$ cm.

Z raků byly odebrány vzorky exoskeletu, hepatopankreatu, břišní svaloviny a žaber (příloha č. 1). Jednotlivé tkáně byly rozděleny dle lokalit. Obsah kovů v exoskeletu byl stanovován stejným způsobem jako v sedimentech. Vzorky byly sušeny 180 h na 60 °C, poté 90 h na 70°C a nakonec 30 min na 105°C v sušičce značky Gallenkamp.

Z každého vzorku bylo odváženo 500 mg do mineralizační nádoby, kromě dvou, kde kvůli nedostatku materiálu bylo odváženo 200 mg. Po přidání 7 ml kyseliny dusičné (HNO₃) a 1 ml 30% peroxidu vodíku (H₂O₂) proběhla mineralizace v mineralizačním zařízení značky Berghof Speedwave 2, program mechy (obrázek č. 1). Poté se vzorky přefiltrovaly do zkumavek a doplnily destilovanou vodou do objemu 50 ml (obrázek č. 2). Obsah kovů byl stanoven atomovou absorpční spektrometrií (AAS) na přístroji Avanta z firmy GBC.



Obrázek č. 1: Mineralizační zařízení značky Berghof Speedwave 2



Obrázek číslo 2: Filtrace vzorků

5 Výsledky

Obsah jednotlivých prvků je uveden v příloze číslo 3. Cd pod mezí detekce přístroje bylo na lokalitě Vodra a Prchal. Pb pod mezí detekce přístroje na lokalitě Vodra a Babačka. Co se týče Pb, bylo detekováno pouze v sedimentech rybníku Prchal.

Nejvyšší koncentrace Ni byla nalezena na lokalitě Babačka, následně ve Vodře a nejmenší koncentrace byla přítomna v Prchalu.

I když se nejedná o významné rozdíly, v sedimentech byl Zn přítomen v nejvyšší koncentraci v Prchalu, v nižší koncentraci na lokalitě Babačka a v nejnižší koncentraci na lokalitě Vodra. Ve tkáních, již s většími rozdíly, se vyskytoval v nejvyšší koncentraci v Babačce, v nižší koncentraci ve Vodře a v nejnižší koncentraci byl nalezen v Prchalu.

Obsah Cu v sedimentech lokalit Babačky a Prchalu byl stejný, nejmenší koncentrace byla na lokalitě Vodra. V tkáních byl nalezen nejvyšší obsah Cu u lokality Vodra, nižší obsah v Babačce a nejnižší obsah v Prchalu.

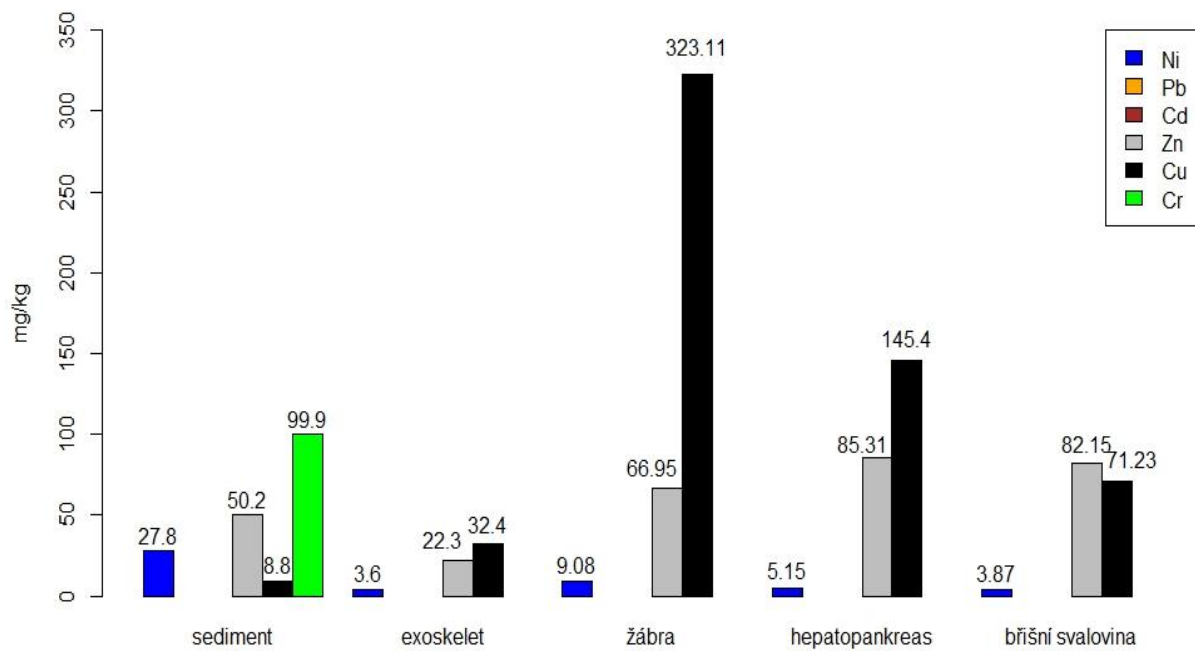
Koncentrace Cr byla nejvyšší u sedimentů z lokality Vodra, nižší koncentrace byla u lokality Babačka a nejnižší u lokality Prchal. Kromě tkáně žaber z lokality Prchal, byl Cr ve tkáních pod mezí detekce přístroje.

Celkově lze za nejvíce znečištěnou lokalitu z daných měření považovat Vodru, následuje Babačka a nejmenší obsah kovů byl zjištěn na lokalitě Prchal.

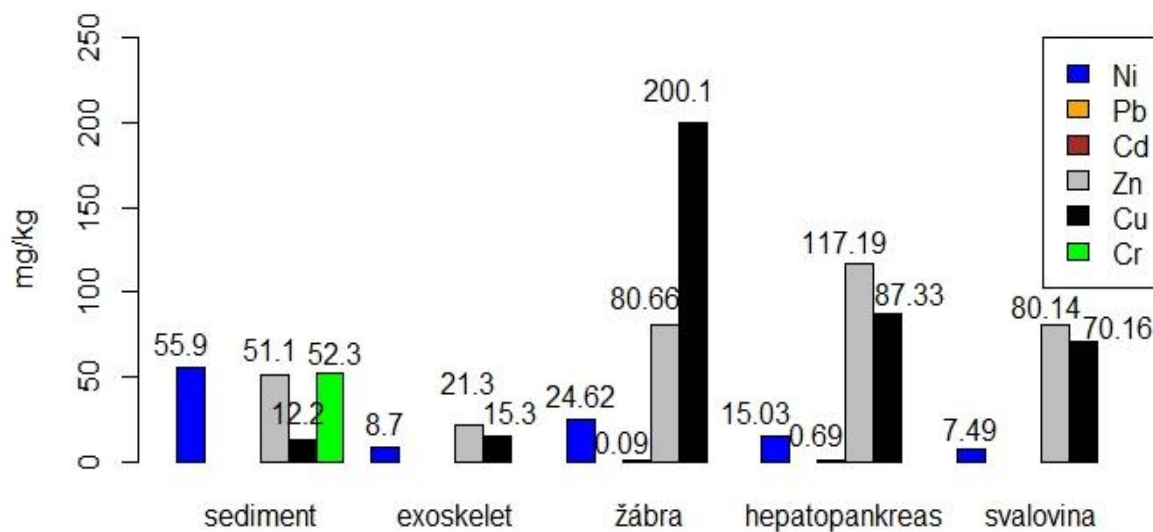
Obsah Ni v sedimentech nejlépe koreloval s tkáněmi žaber, vždy se v nich však nacházel v nižších koncentracích.

Cd bylo pod mezí detekce přístroje u všech sedimentů, avšak v nízké koncentraci bylo nalezeno v hepatopankreatu a žábrech raků z lokality Babačka.

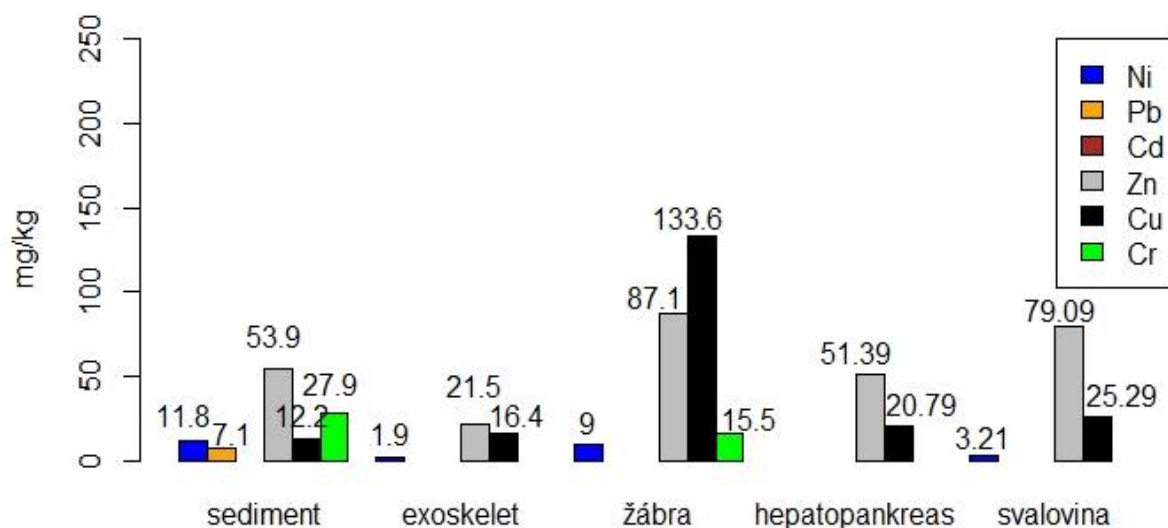
Obsah Zn ve všech orgánech, kromě exoskeletu, výrazně přesahoval obsah kovů v sedimentech, podobně jako u Cu, kdy ve všech tkáních byla zaznamenána vyšší koncentrace než v sedimentech. Jednotlivé lokality jsou znázorněny na grafech 1–3.



Graf č. 1: Obsah těžkých kovů z lokality Vodra a jejich výskyt v sedimentu a v orgánech raka signálního



Graf č. 2: Obsah těžkých kovů z lokality Babačka a jejich výskyt v sedimentu a v orgánech raka signálního



Graf č. 3: Obsah těžkých kovů z lokality Prchal a jejich výskyt v sedimentu a v orgánech raka signálního

Co se týče distribuce sledovaných kovů ve tkáních, u Cu v tekoucích vodách (Vodra, Babačka), docházelo ke stejnému rozmístění žábra-hepatopankreas-svalovina-exoskelet, kdy v žábrech bylo v obou případech její množství dvakrát větší než v hepatopankreatu. Ve stojaté vodě (Prchal) docházelo k distribuci Cu v následujícím pořadí žábra-svalovina-hepatopankreas-exoskelet, v hepatopankreatu bylo zaznamenáno šestkrát menší množství než v žábrech, ale rozdíl mezi svalovinou a hepatopankreatem nebyl výrazný, jde o rozdíl 17,8 %. Ve všech typech vod se v tělech raků Cu ukládala nejvíce v žábrech a nejméně v exoskeletu.

U Ni v tekoucích vodách docházelo k ukládání v následujícím pořadí žábra-hepatopankreas-svalovina-exoskelet (Vodra) a žábra-hepatopankreas-exoskelet-svalovina (Babačka), u svaloviny a exoskeletu se nejednalo v obou případech o významné rozdíly. U lokality Vodra jde o rozdíl 6,98 % a u lokality Babačka jde o rozdíl 13,91 %. Ve stojaté vodě (Prchal) docházelo k následujícímu ukládání žábra-svalovina-exoskelet, přičemž v hepatopankreatu nebyl Ni vůbec přítomný. V případě svaloviny a exoskeletu jedná o rozdíl 40,81 %. Stejně jako Cu, se Ni ukládal ve všech typech vod nejvíce v žábrech.

Zn se u tekoucích vod ukládal s klesající koncentrací následovně hepatopankreas-svalovina-žábra-exoskelet (Vodra) a hepatopankreas-žábra-svalovina-exoskelet (Babačka). Zatímco u tekoucích vod docházelo k největšímu ukládání v hepatopankreatu, ve stojaté vodě (Prchal) byl Zn nejvíce nalezen v žábrech-svalovině-hepatopankreatu a nejméně v exoskeletu. Společné pro všechny tři lokality je nejmenší ukládání Zn v exoskeletu.

U Cr, Cd a Pb nelze srovnávat distribuci kovů ve tkáních, z důvodu koncentrací nižších než mez detekce přístroje.

6 Diskuse

U lokality Babačka by mohlo Cd přítomno v hepatopankreatu a žábrech poukazovat na počínající znečištění tímto prvkem, přičteme-li i jeho schopnost detoxikace u raků (Bellante et al. 2015). Ve srovnání s referenčními hodnotami (2,54 mg/kg) pro hepatopankreas byl však jeho obsah daleko nižší (Kouba et al. 2010).

Cr byl přítomen ve všech sedimentech, ale pouze v Prchal se akumuloval v žábrech, což by mohlo být způsobeno jeho formou, kdy pouze v iontové formě dochází k jeho přijímání živými organismy (Kouba et al. 2010).

Pb se do sedimentu Prchal mohlo infiltrovat z okolní zemědělské krajiny, jelikož se tento rybník nachází pod úrovní obdělávané půdy a může tak docházet ke snadným splachům hnojiv nebo pesticidních přípravků.

Obsah Zn nepřekročil referenční hodnoty pro hepatopankreas (178,57 mg/kg) a jeho vyšší obsah ve tkáních je zřejmě dán jeho fyziologickou úlohou v organismu (Kouba et al. 2010). Nelze plně prokázat, že by jeho nižší koncentrace v tkáních hepatopankreatu stojaté vody (Prchal) byla dána odlišným ukládáním tohoto prvku. Vliv zde mohl sehrát také věk jedinců, kdy u raků dochází k regulaci tohoto prvku až po jednom roku života (Kouba et al. 2010). Jedinci odebráni z této lokality byli v průměru o 4 cm větší než ze zbývajících dvou lokalit, proto se dá předpokládat, že byli také starší.

U Ni byla v tekoucích vodách překročena referenční hodnota pro hepatopankreas (4,29 mg/kg) (Kouba et al. 2010), zatímco ve stojaté vodě (Prchal) v tkáni hepatopankreatu nebyl detekován. Je tedy možné, že typ vody má vliv i na jeho obsah v organismu. Avšak skutečnost, že se vyskytuje v mnoha formách, které závisí na jiných fyzikálně-chemických charakteristikách a přítomnosti dalších prvků, neumožňuje toto tvrzení dostatečně prokázat (Kafka & Punčochářová, 2002). Byl by tak vhodný spíše laboratorní pokus, kdy lze snadněji zaručit stejné podmínky pro simulaci obou typů vod.

Obsah Cu v sedimentech nejlépe koreloval s obsahem Cu v exoskeletu u všech tří lokalit. V hepatopankreatu u žádné z lokalit nebyla překročena referenční hodnota (157,14 mg/kg), avšak v tekoucích vodách byla překročena referenční hodnota pro břišní svalovinu (21,32 – 36,30) (Kouba et al. 2010). I přes nižší obsah Cu v sedimentech by tak mohla Cu ovlivňovat biotu na daných lokalitách. Zvýšená hodnota Cu v tkáních raků odpovídá její úloze v organismu, jelikož je součástí krevního barviva hemocyaninu (Qin et al. 2018). Avšak příliš vysoké hodnoty Cu narušují chemoreceptory a Cu by tak mohla mít vliv na život raků (Lahman et al. 2015). V tekoucích vodách (Vodra, Babačka) byla její distribuce v organismu stejná, zatímco ve stojaté vodě (Prchal) její obsah ve svalovině byl vyšší než v hepatopankreatu. Rozdíl nebyl natolik výrazný, aby byl s to plně prokázat tento trend, také díky schopnosti degradace tohoto prvku.

Znečištění lokality Vodra mohlo být způsobeno blízkostí průmyslové oblasti (příloha č. 2).

7 Závěr

Tato práce srovnává obsah těžkých kovů v sedimentech a v tkáních raků. Monitoruje tři lokality, z toho dvě s tekoucí vodou (potoky Babačka a Vodra) a jednu se stojatou vodou (rybník Prchal). Je zde stanovován obsah těžkých kovů v sedimentech a tkáních raků spolu s popisem jejich distribuce.

Přítomnost Ni v sedimentech nejlépe odrážela žábra raků. Ve stojaté vodě se prokázala větší kumulace Ni ve svalovině než v hepatopankreatu, ve kterém se více ukládal v tekoucích vodách.

Cd v sedimentech bylo pod mezí detekce přístroje a vyskytlo se pouze v hepatopankreatu a žábrech raků z lokality Babačka, což jasně prokazuje vhodnost použití raků k monitoringu tohoto prvku.

Zn se ukládal v hepatopankreatu méně ve stojaté vodě oproti vodám tekoucím. Jeho obsah v sedimentech dobře odráží hepatopankreas, žábra i svalovina. V tělech raků se vyskytoval, krom exoskeletu, vždy ve zvýšeném množství. Vzhledem k možnosti jeho depurace v tělech starších raků může být použití raků pro monitoring těchto prvků problematictější.

Množství Cu v sedimentech nejlépe odpovídal obsah v exoskeletu. V dalších tkáních byla přítomna vždy ve větším množství, jak by se dalo předpokládat z její fyziologické úlohy v organismu. Zatímco distribuce Cu byla stejná u tekoucích vod, u stojaté vody se ukázala být vyšší akumulace ve svalovině oproti hepatopankreatu.

Cr přítomný ve všech sedimentech byl detekován pouze v žábrech raků stojaté vody. Rak signální se tedy neukázal být nejlepším bioakumulačním organismem pro zjištění obsahu Cr, ale projevil se jako indikátor jeho biologické dostupnosti v prostředí.

Pb bylo detekováno pouze v sedimentech rybníku Prchal. Nelze tak hovořit o jeho distribuci ve tkáních, ani o použití raka signálního k jeho monitoringu.

I přes zjištění rozdílné distribuce některých prvků ve stojatých a tekoucích vodách nelze vyloučit vliv jiných faktorů, jakými jsou například pohlaví, věk, přítomnost jiných prvků, schopnost degradace či ostatní fyzikálně-chemické parametry vod.

Tato práce přinesla údaje o stavu vybraných lokalit. Určila místa v tkáních raka signálního, kde dochází nejvíce ke kumulaci těžkých kovů a v rešeršní části shrnula charakter této problematiky.

8 Zdroje

- Albanese, S., Sadeghi, M., Lima, A., Cicchella, A., Dinelli, E., Valera, P., Falconi, M., Demetriades, M., & De Vivo, B. (2015). GEMAS: Cobalt, Cr, Cu and Ni distribution in agricultural and grazing land soil of Europe. *Journal of Geochemical Exploration*, 154, 81–93.
- Allert, A. L., Fairchild, J. F., DiStefano, R. J., Schmitt, C. J., Brumbaugh, W. G., & Besser, J. M. (2009). Ecological effects of lead mining on Ozark streams: In-situ toxicity to woodland crayfish (*Orconectes hylas*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1207–1219.
- Anandkumar, A., Li, J., Prabakaran, K., Jia, Z. X., Leng, Z., Nagarajan, R., & Du, D. (2020). Accumulation of toxic elements in an invasive crayfish species (*Procambarus clarkii*) and its health risk assessment to humans. *Journal of Food Composition and Analysis*, 88, 103449.
- Anděl, P. (2011). *Ekotoxicologie, bioindikace a biomonitoring*. Liberec: Evernia s.r.o., 54, ISBN: 978-80-903787-9-7.
- Antón, A., Serrano, T., Angulo, E., Ferrero, G., & Rallo, A. (2000). The use of two species of crayfish as environmental quality sentinels: the relationship between heavy metal content, cell and tissue biomarkers and physico-chemical characteristics of the environment. *Science of The Total Environment*, 247, 239–251.
- Bellante, A., Maccarone, V., & Buscaino, G. (2015). Trace element concentrations in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) and surface sediments in Lake Preola and Gorgi Tondi natural reserve, SW Sicily. *Environ Monit Assess*, 187, 404.
- Bettinetti, E., Ponti, B., Marziali, L., & Rossaro, B. (2012). Biomonitoring of lake sediments using benthic macroinvertebrates. *Trends in Analytical Chemistry*, 36, 92–102.
- Bollinger, J. E., Bundy, K., Anderson, M. B., Millet, L., Preslan, J. E., Jolibois, L., Chen, H. L., Kamath, B., & Goerge, W. J. (1997). Bioaccumulation of chromium in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Journal of Hazardous Materials*, 54, 1–13.
- Česko. Zákon č. 541/2020 Sb. Zákon o odpadech. *Sbírka zákonů České republiky*. Dostupné z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2020-541>
- El-Naggar, A., Ahmed, N., Mosa, A., Niazi, N. K., Yousaf, B., Sharma, A., Sarkar, B., Cai, Y., & Chang, S. X. (2021). Nickel in soil and water: Sources, biogeochemistry, and remediation using biochar. *Journal of Hazardous Materials*, 126421.
- Faroon, O., Ashizawa, A., Wright, S., Tucker, P., Jenkins, K., Ingerman, L., & Rudisill, C. (2012). *Toxicological Profile for Cadmium*. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US), Atlanta (GA).

- Fendorf, S. E. (1995). Surface reactions of chromium in soils and waters. *Geoderma*, 67, 55–71.
- Finerty, M. W., Madden, M. W., & Freagley, S. E. (1990). Effect of environs and seasonality on metal residues in tissues of wild and pond-raised crayfish in southern Louisiana. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 19, 94–100.
- Fletcher, D. E., Lindell, A. H., Stankus, P. T., Fletcher, N. D., Lindell, B. E., & McArthur, J. V. (2020). Metal accumulation in dragonfly nymphs and crayfish as indicators of constructed wetland effectiveness. *Environmental Pollution*, 256, 113387.
- Henry, R. P., Lucu, Č., Onken, H., & Weihrauch, D. (2012). Multiple functions of the crustacean gill: osmotic/ionic regulation, acid-base balance, ammonia excretion, and bioaccumulation of toxic metals. *Frontiers in physiology*, 3, 431.
- Hu, W., Wang, H., Dong, L., Huang, B., Borggaard, O. K., Hansen, H. Ch. B., He, Y., & Holm, P. E. (2018). Source identification of heavy metals in peri-urban agricultural soils of southeast China: An integrated approach. *Environmental Pollution*, 237, 650–661.
- Chen, D. T., Au, W. Y., Ewijk, S., Roy, A., & Stegemann, J. A. (2021). Elemental and mineralogical composition of metal-bearing neutralisation sludges, and zinc speciation – A review. *Journal of Hazardous Materials*, 125676.
- Chen, R., Chen, H., Song, L., Yao, Z., Meng, F., & Teng, Y. (2019). Characterization and source apportionment of heavy metals in the sediments of Lake Tai (China) and its surrounding soils. *Science of The Total Environment*, 694, 133819.
- Chen, R., Zhang, Q., Chen, H., Yue, W., & Teng, Y. (2021). Source apportionment of heavy metals in sediments and soils in an interconnected river-soil system based on a composite fingerprint screening approach. *Journal of Hazardous Materials*, 411, 125125.
- Kafka, Z., & Punčochářová, J. (2002). Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy*, 96, 611–617.
- Kenšová, R., Hynek, D., Adam, V., & Kizek, R. (2014). *Působení zinku na živé organismy*. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies*, 29–31. Dostupné z: https://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/J_Met_Nano/0314/pdf/jmn3-06.pdf
- Khademian, E., Salehi, E., Sanaeepur, H., Galiano, F., & Figoli, A. (2021). A systematic review on carbohydrate biopolymers for adsorptive remediation of copper ions from aqueous environments—Part B: Isotherms, thermokinetics and reusability. *Science of The Total Environment*, 754, 142048.
- Khan, S., & Nugegoda, D. (2003). Australian freshwater crayfish *Cherax destructor* accumulates and depurates nickel. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, 70(2), 308–314.

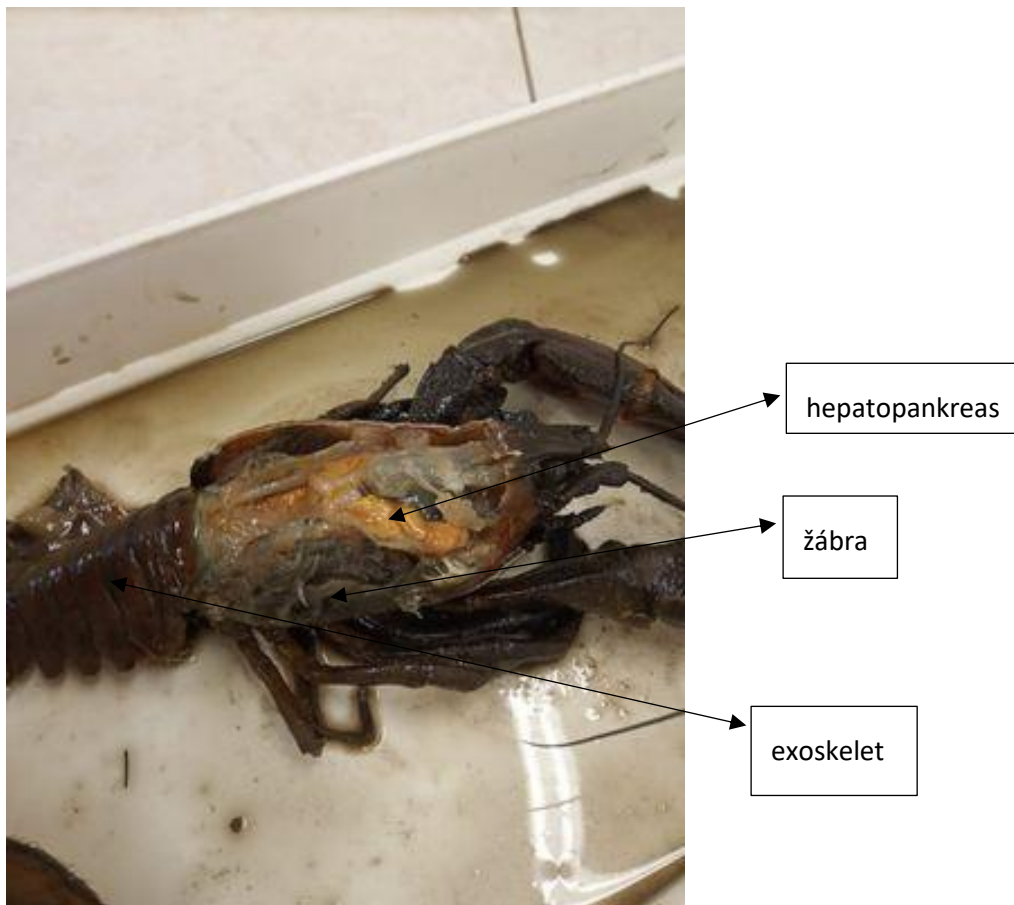
- Khan, S., & Nugegoda, D. (2007). Sensitivity of juvenile freshwater crayfish *Cherax destructor* (Decapoda: Parastacidae) to trace metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68, 463–469.
- Kouba, A., Buřič, M., & Kozák, P. (2010). Bioaccumulation and effects of heavy metals in crayfish: a review. *Water, Air, & Soil Pollution*, 211(1), 5–16.
- Kozák, P. *Chov a ochrana koryšů*. Dostupné z: http://www.cenakva.cz/files/pro_studenty/studium/raci/pdf/Chov_a_ochrana_prednasky.pdf
- Krishnan, A. K., Sreejalekshmi, K. G., & Baiju, R.S. (2011). Nickel(II) adsorption onto biomass based activated carbon obtained from sugarcane bagasse pith. *Bioresource Technology*, 102, 10239–10247.
- Kubec, J., Kouba, A., & Buřič, M. (2019). Communication, behaviour, and decision making in crayfish: A review. *Zoologischer Anzeiger*, 278, 28–37.
- Lahman, S. E., Trent, K. R., & Moore, P.A. (2015). Sublethal copper toxicity impairs chemical orientation in the crayfish, *Orconectes rusticus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113, 369–377.
- Liu, S., Ni, L., Ma, F., & Fu, H. (2020). Analysis of intracellular copper ions content and distribution in algae by gold nanorods method. *Chemosphere*, 259, 127512.
- Mancinelli, G., Papadia, P., Ludovisi, A., Migoni, D., Bardelli, R., Fanizzi, F. P., & Vizzini, S. (2018). Beyond the mean: A comparison of trace- and macroelement correlation profiles of two lacustrine populations of the crayfish *Procambarus clarkii*. *Science of The Total Environment*, 624, 1455–1466.
- Mlíkovský, J., & Stýblo, P. (2006). *Nepůvodní druhy fauny a flóry České republiky*. Praha: ČSOP, 239–241, ISBN 80-86770-17-6.
- Muncaster, B. W., Hebert, P. D. N., & Lazar, R. (1990). Biological and physical factors affecting the body burden of organic contaminants in freshwater mussels. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 19, 25–34.
- Mwangi, S. M., & Alikhan, M. A. (1993). Cadmium and nickel uptake by tissues of *Cambarus bartoni* (Astacidae, decapoda, crustacea): effects on copper and zinc stores. *Water Research*, 27, 921–927.
- Panagopoulos, I., Karayannis, A., Kollias, K., Xenidis, A., & Papassiopi, N. (2015). Investigation of potential soil contamination with Cr and Ni in four metal finishing facilities at Asopos industrial area. *Journal of Hazardous Materials*, 281, 20–26.
- Phillips, D. J. H. (1995). The chemistries and environmental fates of trace metals and organochlorines in aquatic ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, 31, 193–200

- Qin, Z., Babu, V. S., Wan, Q., Muhammad, A., Li, J., Lan, J., & Lin, L. (2018). Antibacterial activity of hemocyanin from red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Fish & Shellfish Immunology*, 75, 391–399.
- Quantin, C., Ettler, V., Garnier, J., & Šebek, O. (2008). Sources and extractibility of chromium and nickel in soil profiles developed on Czech serpentinites. *Comptes Rendus Geoscience*, 340, 872–882.
- Rószter, T. (2014). The invertebrate midintestinal gland (“hepatopancreas”) is an evolutionary forerunner in the integration of immunity and metabolism. *Cell Tissue*, 358, 685–695.
- Sarkar, D. J., Sarkar, S. D., Das, B. K., Sahoo, B. K., Das, A., Nag, S. K., Manna, R. K., Behera, B. K., & Samanta, S. (2021). Occurrence, fate and removal of microplastics as heavy metal vector in natural wastewater treatment wetland system. *Water Research*, 192, 116853.
- Schilderman, P. A. E. L., Moonen, E. J. C., Maas, L. M., Welle, I., & Kleinjans, J. C. S. (1999). Use of Crayfish in Biomonitoring Studies of Environmental Pollution of the River Meuse. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 44, 241–252.
- Scholz, S., Richter, S., & Wirkner, Ch. S. (2018). Constant morphological patterns in the hemolymph vascular system of crayfish (Crustacea, Decapoda). *Arthropod Structure & Development*, 47, 248–267.
- Smrž, J. *Základy biologie, ekologie a systému bezobratlých živočichů*. (2013). V Praze: Karolinum, 122–122. ISBN: 978-80-246-2258-3
- Soliman, N. K., & Moustafa, A. F. (2020). Industrial solid waste for heavy metals adsorption features and challenges; a review. *Journal of Materials Research and Technology*, 9, 10235–10253.
- Svobodová, Z., Máchová, J., Vykusová, B., & Piačka, V. (1996). *Kovy v ekosystémech povrchových vod: edice metodik č. 49*. Vodňany: Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický Jihočeské univerzity, ISBN 80-85887-06-1.
- Szkoda, J., Źmudzki, J., Nawrocka, A., & Kmiecik, M. (2014). Toxic elements in free-living freshwater fish, water and sediments in Poland. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 58, 589–595.
- Štambergová, M., Svobodová, J., & Kozubíková–Balcarová, E. (2009). *Raci v České republice: [metodika AOPK ČR]*. Praha: Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, ISBN 978-80-87051-78-8.
- Tan, Y., Peng, B., Wu, Y., Xiong, L., Sun, J., Peng, G., & Bai, X. (2021). Human health risk assessment of toxic heavy metal and metalloid intake via consumption of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) from rice-crayfish co-culture fields in China. *Food Control*, 128, 108181.

- Tunca, E., Ucuncu, E., & Ozkan, A. D. (2013). Tissue Distribution and Correlation Profiles of Heavy-Metal Accumulation in the Freshwater Crayfish *Astacus leptodactylus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 64, 676–691.
- Vardhan, K. H., Kumar, P. S., & Panda, R. C. (2019). A review on heavy metal pollution, toxicity and remedial measures: Current trends and future perspectives. *Journal of Molecular Liquids*, 290, 111197.
- Varol, M., & Sünbül, M. R. (2018). Biomonitoring of Trace Metals in the Keban Dam Reservoir (Turkey) Using Mussels (*Unio elongatulus eucirrus*) and Crayfish (*Astacus leptodactylus*). *Biol Trace Elem Res*, 185, 216–224.
- Velíšek, J., Svobodová, Z., & Stará, A. (2018). *Vodní toxikologie pro rybáře*. Druhé aktualizované vydání. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 37–61. ISBN: 978-80-7514-069-2
- Wei, K., & Yang, J. (2015). Oxidative damage induced by copper and beta-cypermethrin in gill of the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113, 446–453.
- Zhao, D., Zhang, X., Li, X., Ru, S., Wang, Y., Yin, J., & Liu, D. (2019). Oxidative damage induced by copper in testis of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* and its underlying mechanisms. *Aquatic Toxicology*, 207, 120–131.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., & Jiang, G. (2008). Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*, 606, 135–150.

9 Přílohy

Příloha číslo 1: Fotografie orgánů raka signálního (foto autorka)



Příloha číslo 2: Okolí lokality Vodra (Google Maps)



Příloha číslo 3: Zdrojová tabulka pro grafy

	Ni mg/kg	Pb mg/kg	Cd mg/kg	Zn mg/kg	Cu mg/kg	Cr mg/kg
Vodra						
sediment	27,80	<MD	<MD	50,20	8,80	99,90
exoskelet	3,60	<MD	<MD	22,30	32,40	<MD
žábra	9,08	<MD	<MD	66,95	323,11	<MD
hepatopankreas	5,15	<MD	<MD	85,31	145,40	<MD
břišní svalovina	3,87	<MD	<MD	82,15	71,23	<MD
Babačka						
sediment	55,9	<MD	<MD	51,10	12,20	52,30
exoskelet	8,70	<MD	<MD	21,30	15,30	<MD
žábra	24,62	<MD	0,09	80,66	200,10	<MD
hepatopankreas	15,03	<MD	0,69	117,19	87,33	<MD
břišní svalovina	7,49	<MD	<MD	80,14	70,16	<MD
Prchal						
sediment	11,80	7,10	<MD	53,90	12,20	27,90
exoskelet	1,90	<MD	<MD	21,50	16,40	<MD
žábra	9,00	<MD	<MD	87,10	133,60	15,50
hepatopankreas	<MD	<MD	<MD	51,39	20,79	<MD
břišní svalovina	3,21	<MD	<MD	79,09	25,29	<MD

Obsah sledovaných kovů v tkáních a sedimentech, MD = mez detekce