

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Akumulace rizikových prvků v organismu hraboše polního
(*Microtus arvalis*) a myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*)
z oblastí s různou úrovní kontaminace**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Lenka Vořechovská

Obor studia: Výživa zvířat a dietetika

Vedoucí práce: prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.

Konzultant: Ing. Zuzana Čadková, DiS.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Akumulace rizikových prvků v organismu hraboše polního (*Microtus arvalis*) a myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*) z oblastí s různou úrovní kontaminace" 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 9.4.2019

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí práce prof. Ing. Jiřině Szákové, CSc. za cenné rady a pomoc při psaní této práce. Dále bych chtěla poděkovat konzultantce Ing. Zuzaně Čadkové, DiS. za pomoc při pokusu a odborné rady k tématu a Ing. Lukášovi Prausovi za vedení v laboratoři. V neposlední řadě bych ráda poděkovala celé mé rodině a přátelům, kteří mě při studiu významně podporovali a měli se mnou trpělivost.

Akumulace rizikových prvků v organismu hraboše polního (*Microtus arvalis*) a myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*) z oblastí s různou úrovní kontaminace

Souhrn

Cílem diplomové práce bylo posoudit míru kumulace rizikových prvků (As, Cd, Pb, Zn) v orgánech (játra, ledviny) hrabošovitých hlodavců, konkrétně druhů hraboš polní (*Microtus arvalis*) a myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*) v závislosti na úrovni kontaminace půdy. V našem experimentu byl v modelových podmínkách pozorován účinek kontaminované diety na kumulaci těchto prvků ve tkáních ledvin a jater a jejich vylučování v exkrementech pokusných zvířat.

Pokus byl proveden na 23 jedincích hraboše polního a 21 jedincích myšice křovinné. Zvířata byla odchycena na Mostecku a Sokolovsku a následně chována ve skupinách v boxech. Hraboši i myšice byli rozděleni do 3 skupin podle pohlaví a předem zvolené směsi krmiva lišící se příměsí kontaminované půdy s různými obsahy sledovaných prvků. Zemina pocházela z oblasti Příbramska. Navíc zvířata dostávala definované množství zelené biomasy, rovněž s rozdílným obsahem prvků. Krmivo jim bylo podáváno po dobu 3 měsíců *ad libitum*. Skupina pojmenovaná jako kontrolní, byla krmena standardní krmnou směsí a byla jí podávána nekontaminovaná jetelotravní směs. Skupiny s přidavkem kontaminované zeminy byly označeny „Jince“ a „Halda“ podle lokality, kde byla půda odebrána. Dále byl podáván těmto dvěma skupinám huseníček Hallerův (*Arabidopsis halleri*), tedy rostlina s vysokou schopností akumulace Cd a Zn.

Z rozboru obsahu prvků v játrech a ledvinách u hrabošů polních a myšic křovinných vyplývá závislost obsahu prvků v orgánech na jejich obsahu v dietě. Vysoké hodnoty rizikových prvků se v organismech zvířat ukládaly hlavně u variant s přidavkem kontaminované zeminy. Výjimku tvořil zinek, u kterého se zvýšený příjem neprojevil zvýšením jeho obsahu v játrech. Ukázalo se ale zvýšené vylučování zinku exkrementy u variant s vyšším příjmem tohoto prvku, podobně jako tomu bylo u ostatních sledovaných prvků. Potvrdilo se tedy, že akumulace sledovaných prvků v orgánech drobných zemních savců odráží úroveň kontaminace jejich diety.

Klíčová slova: hraboš polní, myšice křovinná, rizikové prvky, dietární příjem, půda

The accumulation of risk elements in organism of common vole (*Microtus arvalis*) and wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) originating from locations with different contamination level

Summary

The main objective of the master thesis was to assess accumulation rate of risk elements (As, Cd, Pb, Zn) in the organs (liver, kidneys) of small terrestrial rodents, particularly of common vole (*Microtus arvalis*) and wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) as affected by the soil contamination level. In our experiment, the effect of contaminated diet on the accumulation of these elements in liver and kidney tissues and the excretion of the targeted elements *via* excrements of the experimental animals was investigated in model conditions.

The experiment was performed on 23 common vole and 21 wood mouse individuals. Animals were caught in the areas of the surrounding of Most and Sokolov, and subsequently stabled in groups in boxes. Voles and mice were divided into 3 groups according to the experimental diet, where soils with different levels of targeted elements were added to the feeding mixture. The soils were collected in the mining and smelting area in the vicinity of Příbram city. Additionally, animals received a defined amount of green biomass, also with different content of elements. The feed was served for 3 months *ad libitum*. The group named as control group was fed with standard feeding mixture and uncontaminated grass-clover mixture. The group with addition of contaminated soil was marked as „Jince“ and „Halda“ according to the sampling point, where the soil was taken. Moreover, *Arabidopsis halleri*, the plant with large ability of Cd and Zn accumulation, was added to the diet of these two groups.

The results of the element contents in common vole and wood mouse liver and kidney tissues depended the contents of these elements on the diet. High value of risk elements in animal organisms were observed in the groups fed with the contaminated soil. The only exception was zinc, where increased dietary intake did not result in the increase of the Zn content in the animal liver. However, increased excretion of zinc in groups with higher intake of this element was reported, similarly as in the case of the other investigated elements. As a conclusion, it was proved that the accumulation of investigated elements in organs of small terrestrial mammals reflects the element levels in the diet.

Keywords: common vole, wood mouse, risk elements, dietary intake, soil

Obsah

1	Úvod	1
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	2
2.1	Vědecká hypotéza	2
2.2	Cíle práce	2
3	Přehled literatury	3
3.1	Drobní savci	3
3.1.1	Hraboš polní	4
3.1.2	Myšice křovinná	6
3.2	Rizikové prvky	7
3.2.1	Rizika prvků pro organismy	9
3.2.2	Arsen	11
3.2.3	Kadmium	13
3.2.4	Olovo	15
3.2.5	Zinek	16
3.3	Stavba a funkce jater a ledvin	17
3.3.1	Játra	17
3.3.2	Ledviny	18
4	Materiál a metody	19
4.1	Pokusná zvířata	19
4.2	Schéma pokusu a nutriční složení krmných směsí	20
4.3	Analytické metody	21
4.4	Statistické metody	21
5	Výsledky	21
5.1	Průměrná hmotnost jedinců na konci pokusu	21
5.2	Obsah prvků v exkrementech myšice křovinné (mg/kg)	23
5.2.1	Obsah arsenu v exkrementech myšice křovinné (mg/kg)	23
5.2.2	Obsah kadmia v exkrementech myšice křovinné (mg/kg)	25
5.2.3	Obsah olova v exkrementech myšice křovinné (mg/kg)	26
5.2.4	Obsah zinku v exkrementech myšice křovinné (mg/kg)	28
5.3	Obsah prvků v exkrementech hraboše polního (mg/kg)	30
5.3.1	Obsah arsenu v exkrementech hraboše polního (mg/kg)	30
5.3.2	Obsah kadmia v exkrementech hraboše polního (mg/kg)	32
5.3.3	Obsah olova v exkrementech hraboše polního (mg/kg)	34
5.3.4	Obsah zinku v exkrementech hraboše polního (mg/kg)	35
5.4	Obsah prvků v orgánech myšice křovinné (mg/kg)	37
5.4.1	Obsah arsenu v orgánech myšice křovinné (mg/kg)	37

5.4.2	Obsah kadmia v orgánech myšice křovinné (mg/kg)	39
5.4.3	Obsah olova v orgánech myšice křovinné (mg/kg)	40
5.4.4	Obsah zinku v orgánech myšice křovinné (mg/kg)	42
5.5	Obsah prvků v orgánech hraboše polního (mg/kg).....	43
5.5.1	Obsah arsenu v orgánech hraboše polního (mg/kg).....	43
5.5.2	Obsah kadmia v orgánech hraboše polního (mg/kg)	45
5.5.3	Obsah olova v orgánech hraboše polního (mg/kg)	46
5.5.4	Obsah zinku v orgánech hraboše polního (mg/kg)	48
6	Diskuze	50
7	Závěr	54
8	Seznam literatury	55

1 Úvod

Možný nepříznivý dopad zvýšených obsahů rizikových prvků uvolněných do životního prostředí těžbou a zpracováním rud nebo spalováním fosilních paliv byl již sledován z mnoha hledisek, kdy jedním z nejdůležitějších je potenciální dopad těchto prvků na zdraví lidské populace žijící v okolí těchto lokalit. Stejně významný je i dopad na volně žijící i hospodářská zvířata v dané oblasti. Hodnocení případných rizik těchto látek musí být založeno na znalosti jejich absorpce, metabolismu a toxikologického profilu. Drobní zemní savci jsou v trvalém kontaktu s kontaminovanou půdou, ale ve srovnání s hospodářskými či laboratorními zvířaty je potenciální dopad kontaminace prostředí na tyto organismy málo prozkoumán.

Chemické analýzy půdy, vzduchu a vody mohou poskytnout informace o koncentraci specifických sloučenin přítomných v životním prostředí. Nicméně tyto analýzy samy o sobě nejsou dostatečné pro posouzení dostupnosti a potenciální toxicity kovových znečišťujících látek pro volně žijící živočichy a člověka. Monitoring zvířat žijících ve znečištěném prostředí, schopných hromadit rizikové prvky ve svých tkáních, může poskytnout informaci o prostorovém či časovém vývoji kontaminace dané oblasti. Takové organismy mohou být použity jako bioindikátory znečištění životního prostředí (Talmage & Walton 1991).

Termín bioindikátor byl aplikován na živé organismy, jejichž charakteristiky jsou vhodné pro hodnocení dopadu znečištění životního prostředí, kdy podobná sledování nejsou proveditelná u jiných druhů nebo na životním prostředí jako celku (Landres et al. 1988). Na vyhodnocení příjmu kovových znečišťujících látek bylo použito široké spektrum druhů indikátorů (Funes et al. 2006; Berglund et al. 2007; Elia et al. 2007). V nedávných studiích bylo zjištěno, že vybrané druhy malých zemních savců, které žijí ve znečištěných oblastech mají vysokou schopnost bioakumulace prvků v různých tkáních (Milton et al. 2003; Damek-Poprawa & Sawicka-Kapusta 2004; Pereira et al. 2006; Sánchez-Chardi et al. 2007). Výsledky analýz těchto tkání pak poskytují informace o kontaminaci životního prostředí a potravinového řetězce chemickými látkami a mohou sloužit k odhadu potenciální expozice zvířat a lidí v dané oblasti a o případném riziku pro zdraví zvířat (National Research Council 1991).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

2.1 Vědecká hypotéza

Hypotéza: 1) Sledované rizikové prvky (As, Cd, Pb, Zn) mají kumulativní charakter a jejich obsahy v organismech zvířat se zvyšují s příjmem těchto prvků v dietě.

2.2 Cíle práce

Cílem této práce je posoudit míru kumulace rizikových prvků v orgánech hrabošovitých hlodavců, konkrétně druhů hraboš polní (*Microtus arvalis*) a myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*) v závislosti na úrovni kontaminace půdy.

3 Přehled literatury

3.1 Drobní savci

Malí savci se často používají jako bioindikátory znečištění, rezidua kontaminantů se stanovují buď v celém těle nebo v konkrétních orgánech (Martin & Coughtrey, 1982; Wren 1986; Talmage & Walton, 1991). Takové analýzy ukazují, že dochází k příjmu a akumulaci toxických látek u savců. Kvantifikace reziduí znečišťujících látek v tělních orgánech volně žijících savců je rovněž důležitá. Tyto údaje slouží k posouzení, jaké hladiny prvků by mohly způsobit smrt, nebo pokud je expozice méně závažná, nepříznivé účinky na fyziologické funkce daných zvířat (Ma & Talmage 2001; Shore & Douben 1994a). U prvků jako je kadmium (Cd) nebo olovo (Pb) je již dobře známo, že na kontaminovaných místech dochází k zapojení těchto prvků do potravinového řetězce prostřednictvím malých savců (Andrews et al. 1989; Hunter et al. 1987a,b,c).

Ekologické, fyziologické a praktické argumenty podporující používání malých savců v biologickém monitorování znečištění a hodnocení rizik jsou zejména tyto:

1. Malí savci se často považují za mezistupeň mezi nízkými a vysokými trofickými úrovněmi, protože se živí bylinami, ovocem a bezobratlými živočichy. Na druhé straně jsou důležitými položkami ve stravě masožravých ptáků a savců.
2. Malí savci se aktivně účastní bioturbace půdy (Metcheva et al. 2003).
3. Fyziologický argument podporující používání malých savců jako bioindikátorů expozice znečišťovatelů životního prostředí souvisí s jejich malou velikostí těla. Vzhledem k vysoké rychlosti metabolismu lze předpokládat vyšší stupeň expozice než u velkých savců, které mají pomalejší metabolismus (Ma & Talmage 2001; Sheffield et al. 2001).

Hraboš polní a myšice křovinná splňují kritéria dobrých bioindikátorů, a to:

1. jsou to druhy hojné a jsou snadno odchytné;
2. jsou v kontaktu s půdou během celého životního cyklu, vystavují se rizikovým prvkům především požíváním kontaminovaných potravin nebo půdy a absorpcí kůží;
3. jejich populace je obvykle dostatečně velká na to, aby sběr jednotlivců nevedl k závažnému a nepříznivému účinku na úroveň populace (National Research Council, 1991).

Schopnost akumulovat rizikové prvky v tkáních malých savců se může značně lišit mezi vzorky hlodavců a hmyzožravců, kteří obývají stejnou znečištěnou oblast (Ma & Talmage, 2001). Obsahy prvků ve tkáních u jednotlivých druhů se mohou dramaticky lišit i tehdy, kdy neexistují rozdíly ve vnější biologické dostupnosti, zejména při přijímání a požívání kontaminovaných sedimentů. Hmyzožravci jsou obvykle více exponováni kovům a akumulují více těchto elementů než všežravci a býložravci, což se vysvětluje jejich vysokou metabolickou rychlostí a pozicí na vrcholu potravního řetězce (Talmage & Walton 1991; Ma & Talmage 2001). Tato zjištění jsou relevantní pro ekotoxikologické studie, protože transport prvků z nižších na vyšší trofické úrovně může končit vstupem těchto prvků do potravinového řetězce lidí.

Ačkoli absorpce některých prvků inhalací je účinnější než absorpce gastrointestinálním traktem, orální expozice při požití kontaminované potravy je dominantním zdrojem příjmu prvků u volně žijících savců (Hunter et al. 1987 a; Ma 1989). Přenos prvků z prostředí do suchozemských savců však závisí na mnoha abiotických a biotických faktorech, jako je období (např. teplota, vlhkost a fotoperioda), lokalita, druh, strava a věk (Hunter et al. 1987a; Lopes et al. 2002; Viegas-Crespo et al. 2003).

Měření reziduí znečišťujících látek u savců vyvolává praktické a etické otázky. Přímý odběr orgánů z těla vyžaduje rozsáhlý program lovu a zahrnuje zabíjení zvířat. Takové masivní odebírání vzorků může za určitých okolností ohrozit studie populační dynamiky. Pro některé rizikové prvky však může být možné odhadnout potenciální příjem prvků u malých savců pomocí stanovení biologicky dostupných podílů prvků v půdě spíše než přímo analýzou tělesných orgánů. Například Talmage & Walton (1991) prokázali, že v případě Cd a Pb byla na řadě kontaminovaných míst pozitivní korelace mezi biologicky dostupnými podíly prvků v půdě obsahy těchto prvků v organismu jedinců myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*). Byla také prokázána pozitivní korelace mezi obsahy Cd v půdě a v játrech sýslů skalních (*Spermophilus variegatus*) (Sharma & Shupe, 1977).

3.1.1 Hraboš polní

Hraboš polní (*Microtus arvalis*) je nejčastější druh hlodavců ve střední Evropě (Jacob & Tkadlec 2010). Vývoj populace u druhů hrabošů je ovlivněn sezónními změnami jak v habitatu, tak i ve stravě (Martinet & Spitz 1971; Haken & Batzli 1996; Von Blanckenhagen et al. 2007), kdy nízká kvalita a množství potravy vede ke snížení velikosti

těla a k místním výkyvům v počtu jedinců na dané lokalitě (Cole & Batzli 1978; Briner et al. 2007).

Hraboši patří do řádu *Rodentia*, čeledě *Muridae* a podčeledi *Arvicolinae* (Wilson & Reeder 2005). Dnes populace hrabošů žijí ve většině oblastech kontinentální Evropy, od severního Španělska až po Blízký východ a střední část Ruska (Haynes 2003; Shenbrot & Krasnov 2005). Izolované populace se nacházejí na Pyrenejském poloostrově, na Normanských ostrovech v Lamanšském průlivu a na ostrovech Orkney u západního pobřeží Skotska (Berry & Rose 1975; Haynes 2003). Je známo, že obývají i zemědělsky využívané oblasti. Tělesná hmotnost dospělých hrabošů polních se pohybuje v rozmezí od 25 do 30 g, ale za optimálních podmínek může tělesná hmotnost přesáhnout 50 g u samců a 40 g u samic. Žijí v mělkých norách zřídka více než 30 cm hluboko (Stein 1958), vybavených jednoduchými tunelovými drahami (Brügger et al. 2010). Dráhy spojují tunelové vchody s plochami na povrchu, kde se vyskytuje potrava. Hraboši polní mohou být aktivní ve dne i v noci, s aktivitou synchronizovanou na úrovni populace podle východu a západu slunce, s dalšími aktivitami v intervalech přibližně 3 hodin (Daan & Slopsema 1978). Pokud se povětrnostní podmínky zhorší, může být činnost posunuta hlavně do dne. Hraboš polní je především travní typ, který je dobře přizpůsoben stepním stanovištím. Primárními přírodními stanovišti jsou louky, půdy vyňaté ze zemědělské produkce, květinové lány, travnaté konce polí, pole s vojtěškou a jetelem (Le Louarn & Quéré 2003). Preferuje obývat nenarušenou krátkou vegetaci a vyskytuje se také v lesních porostech, a i v jiných travnatých stanovištích. Hraboši polní se také vyskytují ve významném počtu v sekundárních stanovištích, ale obvykle pouze během přemnožení populace. Sekundárními stanovišti se rozumí orná pole s obilím, řepkou olejnou, hrachem, fazolemi, mrkví a příležitostně cukrovou řepu a brambory (Stein 1958). Pravděpodobnost přežití hrabošů v primárních stanovištích, kde hojněji hnízdí, je větší než v sekundárních stanovištích. Například měsíční míra přežití v primárních stanovištích v zimě činí zhruba 0,5-0,6, zatímco v orné půdě je téměř nulové (Jacob & Halle 2001). V případě přemnožení populace mohou hraboši napadnout sekundární stanoviště, jestliže je překročena nosnost (kritická hustota populace) primárních stanovišť. Kapacita vysoce kvalitního primárního stanoviště může činit až několik set hrabošů polních na hektar (Briner et al. 2007). Hraboši polní žijí v různých lokalitách, což vede k velmi variabilnímu složení potravy. Heroldová et al. (2004) zjistili, že ve stravě hrabošů polních se vyskytuje až 79 různých druhů rostlin. Hraboši polní, stejně jako další malí obratlovci, jsou důležitým přínosem pro agroekosystémy. Jsou důležitým zdrojem potravy pro více než 75 druhů predátorů, kteří

se živí hraboši v severní a střední Evropě (Halle 1993). Hraboši polní také přispívají k šíření semen rostlin, provzdušňování půdy, obdělávání půdy a hnojení. Navíc jejich nory a tunelové systémy poskytují útočiště pro jiné malé savce, plazy, obojživelníky a členovce (Martin 2003). Nicméně v dobách přemnožení mohou běžní hraboši poškozovat plodiny a také mohou přenášet onemocnění na člověka, hospodářská zvířata nebo domácí zvířata (Jacob et al. 2014). Pasoucí se hospodářská zvířata mohou být ovlivněna potravní konkurencí s hraboši. Během přemnožení populace může být dokonce třeba předčasně převést dobytek z pastvin do stájí, což mimo jiné zvyšuje náklady na chov. Tam, kde je poškození porostů rozsáhlé, je třeba, aby byly plodiny zaorány. To představuje značné náklady nejen na provoz strojů, ale zejména ztrátu zemědělské produkce v dané sezóně. Problémem je také další aktivita zvířat. Hraboši mohou například poškozovat různá zařízení kousáním (například překusováním kabelů), intenzivní hrabání pak může negativně ovlivnit silniční krajnice a hráze. (Jacob et al. 2014).

3.1.2 Myšice křovinná

Myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus* L.) je velmi přizpůsobivý druh hlodavce, který se vyskytuje ve většině evropských zemí (Corbet & Southern 1991) a je často používán pro sledování znečištění prostředí rizikovými prvky (Shore 1995; Erry et al. 2000; Topashka-Ancheva et al. 2003). Jedná se o důležitý druh evropských malých savců, ale paradoxně byla studována mnohem méně než její americký protějšek *Peromyscus maniculatus* (Miller 1958).

Myšice křovinné se běžně vyskytují v zemědělských oblastech, jako jsou pole, okraje polí, remízky a farmářské dřeviny (Loman 1991; Kotzageorgis & Mason, 1997). Kromě toho jsou důležitými položkami kořisti pro řadu ptačích a suchozemských predátorů a v neposlední řadě jsou samy konzumenty bezobratlých (Flowerdew, 1991). Samec myšice křovinné ve volné přírodě běžně váží okolo 30 g a samice okolo 20 g (Attuquayefio et al. 1986).

González et al. (2008) stanovili koncentrace vybraných prvků (Zn, Cu, Mn a Cr) v játrech, ledvinách a mozku jedinců myšice křovinné odchycených na 5 místech s různou úrovní kontaminace půdy těmito prvky. Byl prokázán vztah mezi počtem odchycených jedinců a průkazností výsledků statistického testu používaného k odhalení významných rozdílů mezi průměrnými koncentracemi kovů v orgánech myšice křovinné.

Studie v případě myšice křovinné vykazují, že mladí jedinci akumulují více rizikových prvků než dospělí a akumulace prvků s věkem klesá (Lopes et al. 2002; Sánchez-Chardi et al. 2007). Mladé myšice křovinné mají vyšší potřebu energie než dospělí, a proto mají vyšší příjem

potravin a tím neúmyslně i vyšší příjem prvků. Dospělé myšice také vykazují nižší intestinální absorpci určitých kovů (jako je Cr), což může s věkem dále vysvětlovat pokles (Sánchez-Chardi et al. 2007). Některé studie uvádějí, že u myšic křovinných se objevily odchylky v akumulaci prvků mezi pohlavími (Lopes et al. 2002; Scheirs et al. 2006; Beernaert et al. 2007), zatímco jiní autoři tyto rozdíly nezaznamenali (Sánchez-Chardi et al. 2007). Tato variabilita akumulace prvků v závislosti na věku a pohlaví u malých savců může být dále ovlivněna různými podmínkami prostředí, expozicí prvku a výživou (Gall et al. 2015).

3.2 Rizikové prvky

Kov, který má relativně vysokou hustotu (uvádí se objemová hmotnost $> 5 \text{ g/cm}^3$) a je toxický v malém množství, se označuje jako „těžký kov“, např. arsen (As), olovo (Pb), rtuť (Hg), kadmium (Cd). Některé stopové prvky jsou také známé jako „těžké kovy“, např. měď (Cu), selen (Se) a zinek (Zn). Tyto prvky jsou nezbytné pro udržení tělesného metabolismu, ale jsou toxické při vyšších koncentracích. Správnější je tedy označení „rizikové prvky“. Rizikové prvky mohou do těla vstoupit zejména prostřednictvím potravy, pitné vody a vzduchu. Nadměrné množství rizikových prvků je škodlivé, neboť tyto destabilizují ekosystémy v důsledku jejich bioakumulace v organismech a způsobují toxické účinky na biotu a u většiny živých organismů dokonce smrt (Govind & Madhuri 2014).

Rizikové prvky jsou předmětem environmentálního zájmu s nejvyšší prioritou, protože nejsou biologicky odbouratelné a přetrvávají v životním prostředí. Vzhledem k jejich široké distribuci na celém světě a rozsáhlému používání, dochází nevyhnutelně k vystavení zvířat i lidí působení těchto prvků. Kovy, i při relativně nízkých koncentracích, způsobují narušení metabolismu zvířat i lidí, změnu hematologických parametrů a chemického složení krve a aktivaci nebo naopak inhibici enzymů (Karmakar et al. 2000; Adham et al. 2002; Rogival et al. 2006; Sánchez-Chardi et al. 2009).

V těžbě rud kovů jsou cílové nerosty často doprovázeny minerály obsahujícími rizikové prvky, které nemusí mít hospodářské využití. Ty se pak koncentrují během rafinace surové rudy v odpadním materiálu, a tak se vyskytují ve zvýšených koncentracích v kontaminovaném odpadu, hlušině (Hopkin, 1989).

Po ukončení těžby jsou výsypky s obsahem hlušiny rekultivovány, nebo mohou být přirozeně kolonizovány místními rostlinami a zvířaty, aby se eventuálně spojily s okolní

krajinou. V obou případech je rozvíjející se ekosystém vystaven zvýšeným obsahům prvků obsaženým v hlušinovém substrátu (Milton & Johnson 1999).

Mezi nejvíce poškozené oblasti v České republice patří Příbramsko, kde ke kontaminaci oblasti došlo především atmosférickou depozicí rizikových prvků při těžbě a zpracování olova. Důlní a hutní činnosti v této oblasti mají vliv na zastoupení dalších prvků v půdě, a to především As, Cd a Zn. Vysoký obsah rizikových prvků v půdě je umocněn také díky zvýšenému obsahu v geologickém podloží. Kromě bezprostředního okolí zdroje znečištění (Kovohutě Příbram, a. s.) se vyskytuje vyšší koncentrace nežádoucích prvků i v naplaveninách povodí Litavky, kde se v dřívějších dobách vyskytovaly proplachovny rud. Kontaminovaná půda se nalézá zejména v místech starých ekologických škod, např. v okolí Kovohutí Příbram je kontaminováno cca 4 000 ha zemědělské půdy olovem, kadmíem a arsenem (“Stav životního prostředí v jednotlivých krajích České republiky v roce 2001” 2002). Mobilita prvků v půdě klesá v pořadí Cd> Ni> Zn> Cu> Pb (Hornburg & Brümmer 1993).

Koncentrace prvků v půdě, organismech a jejich stravě poskytují informace o jejich pohybu v životním prostředí, akumulaci a možných toxikologických účincích (Torres & Johnson 2001). Vstup prvků různých částí potravinového řetězce je ovlivněn mnoha faktory, jako například:

1. **Druh prvku.** Transport neesenciálních kovů, jako je Cd a Pb, se může v důsledku účinné homeostatické regulace esenciálních prvků v organismech značně lišit od esenciálních prvků, jako je Zn a Cu (Sheffield et al. 2001).
2. **Fyzikálně-chemické a biologické vlastnosti půdy.** Celková koncentrace kovu v půdě nemusí nutně znamenat její dostupnost pro rostliny a jiné půdní organismy, které v něm žijí (Sharma & Shupe 1977). Projevuje se zde vliv chemické sloučeniny prvku, půdního pH a obsahu organické hmoty v půdě (Salomons & Förstner 1984).
3. **Druh rostliny.** Zda rizikový prvek z půdy vstoupí do rostliny, nerozhodují jen půdní vlastnosti, ale i rostlina sama. Přístupnost rizikových prvků rostlinám je závislá na vazbě na půdní složky. Rostliny nejjednodušeji přijímají z půdního roztoku ionty nebo cheláty, popř. organické sloučeniny. Příjem prvků a jejich transformace v rostlině je ovlivněna enzymatickými procesy, koncentrací a formou výskytu, dále projevem nedostatku a toxicity, iontovou kompeticí a interakcí. Z literárních zdrojů lze určit pořadí rizikových prvků podle biopřístupnosti pro rostliny, avšak toto pořadí může mít různé odchylky podle působení dalších faktorů (Tlustoš et al. 2005). Pořadí uvádějí např. Harrison & Chirgawi (1989): Zn> Cd> Ni> Cr> Pb (někdy Cd> Zn). Rostliny přijímají nejvíce živin a ostatních

látek kořeny, k příjmu mohou sloužit i ostatní části rostlin, zejména listy (Tlustoš et al. 2005).

4. **Druh živočicha.** Přenos kovů na suchozemské savce závisí na faktorech jako je druh, jeho výživa, období a věk (Hunter et al., 1987 a).
5. **Způsob příjmu prvku.** Ačkoli absorpce některých kovů inhalací je účinnější než z gastrointestinálního traktu, ústní expozice při požití kontaminovaných potravin je dominantním zdrojem kovů pro volně žijící savce (Hunter et al. 1987 a, Ma 1989). Orální expozice se může projevit také přímým požitím kontaminované půdy v důsledku hrabání a péči o tělo (Beyer et al. 1994).

3.2.1 Rizika prvků pro organismy

Imunitní systém je ovlivněn toxikologickou aktivitou mnoha polutantů, včetně rizikových prvků (Bernier et al. 1995). Rizikové prvky mohou způsobit imunomodulaci závislou na dávce, narušením jemně vyvážených mechanismů regulace imunitních buněk. V závislosti na konkrétním kovu, jeho koncentraci, biologické dostupnosti a řadě dalších faktorů může být výsledkem této modulace buď imunosuprese nebo imunitní zesílení (Khangarot et al. 1999; Krocova et al. 2000; Lawrence & McCabe 2002).

Imunotoxikologický výzkum vlivů rizikových prvků na suchozemské organismy, převážně savce, je omezen především na studium laboratorních potkanů a myši v kontrolovaných laboratorních podmínkách. Expozice a akumulace prvků se ale často liší mezi laboratorními a polními podmínkami nebo mezi jednotlivými druhy, kvůli rozdílům ve stravě, chování nebo přítomnosti přírodních stresorů a směsí znečišťujících látek v životním prostředí (Shore & Douben 1994a; Forsyth 2001).

Homeostatická regulace je pravděpodobně narušena při vysokých úrovních expozice a v těchto specifických případech se může vyskytnout biomagnifikace. Většina druhů nemůže regulovat bioakumulaci neesenciálních kovů, jako je kadmium a olovo (Rainbow 2002). Tyto organismy mohou zabránit toxicitě tím, že účinně ukládají kovy v netoxických formách (tj. navázány na kovy vázající proteiny, jako je například metalothionein).

Dva hlavní omezující faktory perorální biologické dostupnosti rizikového prvku savcím organismem jsou rozpuštění v gastrointestinálním (GI) traktu a absorpce ve střevě. Rozpuštění kovu závisí na vlastnostech samotné kontaminující látky, environmentální matrici, ve které je obsažena, a na složení GI tekutiny. Biologická přístupnost je termín, který definuje množství

kovu, které se rozpouští v GI tekutině (Ruby et al. 1999). Po rozpuštění v GI kapalině je intestinální absorpce omezena speciací kovu (např. interakcí s volnými ionty nebo komplexací s potravinami, exogenními chemikáliemi nebo GI komponentami) a motilitou GI. V definici perorální biologické dostupnosti se předpokládá, že byla překročena biologická membrána (střevní sliznice); proto bude biologická dostupnost nižší než biologická dostupnost stanovená extrakcí v simulované GI tekutině (Ellickson et al. 2001).

Bylo zjištěno, že jak lidé, tak zvířata jsou denně vystaveni působení rizikových prvků. Rizikové prvky jako Hg a lehké kovy, jako je Al, vstupují do organismu člověka a zvířat každý den ve vakcínách, ve vodě a v potravinách. Rizikové prvky se také ukládají v dlouhých kostech hospodářských zvířat kvůli použití olovnatých paliv v automobilech. Toxicita rizikových prvků (např. z kontaminace pitné vody) u domácích zvířat může nastat při vysokých koncentracích okolního vzduchu v blízkosti zdrojů emisí nebo při konzumaci kontaminovaných potravin. Tyto kovy jsou toxické, protože jsou biologicky akumulovány v biologických organizmech. Toxicita jednotlivých rizikových prvků se liší v závislosti na dávce a době expozice, druhu, pohlaví a faktorech životního prostředí a výživě. Vyskytují se velké rozdíly mezi jednorázovou vysokou expozicí a dlouhodobou expozicí menším dávkám. Znečištění životního prostředí rizikovými prvky je způsobeno jak přirozeným množstvím kovů v zemské kůře, tak lidskou činností. Toxické účinky obvykle spojené s chronickou expozicí rizikovým prvkům jsou mutagenita, karcinogenita, teratogenita, imunosuprese, špatný stav těla a poškozená reprodukce (Govind & Madhuri 2014).

Rizikové prvky mohou mít toxické účinky na různé orgány. S rostoucími obsahy rizikových prvků v životním prostředí tyto prvky vstupují do biogeochemického cyklu. Do těla se rizikové prvky dostávají do dýcháním, absorpcí kůží a trávicím traktem. Rizikové prvky v elementární formě nejsou zcela absorbovány, zatímco organokovové formy jsou lipofilní a mohou brzy vstoupit přes membrány, a dokonce překonat hematoencefalickou bariéru (BBB, obranný systém nervového systému). Rizikové prvky po absorpci do těla mohou být široce distribuovány v různých orgánech, včetně žláz a centrální nervové soustavy. Některé rizikové prvky se ukládají se do zubů a kosterních systémů. Obecně platí, že všechny rizikové prvky mají toxické účinky. Rizikové prvky se také stávají toxickými pro enzymatický systém a zvyšují produkci "volných radikálů" a konkurují esenciálním prvkům ("Canine Toxicovigilance" 2019). Konkurence s živinami vede k nedostatku těchto živin, což má za následek zhoršení zdravotního stavu. (Govind & Madhuri 2014).

Potenciální dostupnost prvků přijatých v půdě zdokumentovali Mascolo et al. (1999), kteří přidávali potkanům do diety jílovitý materiál s různým obsahem prvků a analyzovali moč potkanů krmených tímto materiálem. Potkani krmení jílem vykazují zvýšení koncentrací stopových prvků v různých orgánech v následujícím pořadí: ledviny > játra > srdce > mozek. Bylo také zřejmé, že zvýšení obsahu stopových prvků v jílech se promítl také v obsahu prvků v orgánech (Mascolo et al. 2004).

Metabolické změny způsobené chronickým vystavením znečišťujícím látkám mohou ovlivnit základní funkce bioty, jako je reprodukce nebo délka života. Posouzení kvality životního prostředí prostřednictvím hodnocení strukturálních změn způsobených znečištěním je proto zvláště důležité v chráněných oblastech. Ačkoli je environmentální kvalita takových zón často vysoká, dlouhodobé činnosti znečišťujících látek, jako jsou skládky, mohou rušit, modifikovat nebo ničit ekosystémy, a tím jsou nevhodné pro volně žijící zvířata (Sánchez-Chardi et al. 2009).

3.2.2 Arsen

Arsen (As) je rozšířený prvek, který se přirozeně vyskytuje v mnoha různých minerálních formách, vyskytujících se ve horninách a půdách, jakož i v mořských vodách a biotech. Specifické lokality však vykazují neobvykle vysoké koncentrace v důsledku geologických anomálií nebo lidských aktivit (Eisler 2000). Zejména historická i moderní těžba a zpracování kovových rud vedly ke zvýšené koncentraci As ve svrchních vrstvách půdy ve velkých oblastech po celém světě (Drouhot et al. 2014).

Zinečnato – olovené rudy s obsahem sfaleritu (ZnS) a galenitu (PbS) jsou doprovázeny železitými pyrity, které obsahují arsen jako kontaminující látku ve formě arsenopyritu (FeAsS). Ačkoli se přirozeně vyskytuje ve všech abiotických složkách biosféry, antropogenní vstup arsenu do ekosystémů se odhaduje na 82 000 tun za rok (Nriagu & Pacyna 1988), přičemž přibližně 10 % pochází z důlních hlušín.

Arsen, i když je za určitých okolností toxický, některé studie naznačují jeho užitečnost pro živočichy (Anke 1986), a dokonce u potkanů byly prokázány symptomy nedostatku tohoto prvku (McDonald 2011). Arsen je distribuován v tkáních a tělesných tekutinách savců, ale je zvláště koncentrován v kůži, ve vlasech a nehtech (Anke 1986).

Je známo, že arsen je se dostává do potravinového řetězce (Erry et al. 2000; Saunders et al. 2010); nicméně je málo známo, jak se arsen chová v koloniích hrabošů žijících

v přírodním prostředí. Různorodé účinky na zdraví mohou vyplývat z různých sloučenin arsenu, které jsou přijímány nebo jsou metabolizovány organismem, a to od poměrně neúčinného (arsenobetain) až po velmi toxické účinky (oxid arsenitý). Obecně se předpokládalo, že methylace anorganického arsenu u savců je mechanismem detoxikace, protože methylované arseničnany jsou méně toxické než anorganické arseničnany (Moore et al 1997). Dále se zdá, že methylace arsenu podporuje jeho vylučování. V laboratorních studiích se však ukázalo, že methylace anorganického arsenu vede k tvorbě vysoce toxické monomethylarsonové kyseliny (Petrick et al. 2001; Csanaky & Gregus 2002).

Zdá se tedy, že methylace arsenu podporuje vylučování arsenu, ale také vede k vysoce toxickým metabolitům, které mohou nepříznivě ovlivnit organismus (Petrick et al. 2000; Styblo et al. 2000). Lepší znalost sloučenin arsenu přítomných v půdách je důležitá ze tří hlavních důvodů: první je, že úplné porozumění speciace arsenu v hraboších pomůže při určování rizika pro ně jako důsledek expozice arsenu. Dalším je porozumět riziku, které představuje arsen, přítomný v hraboších, vůči vyšším trofickým organismům, které je loví. A konečně znalost sloučenin arsenu přítomných v hraboších může poskytnout užitečné informace o metabolických procesech arsenu u malých savců. Jelikož pouhá přítomnost arsenu neukazuje škodlivé účinky na organismus, biomarkery jsou užitečné při určování, zda arsen a jeho metabolity mají nepříznivý účinek. Biomarkery jsou kvantifikovatelné změny biochemických, fyziologických nebo behaviorálních stavů uvnitř buněk, tkání nebo celých jedinců v důsledku expozice k antropogenním stresorům (Timbrell 2002). Studie tradičně při sledování účinků kontaminující látky na organismus používají měřitelné účinky, jako jsou změny parametrů reprodukce nebo pokles populace. Jakmile jsou ale tyto účinky měřitelné, zřejmě je příliš pozdě na ochranu tohoto organismu nebo ekosystému. Pokroky v technologii a toxikologii se zaměřily na výzkum biomarkerů subcelulárních, které mohou indikovat účinky expozice kontaminované látky v organismu dříve, než se projeví zmíněné účinky. Dva takové biomarkery pro arsen jsou subcelulární koncentrace glutathionu (GSH) v játrech organismu a počet mikrojadér (MN) v červených krvinkách. Celulární GSH koncentrace jsou redukovány arsenem třemi způsoby: vazbou na arsenitan; oxidací kyslíkových radikálů vyvolaných arsenem; a oxidací As na arseničnan (Thomas et al. 2001). Snížené koncentrace GSH byly spojeny se zvýšeným oxidativním stresem vedoucím k poškození buněk. Přítomnost MN v cytoplasmě buňky znamená, že DNA nebyla během dělení buněk začleněna do jádra; tento účinek je způsoben genotoxicitou poškození kmenových buněk. Výskyt MN souvisí s expozicí arsenu (Basu et al. 2004); zvláště zvýšení počtu MN byla zjištěna poté, co lidské subjekty konzumovaly arsen

v pitné vodě. Laboratorní studie s jinými savci prokázaly, že přítomnost arsenu může vést k poškození DNA (Kitchin 2001; Wanibuchi et al. 2004) a snižování hladin GSH dále zvyšuje míru poškození DNA způsobeného jinými karcinogeny (Shen et al. 2008; LeBlanc et al. 2009). Pokud jsou oba dva biomarkery (snížení GSH a zvýšení MN) přítomny, dokazuje to, že expozice arsenu ovlivňuje organismus na sub-celulární úrovni (Saunders et al. 2010).

Mnoho údajů o toxicitě As je k dispozici ze studií na laboratorních zvířatech, u kterých byly pozorovány respirační, imunitní nebo reprodukční problémy, poškození buněk, rakoviny, a dokonce i úmrtí (Gomez-Camirero et al. 2001). Případy akutní otravy As byly také hlášeny od roku 1800 u domácích i některých divokých zvířat (Eisler 2000; Rattner 2009). Údaje o chronické otravě u volně žijících živočichů jsou však vzácné, pravděpodobně v důsledku metabolické detoxikace a rychlé exkrece As (Eisler 1988a).

3.2.3 Kadmium

Kadmium je toxický přechodný ("těžký") kov, který má široké spektrum nežádoucích účinků. Kadmium má extrémně dlouhý biologický poločas rozpadu, který v podstatě činí tento prvek kumulativním toxinem. Kadmium se akumuluje primárně v játrech a ledvinách, kde je navázán na metalothionein (MT), což je protein s nízkou molekulovou hmotností vážající kov s vysokou afinitou k danému kovu, což je považováno za detoxikační mechanismus. Toxické účinky kadmia často souvisí s jeho zapojením do metabolických procesů, jejichž součástí je zinek a ošetření zinkem často snižuje nebo odstraňuje nežádoucí účinky kadmia (Goering et al. 1995).

Metabolismus kadmia má několik jedinečných aspektů (Klaassen 1981; Goering et al. 1995) a absorpce kadmia vykazuje značnou závislost způsobu příjmu. Pouze asi 5% dané dávky kadmia se absorbuje z gastrointestinálního traktu, zatímco absorpce kadmia z plic je velmi vysoká, až 90% dávky se absorbuje a je uloženo v dolních cestách dýchacích. Jakmile je kadmium absorbováno, rychle se vylučuje z krve a koncentruje se v různých tkáních (Waalkes 2000).

Kadmium v játrech a ledvinách obvykle tvoří většinu celkové tělesné zátěže (Klaassen 1981; Goering et al. 1995; Klaassen et al. 1999). Akumulace Cd v játrech a ledvinách souvisí se schopností těchto orgánů produkovat velké množství MT. Přítomnost buněčného MT výrazně snižuje nežádoucí účinky kadmia (Klaassen et al. 1999). Nicméně, pravděpodobně v důsledku vazby na MT, je kadmium velmi pomalu eliminováno z těla (Waalkes 2000).

Kadmium dále mění metabolismus vápníku (Ca), což vede až k osteolýze (Kido et al. 1993). Je-li organismus vystaven po dlouhou dobu Cd, pak tento stav může způsobit dysfunkci ledvin. Vysoká expozice Cd může způsobit obstrukční plicní onemocnění a rakovinu plic. Kožní defekty (osteomalacie, osteoporóza) byly také hlášeny u lidí a zvířat. Kromě toho může také způsobit zvýšený krevní tlak a onemocnění myokardu u zvířat (Govind & Madhuri 2014).

Cd odvozuje své toxikologické vlastnosti z chemické podobnosti se Zn (základní mikroživina pro rostliny, zvířata a lidi). Vyrábí se jako nevyhnutelný vedlejší produkt těžby Zn (nebo příležitostně Pb), protože je přítomno jako příměs v rudách těchto prvků. Cd je relativně snadně recyklovatelné. Používá se převážně v Ni/Cd bateriích, dobíjecích nebo sekundárních zdrojích energie, které vykazují vysoký výkon, dlouhou životnost, nízkou údržbu a vysokou odolnost vůči fyzickému a elektrickému namáhání. Pokovování Cd poskytuje dobrou odolnost proti korozi, zejména u extrémně namáhaných součástek, jako je námořní a letecká doprava, kde je vyžadována vysoká bezpečnost nebo spolehlivost. Používá se také jako pigment, stabilizátor pro PVC, slitiny a elektronické sloučeniny. Jako nečistota je přítomno například ve fosfátových hnojivech, detergentech a rafinovaných ropných produktech (Govind & Madhuri 2014).

Shore (1995) prokázal, že existují významné vztahy mezi obsahy Cd a Pb v půdě a v játrech a ledvinách některých malých savčích druhů. Tyto výsledky podporují výsledky dřívější práce na Cd (Sharma & Shupe 1977; Talmage & Walton 1991), které naznačovaly pozitivní vztah mezi obsahy Cd v půdě a v některých orgánech suchozemských savců. Výsledky studií demonstrují možnost použití údajů o obsazích prvků v půdě k předpovědi průměrných koncentrací Cd a Pb v tělesných orgánech malých savců (Sharma & Shupe, 1977). Přestože tato predikce ignoruje variaci akumulace kovů mezi jednotlivci z důvodu rozdílů ve věku (Hunter et al., 1989) nebo jiných faktorů, neovlivňuje to užitečnost tohoto přístupu. Potenciální účinky Cd a Pb na volně žijící savce jsou tedy obvykle hodnoceny na základě průměrné hladiny koncentrací prvků v populaci (Shore & Douben, 1994a,b) a tato hodnota je předpovězena z údaje o koncentraci těchto prvků v půdě. Zda je extrapolace zbytků z půdy organismu malých savců také možná pro základní stopové prvky, které mohou být toxické, pokud jsou nahromaděny v přebytku, není známo. Údaje o půdě ale nemusí být dobrým prediktorem hladin reziduí u savců, pokud jde o prvky, u nichž se biologická dostupnost nebo způsob expozice výrazně liší mezi jednotlivými oblastmi (Walton 1987).

3.2.4 Olovo

Hlavní využití olova je výroba baterií, opláštěných kabelů, pájek, ložisek, nábojů, stínících záření, plastů, keramiky, a dokonce i kosmetiky (Stewart 1994). Stejně jako u ostatních kovů došlo v průmyslové revoluci k významnému nárůstu spotřeby olova a s tím souvisejícího znečištění. Těžbou a tavením kovových rud vedlo k tomu, že například ve Velké Británii bylo kontaminováno přibližně 4000 km² zemědělské půdy (Thornton, 1981). Pb patří mezi nejvíce recyklované neželezné kovy, takže jeho sekundární produkce stabilně roste (Govind & Madhuri 2014). Obavy z vlivu technogenního olova na životní prostředí způsobily, že olovo je jednou z nejvíce zkoumaných znečišťujících látek. Zvláštní pozornost byla věnována otázkám životního prostředí a lidského zdraví, které se týkají dopadu přísad alkyl-olova k motorovým palivům, zejména neurologických a vývojových vad vystavených dětem žijícím v oblastech s hustou dopravou (Lansdown et al. 1986). Ekosystémová distribuce olova byla zkoumána v souvislosti s těžbou a zpracováním olovených rud (Andrews et al. 1989; Purcell et al. 1992). Důlní hlušiny, odpad ze zpracování minerálních rud, představují výjimečný zdroj kontaminace prostředí tímto prvkem, protože jiné antropogenní nebo přírodní zdroje vzácně způsobují takové zvýšené hladiny olova v substrátu (Andrews et al. 1989). Většina výzkumu znečištění půdního olova pocházejícího z kovoprůmyslu se soustředila na atmosférickou depozici Pb na normální půdu (Storm et al. 1994; Rabitsch 1995). Koncentrace olova ve tkáních volně žijících malých savců jsou velmi závislé na dietě, což znamená, že expozice je způsobena přenosem olova v potravních řetězcích (Ma 1996).

Pb je jeden z nejvíce toxických rizikových prvků pro zvířata. Většina rostlinných druhů absorbuje Pb z půdy jen nepatrně (Kabata-Pendias & Pendias 2010) a proto se očekává, že býložravé druhy žijící ve neznečištěných oblastech vykazují nízkou míru akumulace Pb. Lidská aktivita však vedla k větší mobilitě rizikových prvků v životním prostředí (Nriagu 1990), včetně akumulace Pb na povrchu rostlin v důsledku depozice sedimentujícího prachu. Proto mohou být herbivorní živočichové vystaveni vážné kontaminaci Pb. Olovo se akumuluje v kostních, ledvinových a jaterních tkáních a ve svalové tkáni se nacházejí jen malé množství (Eisler 1988b; Kálás et al. 2000). Vzhledem k tomu, že svalová tkáň tvoří většinu masožravé stravy a biologicky začleněná Pb se sotva přenáší nahoru v potravním řetězci (Custer et al. 1984), býložravé druhy mohou být náchylnější k otravě Pb než dravé druhy (Kálás et al. 2000).

Intoxikace Pb vyvolává širokou škálu fyziologických, biochemických, genetických a behaviorálních dysfunkcí u živých organismů (Ercal et al. 1996; Güreer et al. 1998). Ačkoli

nebyl zatím definován žádný jediný mechanismus pro toxicitu Pb, nedávné studie naznačily, že poškození vyvolané Pb může nastat v důsledku tendence Pb k narušení náchylné prooxidační / antioxidační rovnováhy, která existuje v organismu savců (Ercal et al. 1996; Pande et al. 2001). Ve skutečnosti byly oxidační stresy zahrnuty do poškození tkáně spojeného s Pb v játrech, ledvinách, mozku a dalších orgánech (Patra et al. 2001). Na druhou stranu Pb stimuluje oxidaci lipidů a změny fyzikálních vlastností membrán přesunem železa (FeII) z membránových vazebných míst (Adonaylo & Oteiza 1999). Nedávné studie rovněž naznačily, že Pb může způsobit poškození DNA a následně pak v buňkách pozorujeme zvýšený počet MN a chromozomové aberace (Johnson 1998; Silbergeld 2003).

Člověk přijímá Pb hlavně potravou; jiné zdroje však mohou být důležitější jako je voda v oblastech s Pb potrubím, vzduch v blízkosti zdrojů emisí, půda, prach a laky v starých domech. Ze vzduchu se Pb dostává do potravy prostřednictvím usazování kontaminovaného suchého a mokrého spadu na plodinách a půdě (Govind & Madhuri 2014).

Expozice Pb může způsobit mnoho účinků v závislosti na hladině a délce expozice Pb. Vyvíjející se plod a dítě jsou citlivější než dospělí. Vysoké hladiny Pb mohou vést k toxickým účinkům u lidí, které způsobují problémy při syntéze hemoglobinu (Hb), nežádoucí účinky na ledviny, gastrointestinální trakt, klouby a reprodukční systém a akutní nebo chronické poškození nervového systému (Govind & Madhuri 2014).

3.2.5 Zinek

Tento ekologicky všudypřítomný kov je nezbytným stopovým prvkem, který je přítomen v zemské kůře při průměrné koncentraci 230 mg/kg (rozsah <20 až 2000 mg/kg) (Shacklette & Boerngen 1984). V organismu savců se zinek podílí na enzymatických funkcích, syntéze bílkovin a metabolismu uhlohydrátů (Hammond & Beliles 1980).

Zinek je základní stopový prvek. Je nezbytný pro všechny druhy živých organismů. Je součástí více než 200 enzymů a ovlivňuje funkce důležité pro život. Jeho toxicita je nízká a pro jednotlivé druhy zvířat nebyla dosud přesně stanovena. Obecně platí, že mladší jedinci jsou považováni za citlivější vůči zvýšenému množství zinku. Z terapeutického hlediska je důležité, že zinek nepatří ke kumulativním toxinům na rozdíl kadmia, rtuti a olova (Jančová et al. 2006).

Zinek je nezbytná živina potřebná pro růst a vývoj rostlin, která hraje významnou roli v mnoha fyziologických procesech (Chang & Page 2000; Kabata-Pendias & Pendias 2010).

Přesto se tento kov stává při vysokých koncentracích v půdě fyto toxickým a způsobuje metabolické poruchy (Alva et al. 2000; Chang & Page 2000; Kabata-Pendias & Pendias 2010). Zinek je často přidáván do živočišné stravy jako doplněk nebo růstový faktor a má pozitivní vliv na růst a reprodukci hospodářských zvířat (Li et al. 2005). Nicméně ho zvířata špatně asimilují, takže až 90 % požitého Zn se vylučuje výkaly a močí (Aldrich et al. 2002; Nicholson et al. 2003). V důsledku toho se Zn dostává do půdy hnojené chlévským hnojem, což může vést ke zvýšení obsahu Zn v půdách (L'Herroux et al. 1997; Chang & Page 2000; Nicholson et al. 2003). Koncentrace Zn v půdě vyšší než 450 mg/kg by mohla způsobit kontaminaci půdy a fyto toxicitu (Sands & Tarasofsky 1995). Navíc, když se zvířata živí dietou s koncentrací více než 500 mg Zn/ kg, mohou trpět řadou zdravotních problémů (Gardiner et al. 1995).

Z tohoto důvodu Evropská unie (EU) zavedla řadu směrnic pro stanovení prahových hodnot pro rizikové prvky v zemědělských půdách, a tím snížit riziko environmentálních problémů. Maximální množství Zn, které lze přidávat do zemědělské půdy v daném roce, činí 30 kg/ ha/rok.

3.3 Stavba a funkce jater a ledvin

3.3.1 Játra

Játra jsou "prvním" orgánem, který se potýká se vstřebáváním potravy, která je distribuována přes krevní oběh. Na rozdíl od ledvin existuje větší regulace olova v játrech u malých savců a ukazuje se, že koncentrace olova v játrech zpravidla nepřekračují hodnotu 15 mg/kg, i když obsahy Pb v ledvinách u stejného jednotlivého zvířete dosahovaly až 60 mg/kg (Shore & Douben 1994a).

Játra jsou největší žlázou a jedním z nejdůležitějších orgánů, který funguje jako centrum metabolismu živin a vylučování odpadních metabolitů (Ozougwu, & Eyo, 2014). Jeho primární funkcí je kontrola toku a bezpečnosti látek absorbovaných z trávicí soustavy před distribucí těchto látek do systémového oběhového systému. Úplná ztráta jaterní funkce by mohla vést k smrti během několika minut, což by prokázalo velkou důležitost jater (Ozougwu 2017).

Játra jsou hlavním orgánem odpovědným za detoxikaci a metabolizaci různých exogenních i endogenních sloučenin (Maddrey 2005). Játra mění exogenní a endogenní chemické látky na méně toxické nebo méně biologicky aktivní. Tento proces, nazvaný metabolická detoxikace, snižuje intestinální nebo renální tubulární reabsorpci potenciálně toxických látek a usnadňuje jejich vylučování střevem a ledvinami. Tímto způsobem se

metabolizuje nebo detoxikuje alkohol, barbituráty, amfetaminy, steroidy a hormony (včetně estrogenů, aldosteronu, antidiuretického hormonu a testosteronu), akumulace a nežádoucí účinky. Ačkoli metabolická detoxikace je obvykle ochranná, v některých dobách jsou produkty metabolické detoxifikace stávají toxiny (Ozougwu 2017). Enzymy zodpovědné za tyto účinky jsou primárně produkovány v hepatocytech a rozděleny do dvou skupin fáze I a fáze II. Enzymy fáze I jsou převážně z rodiny genů P-450, jejichž obecnou funkcí je přidat polární skupiny, jako jsou hydroxylové skupiny, na lipofilní molekuly, čímž je činí více hydrofilní (Park et al. 1995). Hlavní funkcí enzymů fáze II je kovalentně připojit ve vodě rozpustnou skupinu k polární skupině přidané enzymy fáze I. Obvykle jsou takové molekuly cukry nebo peptidy, jako je kyselina glukuronová nebo glutathion. To obvykle činí sloučeninu méně reaktivní. Příklady enzymů fáze II jsou glutathion-S-transferáza a UDP-glukuronosyltransferáza. Pokud je reakce fáze II zhoršena z některých důvodů nebo indukována reakce fáze I, může to zanechat organismu přebytek reaktivních molekul z reakce fáze I, což může být škodlivé. To může nastat v případě hepatotoxicity indukované léčivou látkou, když se tvoří reaktivní metabolity mateřské sloučeniny, což následně negativně ovlivňuje buněčné funkce (Liu et al. 2004).

Metalothionein v játrech je peptidická sloučenina, která má vysoký obsah cysteinu, 28 % (Winge & Rajagopalan 1972). Tento protein je umístěn v rozpustné části buněčného materiálu, který byl izolován z různých druhů zvířat a byl uváděn, že váže kadmium, zinek, měď a rtuť (Fowler et al. 1987). Jedna zajímavá vlastnost tohoto proteinu spočívá v tom, že během podávání Cd krysám, kov vyvolá tvorbu metalothioneinu a bude jím izolován. Pravděpodobně je to mechanismus, kterým se Cd přednostně akumuluje v játrech a ledvinách. Nicméně jestliže obsah jaterní Cd dosáhne určité úrovně, pak se Cd nachází nejen vázané na metalothionein, ale také ve frakcích s vyšší molekulovou hmotností. To znamená, že pokud jsou vazebná místa metalothioneinu nasycena kadmii, nadbytečné Cd se může v organismu projevit toxicky (Winge & Rajagopalan 1972).

3.3.2 Ledviny

Ledvina je párový orgán uložený retro peritoneálně, na povrchu obalený vazivovým pouzdrem. Parenchym ledviny se skládá z vlastní žlázy (exkretční) složky, tvořené nefrony, a systému intrarenálních vývodních cest, složených ze sběracích kanálků a papilárních vývodů. Parenchym je možno rozdělit na kůru a dřev. Základní morfologickou a funkční jednotkou ledviny je nefron. Počet nefronů v ledvině mezidruhově kolísá. Nefron se skládá z ledvinového tělíska a z močového kanálku (Novotný 1966).

Četné studie zabývající se kumulací rizikových prvků v parenchymatózních orgánech živočichů žijících v zamořeném prostředí prokázaly, že ledviny, jako druhé v pořadí po játrech, výrazně hromadí těžké kovy. Tato jejich kumulace vede následně ke změnám struktury ledvin a jejich funkce. Bersényi et al. (1999) při pokusech na králících zjistili, že v ledvinách se ze všech kovů nejvíce kumuluje kadmium a olovo. Míru střádání rizikových prvků v závislosti na přijímané formě zkoumali Radike et al. (2011). V ledvinách myši zjistili nejvyšší hladiny kovu u zvířat, která přijímala soli kovů rozpuštěné ve vodě, zatímco kovy podávané v krmivu se kumulovaly u zvířat v podstatně menší míře. Podle Hamilton et al. (1982) se nejvíce deponuje rizikových prvků kumuluje v proximálních tubulech. Ke stejnému závěru dospěli i Mullins & Fuentealba (1998). Jiní autoři popsali kromě proximálních tubulů další části nefronu se zrnny reakčního produktu. Hanafy & Soltan (2004) našli deponata v glomerulech, Sonne et al. (2006) v glomerulech a distálních tubulech. Z degenerativních změn byly po expozici těžkými kovy autory nejčastěji detekovány nefropatie (Hamilton et al. 1982, Buchman et al. 2001).

Podobně jako v játrech, i v ledvinách, těžké kovy působí nepříznivě na biochemické procesy, které modifikují. Z literatury je známo, že těžké kovy způsobují poruchu proteosyntézy, což v ledvinách společně se změnou míry produkce enzymů v juxtaglomerulárních buňkách popsali Bracken & Sharma (1985). Také v ledvinách jsou fyziologicky syntetizovány metalothioneiny, které např. Mullins & Fuentealba (1998) prokázali v ledvinách potkana. Pomocí imunohistochemické reakce detekovali deponata rizikových prvků v epitelových buňkách proximálních tubulů.

4 Materiál a metody

4.1 Pokusná zvířata

Pokus byl proveden na 23 jedincích hraboše polního a 21 jedincích myšice křovinné. Zvířata byla odchycena na Mostecku a Sokolovsku a následně chována ve skupinách v boxech v experimentální části DEP České zemědělské univerzity v Praze na Suchdole se stálou teplotou v rozmezí 23–25 °C a přirozenými denními světelnými podmínkami. Hraboši i myšice byli rozděleni do 3 skupin podle pohlaví a předem zvolené směsi krmiva lišící se příměsí zeminy, které jim bylo podáváno po dobu 3 měsíců *ad libitum*. Dále byl zvířatům podáván huseníček Hallerův (*Arabidopsis halleri*), tedy rostlina s vysokou schopností akumulace Cd a Zn, a nekontaminovaná jetelotravní směs. Chovné boxy byly každý týden čištěny. Při této

příležitosti byla zvířata zvažena, byly jim z podestýlky vybrány exkrementy a navážena nová krmná dávka krmiva. Po ukončení experimentu byli hraboši a myšice při usnutí pomocí přípravku chloroform a následně usmrceni vykrvením. Odebrány byly zvolené orgány (ledviny a játra), které byly zamrazeny při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a následně lyofilizovány. V rámci přípravy na chemickou analýzu byly orgány i vzorky krmných směsí homogenizovány pomocí laboratorního mlýnku.

4.2 Schéma pokusu a nutriční složení krmných směsí

Skupina kontrolní byla krmena tzv. kontrolní směsí bez přidání zeminy. Další skupiny se pak v jednotlivých příměších zeminy lišily. Skupina Halda, byla krmena kontrolní směsí s příměsí zeminy z Příbramska z Haldy. Skupina Jince, byla krmena kontrolní směsí s příměsí zeminy z Příbramska z Jinců. Dále byl zvířatům podáván huseníček Hallerův a jetelotravní směs. Kontrolní skupina se krmila jetelotravní směsí z okolí pokusné stáje. Skupině Halda byl podáván huseníček Hallerův z oblasti Halda a skupině Jince byl podáván huseníček Hallerův z oblasti Jinců. Složení krmných směsí dokumentuje tabulka 1.

Tab. 1 Obsah prvků v krmné směsí a v rostlinách pro hraboše a myšice (mg/kg); Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr \pm směrodatná odchylka; varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně nelišily v $p < 0,05$; <označuje hodnoty pod mezí detekce stanovení

	As	Cd	Pb	Zn
	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
kontrola granule	<	$0,031 \pm 0,001$	<	$94,9 \pm 4,9$
Jince granule + zemina	$10,8 \pm 1,2$	$1,03 \pm 0,20$	$86,3 \pm 2,2$	$191 \pm 2,5$
Halda granule + zemina	$61,4 \pm 0,3$	$4,22 \pm 0,02$	446 ± 28	$759 \pm 66,2$
kontrola zelené krmení	$0,035 \pm 0,003$	$0,009 \pm 0,005$	$0,331 \pm 0,179$	$39,8 \pm 0,104$
Jince huseníček Hallerův	$2,42 \pm 0,05$	$41,1 \pm 0,6$	$39,8 \pm 0,4$	6689 ± 132
Halda huseníček Hallerův	$17,3 \pm 1,9$	$66,4 \pm 6,6$	117 ± 17	11170 ± 737

4.3 Analytické metody

Celkové obsahy prvků ve tkáních, exkrementech a krmných směsích byly stanoveny po předchozím rozkladu na mokré cestě v uzavřeném systému s fokusovaným mikrovlnným ohřevem Discover SPD-Plus (CEM Inc., U.S.) podle metodiky, kterou publikovali Kelly et al. (2013): 0,5 g vzorku bylo naváženo do křemenných zkumavek, bylo přidáno 10 ml koncentrované HNO₃ (67 %, Analytika, čistota Analpure) a za teploty 200 °C, maximálního příkonu 300 W a maximálním tlaku 28 bar rozloženo. Následně byly vzorky kvantitativně převedeny do 40 ml polyethylenových zkumavek a uloženy při laboratorní teplotě do doby měření.

Pro stanovení obsahu sledovaných prvků v připravených roztocích použit hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS), přístroj Agilent 7700x, Agilent Technologies Inc., v HeHE (high energy helium) modu s využitím automatického dávkovače ASX-500, tříkanálové peristaltické pumpy a zmlžovače typu MicroMist. Podmínky měření byly následující: průtok plazmového argonu 15.0 l/min, průtok pomocného argonu 0.9 l/min, průtok helia kolizní celou 8 l/min.

4.4 Statistické metody

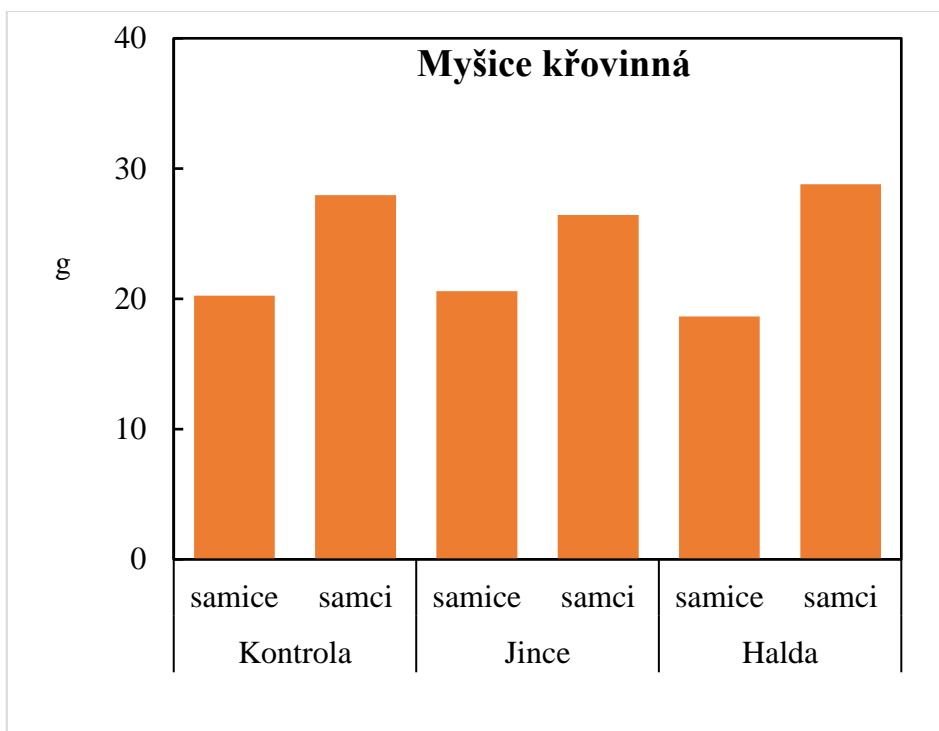
Analytická data byla zpracována pomocí softwaru **Statistica 12 Cz.** Byla použita jednoduchá analýza rozptylu (ANOVA) na hladině významnosti $\alpha = 0.05$, doplněná Scheffého post-hoc testem.

5 Výsledky

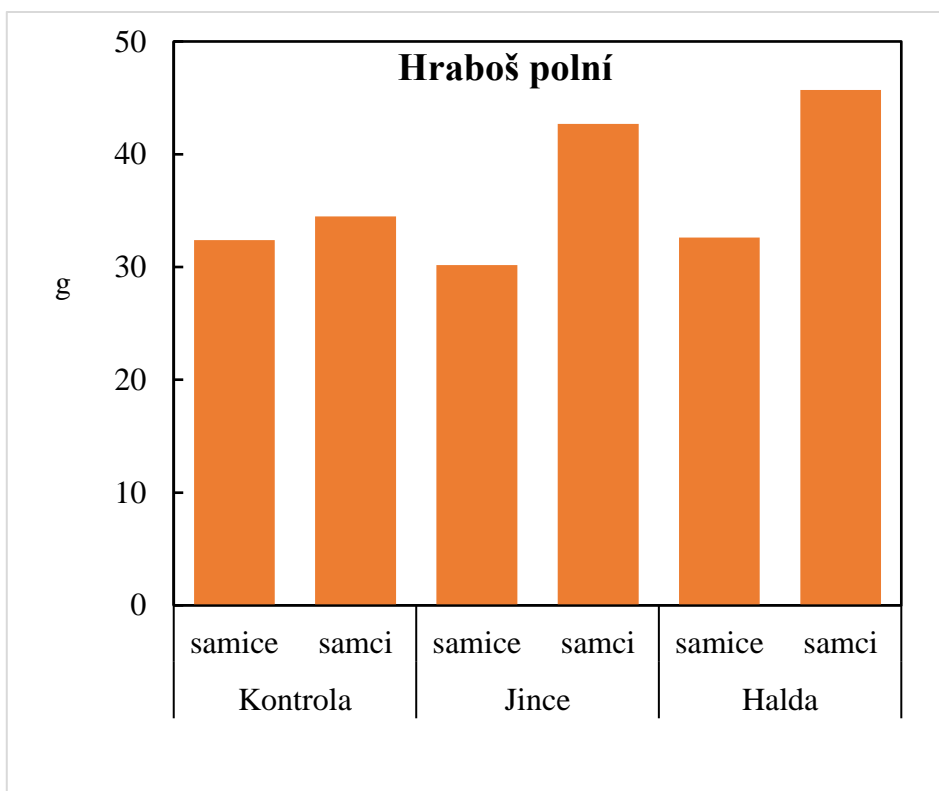
5.1 Průměrná hmotnost jedinců na konci pokusu

Graf 1. ukazuje průměrné hodnoty hmotnosti samců a samic myšic křovinných na konci pokusu. Hmotnosti se nijak zásadně nelišily mezi skupinami a ve všech skupinách měli vyšší hmotnost samci oproti samicím.

Graf 1. průměrná hmotnost myšic křovinných (g)



Graf 2. průměrná hmotnost hrabošů polních (g)



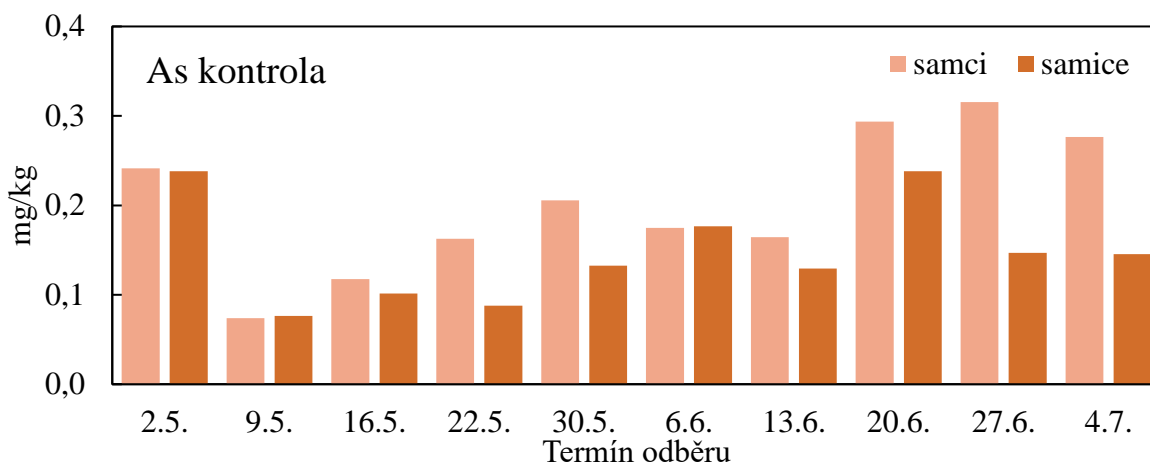
Graf 2. znázorňuje průměrnou hmotnost pokusných jedinců hrabošů polních na konci pokusu. Můžeme zde vidět, že vyšší váhy dosahovaly ve všech skupinách samci oproti samicím. Nejtěžší byli samci ze skupiny Halda, poté samci ze skupiny Jince a dále samci z kontrolní skupiny. U samic napříč skupinami nebyly podobné rozdíly patrné.

5.2 Obsah prvků v exkrementech myšice křovinné (mg/kg)

5.2.1 Obsah arsenu v exkrementech myšice křovinné (mg/kg)

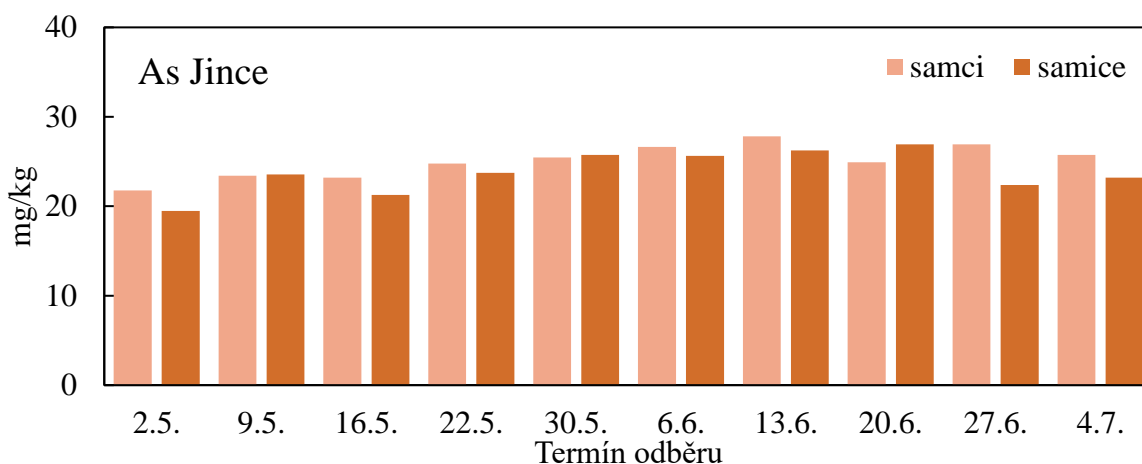
Koncentrace arsenu v exkrementech kontrolní skupiny myšic křovinných je ukázána v grafu 3., skupiny Jince v grafu 4. a skupiny Halda v grafu 5. Odběr exkrementů probíhal každý týden po dobu 3 měsíců (2.5.- 4.7.2018).

Graf 3. Obsah arsenu v exkrementech kontrolní skupiny myšice křovinné (mg/kg)



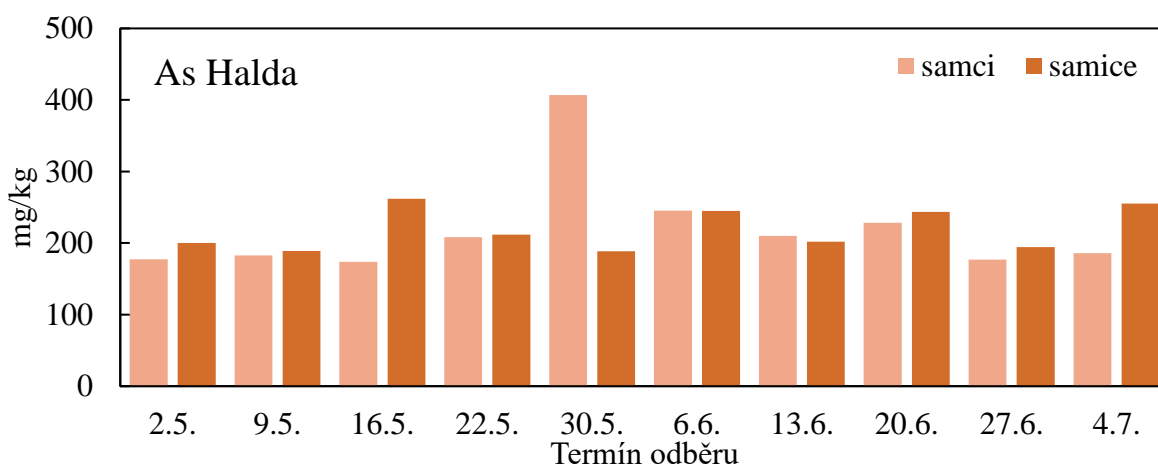
V grafu 3. je znázorněný obsah arsenu v exkrementech u kontrolní skupiny myšice křovinné v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah arsenu se pohybuje jen ve zlomcích miligramů na kilogram a jeho tendence je lehce stoupající. Také na grafu můžeme vidět, že více arsenu vylučovali samci oproti samicím.

Graf 4. Obsah arsenu v exkrementech skupiny Jince myšice křovinné (mg/kg)



V grafu 4. je zaznamenán obsah arsenu v exkrementech myšice křovinné u skupiny Jince v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah arsenu se pohybuje již v desítkách mg/kg oproti kontrolní skupině, kdy koncentrace arsenu nepřekročila hodnotu 0,5 mg/kg. Můžeme na grafu dále vidět, že rozdíl mezi pohlavími byl nepatrný.

Graf 5. Obsah arsenu v exkrementech myšice křovinné skupiny Halda (mg/kg)

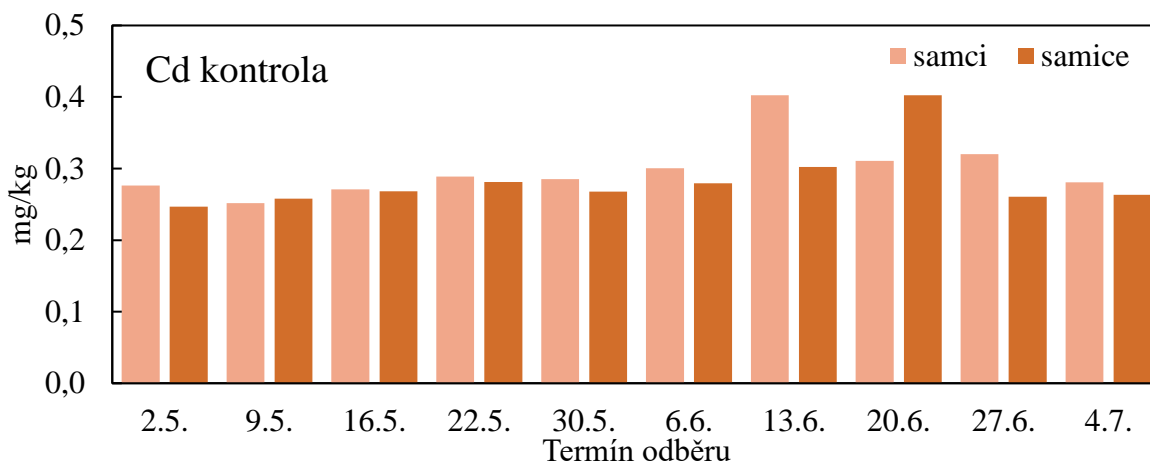


Graf 5. znázorňuje obsah arsenu v exkrementech u skupiny Halda myšice křovinné v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah arsenu se pohybuje ve stovkách mg/kg a jeho tendence je lehce stoupající. Je to velký rozdíl, oproti kontrolní skupině, kde byl obsah arsenu pouze v desetinách mg/kg a skupině Jince, kde se pohyboval v řádech desítek mg/kg. Také na grafu můžeme vidět, že ve větší míře vylučovaly arsen samice.

5.2.2 Obsah kadmia v exkrementech myšice křovinné (mg/kg)

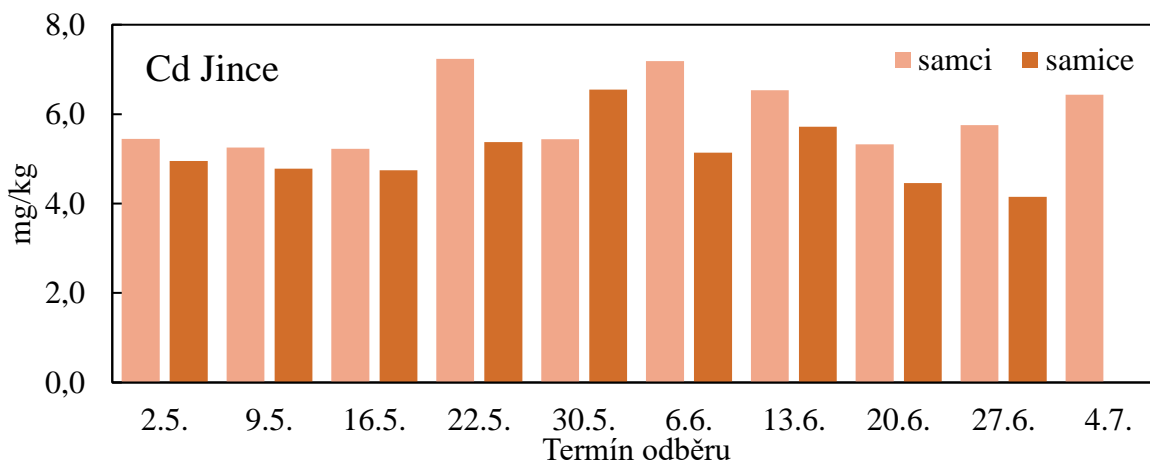
Koncentrace kadmia v exkrementech kontrolní skupiny myšic křovinných je ukázána v grafu 6., skupiny Jince v grafu 7 a skupiny Halda v grafu 8. Odběr exkrementů probíhal každý týden po dobu 3 měsíců (2.5.- 4.7.2018).

Graf 6. Obsah kadmia v exkrementech kontrolní skupiny myšice křovinné (mg/kg)



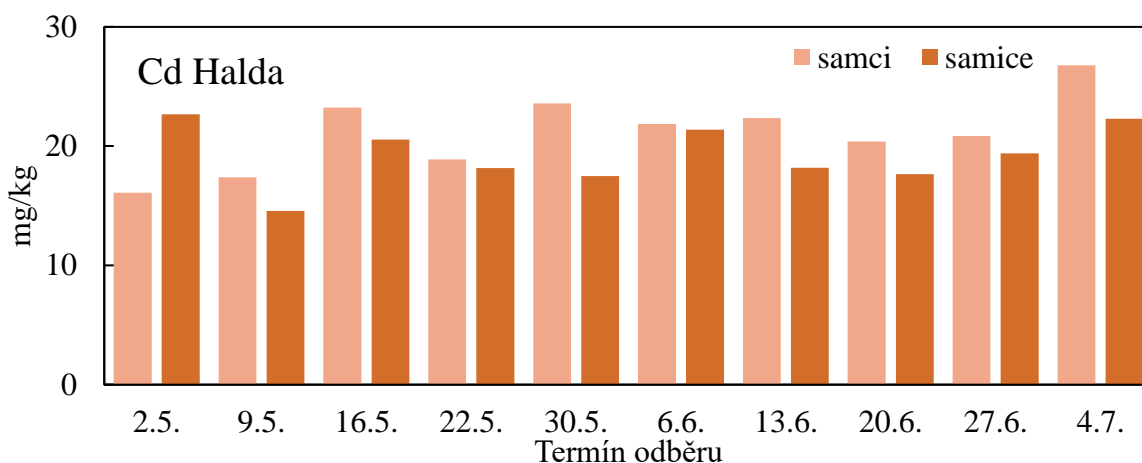
V grafu 6. je znázorněný obsah kadmia v exkrementech u kontrolní skupiny myšice křovinné v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah kadmia nepřekročil hodnotu 0,5 mg/kg a jeho tendence je lehce stoupající. Také na grafu můžeme vidět, že více kadmia vylučovali samci oproti samicím.

Graf 7. Obsah kadmia v exkrementech skupiny Jince myšice křovinné (mg/kg)



V grafu 7. je zaznamenán obsah kadmia v exkrementech u skupiny Jince myšice křovinné v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah kadmia se pohybuje již v jednotkách mg/kg oproti kontrolní skupině, kdy koncentrace kadmia byla o řád nižší. Můžeme na grafu dále vidět, že rozdíl v rámci pohlaví byl výrazný. Více kadmia vyloučili samci oproti samicím. Průběh obsahů prvků v exkrementech v průběhu pokusu se podobá konkávní parabole.

Graf 8. Obsah kadmia v exkrementech skupiny Halda myšice křovinné (mg/kg)

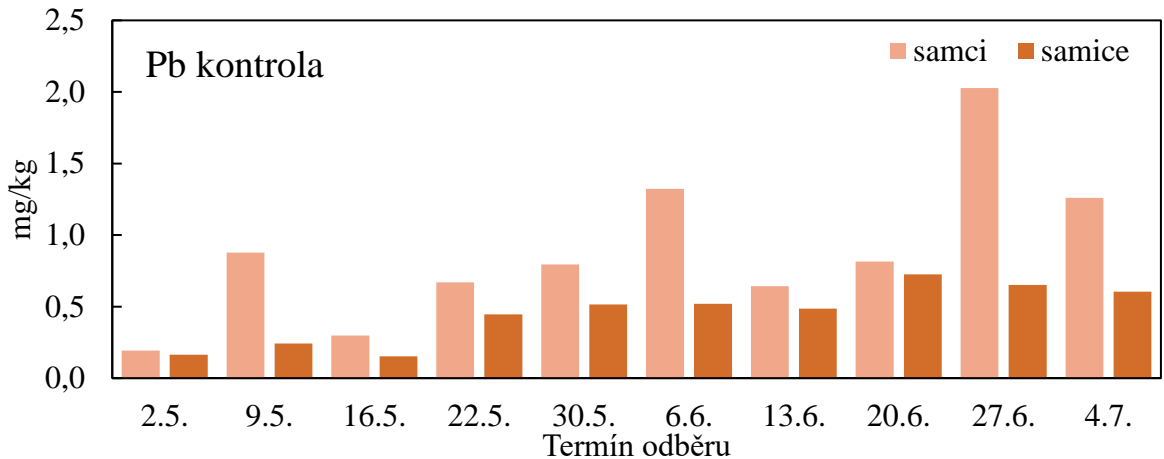


Graf 8. znázorňuje obsah kadmia v exkrementech myšice křovinné u skupiny Halda v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah kadmia se pohybuje v desítkách, je tedy o řád vyšší než u skupiny Jince a jeho tendence je lehce stoupající. Také na grafu můžeme vidět, že ve vyšší míře vylučovali kadmium samci ve srovnání se samicemi.

5.2.3 Obsah olova v exkrementech myšice křovinné (mg/kg)

Koncentrace olova v exkrementech kontrolní skupiny myšic křovinných je ukázána v grafu 9., skupiny Jince v grafu 10. a skupiny Halda v grafu 11. Odběr exkrementů probíhal každý týden po dobu 3 měsíců (2.5.-4.7.2018).

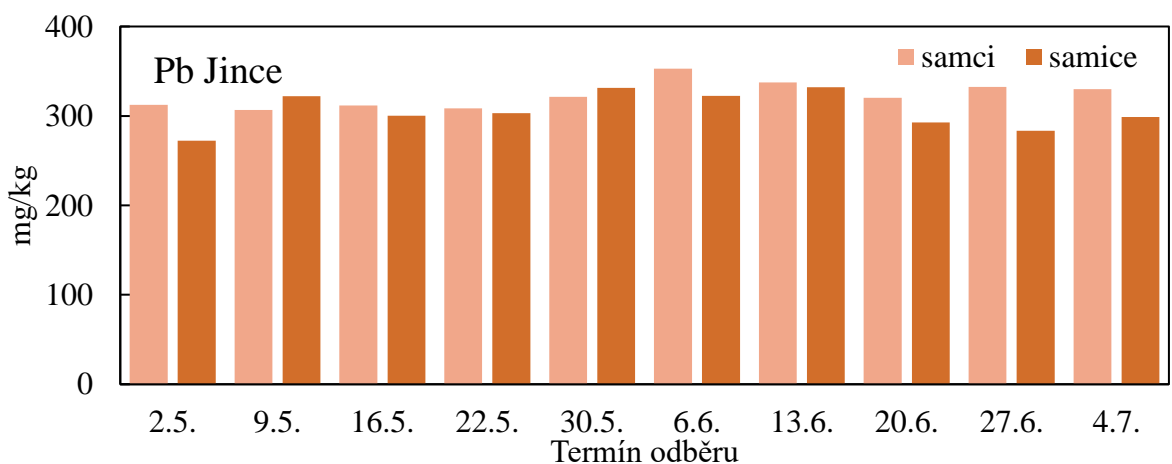
Graf 9. Obsah olova v exkrementech kontrolní skupiny myšice křovinné (mg/kg)



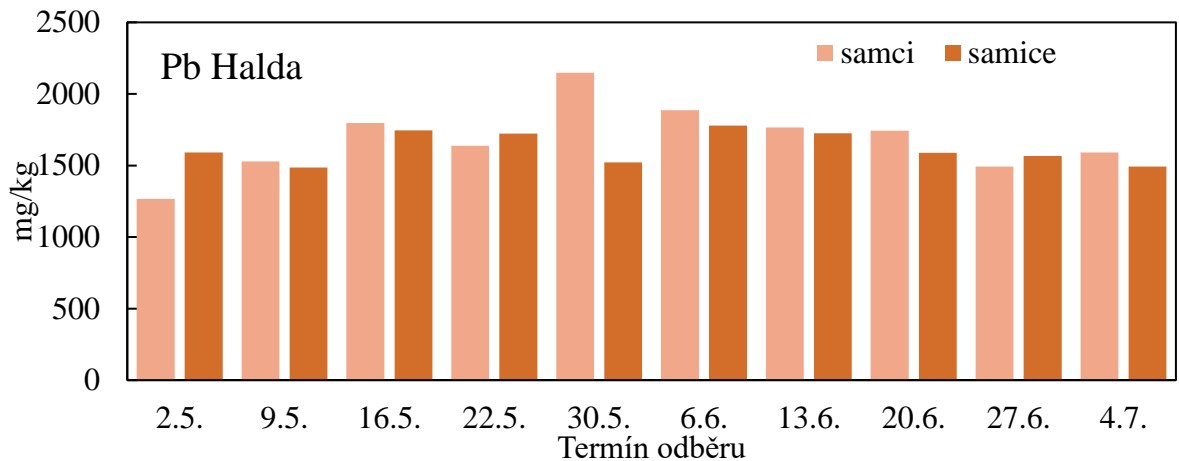
V grafu 9. je znázorněný obsah olova v exkrementech u kontrolní skupiny myšice křovinné v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah olova nepřekračuje hodnotu 2,5 mg/kg a jeho tendence je v průběhu pokusu stoupající. Také na grafu můžeme vidět, že více olova vylučovali samci oproti samicím.

V grafu 10. je zaznamenán obsah olova v exkrementech u skupiny Jince myšice křovinné v období 2.5.-4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah olova se pohybuje již ve stovkách mg/kg oproti kontrolní skupině, kdy koncentrace olova dosahovala pouze jednotek mg/kg. Můžeme na grafu dále vidět, že rozdíl v rámci pohlaví nebyl zvláště výrazný, ve vylučování olova exkrementy dominují samci nad samicemi.

Graf 10. Obsah olova v exkrementech skupiny Jince myšice křovinné (mg/kg)



Graf 11. Obsah olova v exkrementech skupiny Halda myšice křovinné (mg/kg)

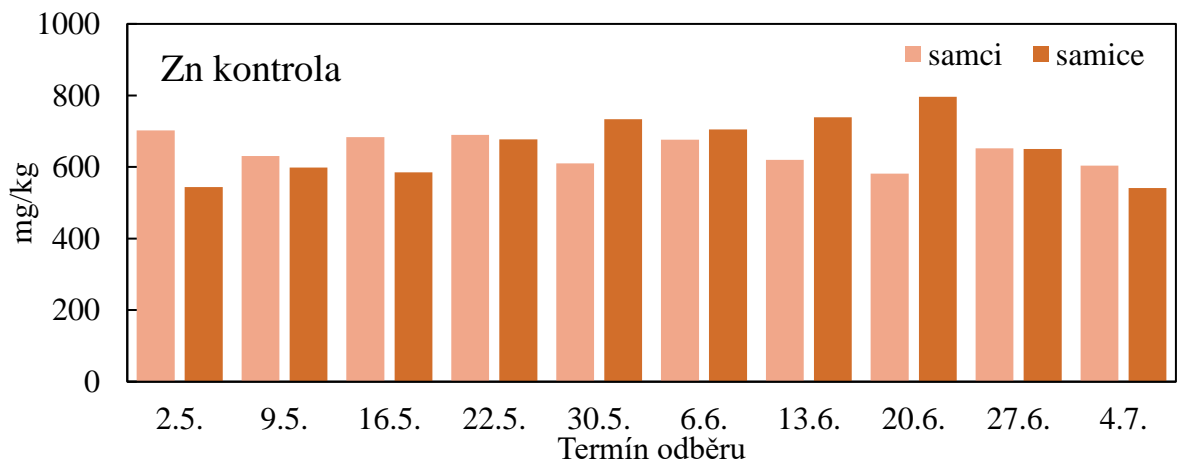


Graf 11. znázorňuje obsah olova v exkrementech u skupiny Halda myšice křovinné v období 2.5.-4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah olova se pohybuje v tisících mg/kg. Také na grafu můžeme vidět, že ve větší míře vylučovali samci oproti samicím.

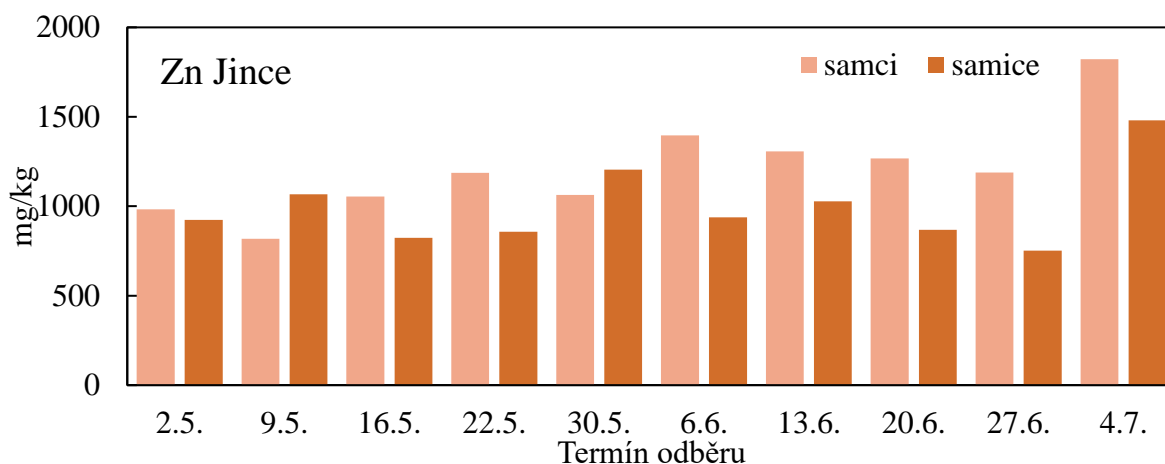
5.2.4 Obsah zinku v exkrementech myšice křovinné (mg/kg)

Koncentrace zinku v exkrementech kontrolní skupiny myšic křovinných je ukázána v grafu 12., skupiny Jince v grafu 13. a skupiny Halda v grafu 14. Odběr exkrementů probíhal každý týden po dobu 3 měsíců (2.5.- 4.7.2018).

Graf 12. Obsah zinku v exkrementech kontrolní skupiny myšice křovinné (mg/kg)



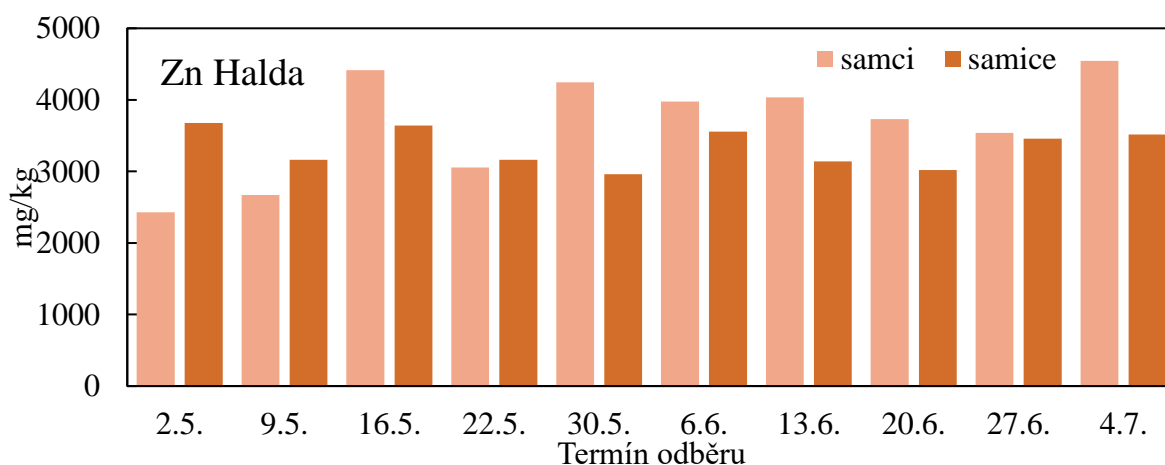
Graf 13. Obsah zinku v exkrementech skupiny Jince myšice křovinné (mg/kg)



V grafu 12. je znázorněný obsah zinku v exkrementech u kontrolní skupiny myšice křovinné v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah zinku se pohybuje v řádu stovek mg/kg a jeho tendence je v průběhu pokusu stoupající. Také na grafu můžeme vidět, že více zinku vylučovali samci oproti samicím.

V grafu 13. je zaznamenán obsah zinku v exkrementech u skupiny Jince myšice křovinné v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah zinku se pohybuje ve stovkách až tisících mg/kg oproti kontrolní skupině, kdy se koncentrace zinku pohybovala ve stovkách mg/kg. Můžeme na grafu dále vidět, že rozdíl v rámci pohlaví byl výrazný, ve vylučování zinku exkrementy více převyšují samci nad samicemi. Graf má tendenci stoupající.

Graf 14. Obsah zinku v exkrementech skupiny Halda myšice křovinné (mg/kg)



Graf 14. znázorňuje obsah zinku v exkrementech u skupiny Halda myšice křovinné v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah zinku se pohybuje v tisících mg/kg. Je to rozdíl, oproti kontrolní skupině, kde byl obsah zinku ve stovkách mg/kg a skupině Jinců, kde se pohyboval v řádech stovek až tisíců. Také na grafu můžeme vidět, že ve větší míře zinek vylučovali samci oproti samicím.

5.3 Obsah prvků v exkrementech hraboše polního (mg/kg)

5.3.1 Obsah arsenu v exkrementech hraboše polního (mg/kg)

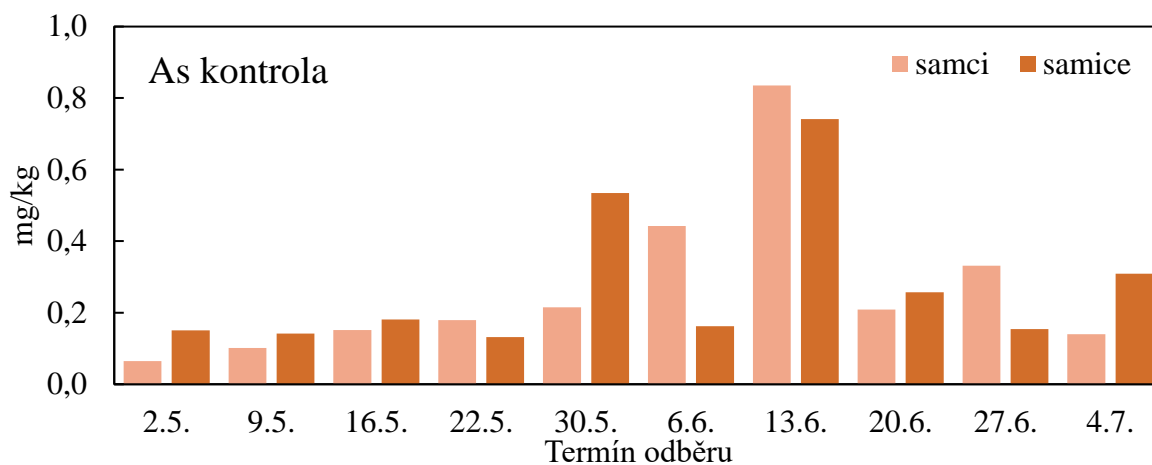
Koncentrace arsenu v exkrementech kontrolní skupiny hrabošů polních je ukázána v grafu 15., skupiny Jince v grafu 16. a skupiny Halda v grafu 17. Odběr exkrementů probíhal každý týden po dobu 3 měsíců (2.5.- 4.7.2018).

V grafu 15. je znázorněný obsah arsenu v exkrementech u kontrolní skupiny hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah arsenu se pohybuje jen v desetinách mg/kg a jeho tendence nejvíce stoupá uprostřed pokusu. Také na grafu můžeme vidět, že arsen vylučovala obě pohlaví srovnatelně.

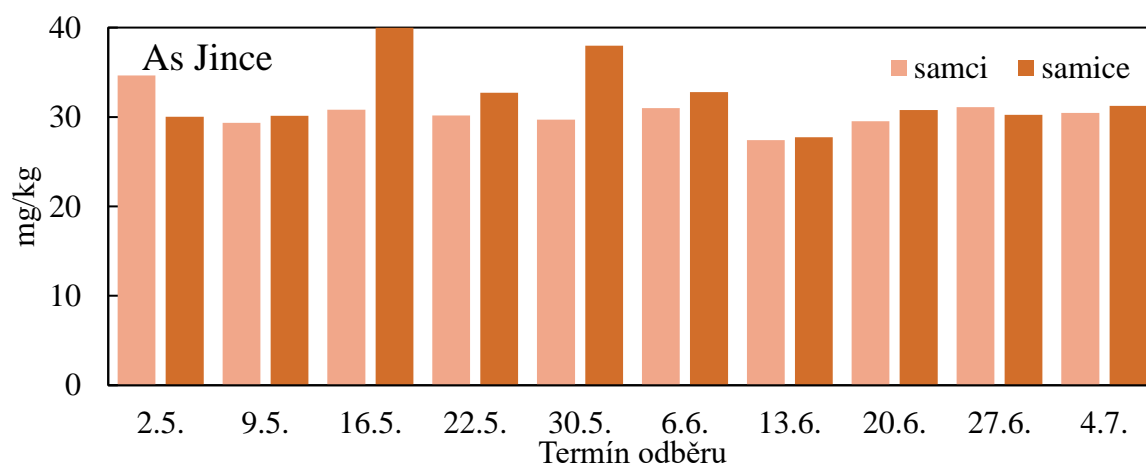
V grafu 16. je zaznamenán obsah arsenu v exkrementech u skupiny Jince hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah arsenu se pohybuje již v desítkách mg/kg oproti kontrolní skupině, kdy koncentrace arsenu nepřekročila hodnotu 1 mg/kg. Můžeme na grafu dále vidět, že rozdíl mezi pohlavími byl patrný a více arsenu vylučovaly samice oproti samcům, zejména v první polovině pokusu.

Graf 17. znázorňuje obsah arsenu v exkrementech u skupiny Halda hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah arsenu se pohybuje ve stovkách mg/kg a jeho tendence je lehce stoupající. Také na grafu můžeme vidět, že ve větší míře vylučovali arsen samci ve srovnání se samicemi.

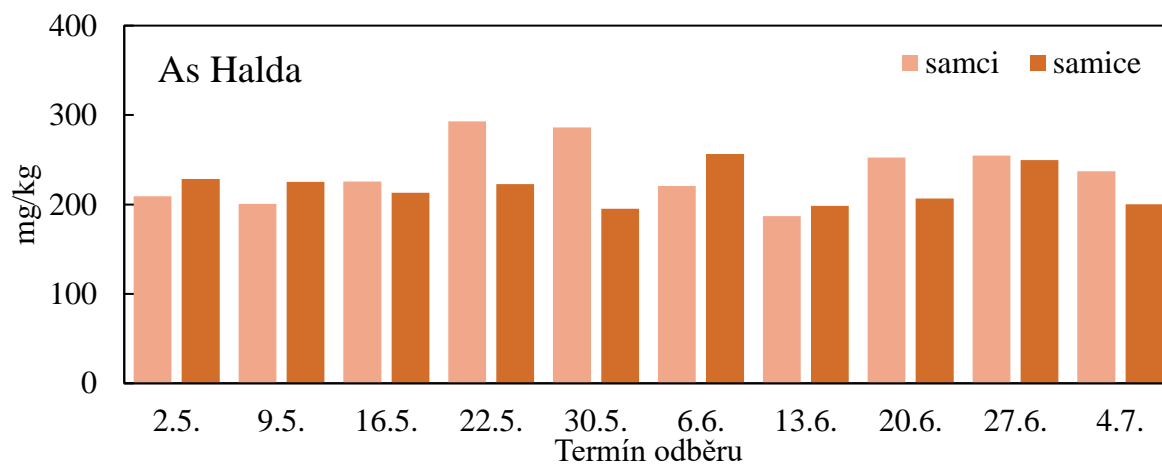
Graf 15. Obsah arsenu v exkrementech kontrolní skupiny hraboše polního (mg/kg)



Graf 16. Obsah arsenu v exkrementech skupiny Jince hraboše polního (mg/kg)



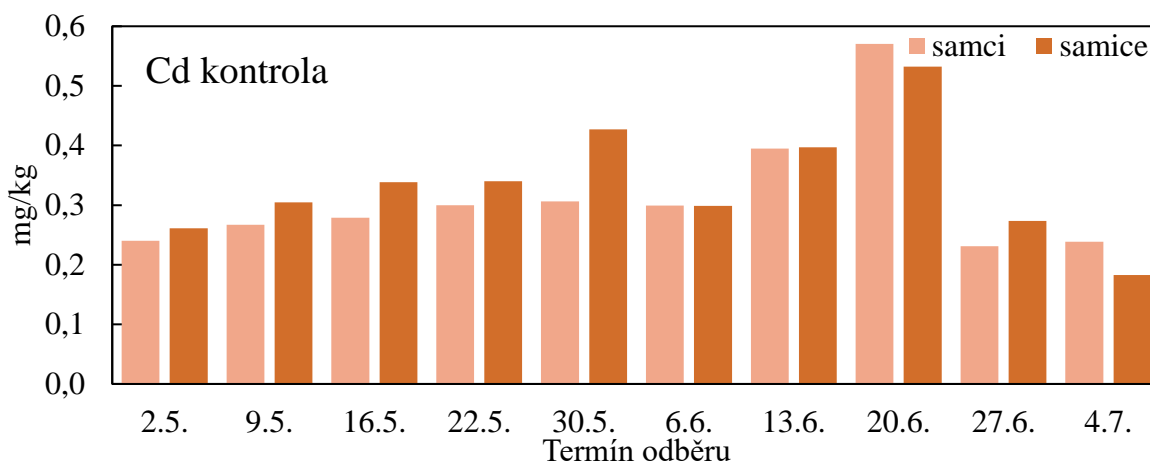
Graf 17. Obsah arsenu v exkrementech skupiny Halda hraboše polního (mg/kg)



5.3.2 Obsah kadmia v exkrementech hraboše polního (mg/kg)

Koncentrace kadmia v exkrementech kontrolní skupiny hrabošů polních je ukázána v grafu 18., skupiny Jince v grafu 19. a skupiny Halda v grafu 20. Odběr exkrementů probíhal každý týden po dobu 3 měsíců (2.5.- 4.7.2018).

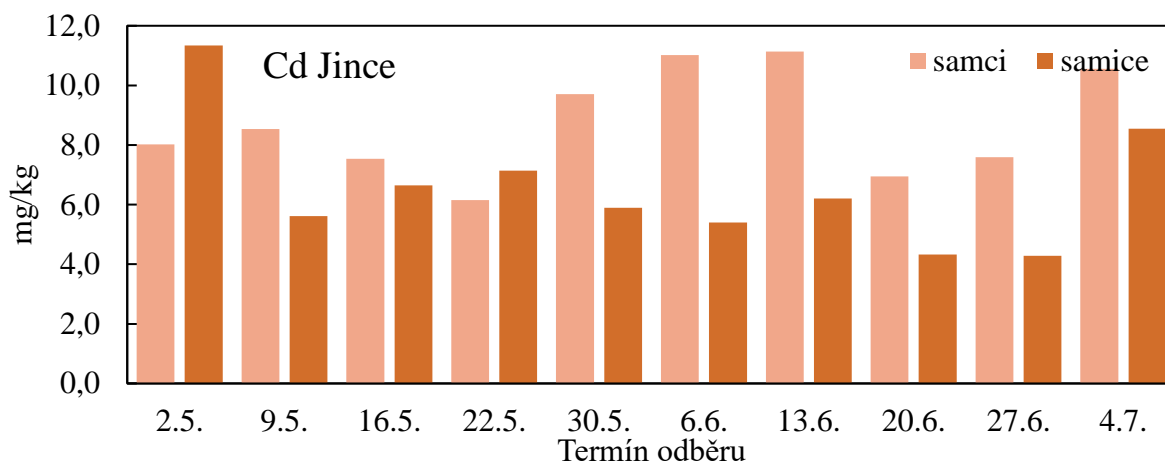
Graf 18. Obsah kadmia v exkrementech kontrolní skupiny hraboše polního (mg/kg)



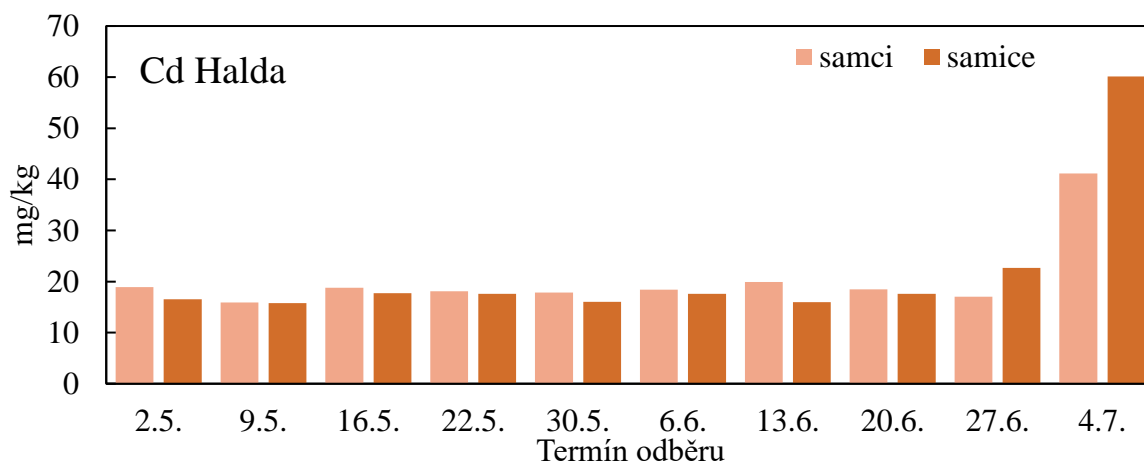
V grafu 18. je znázorněný obsah kadmia v exkrementech u kontrolní skupiny hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah kadmia nepřekračuje hodnotu 0,6 mg/kg a jeho tendence postupně stoupá až na poslední dva týdny. Také na grafu můžeme vidět, že kadmium vylučovaly více samice oproti samcům.

V grafu 19. je zaznamenán obsah kadmia v exkrementech u skupiny Jince hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah kadmia se pohybuje v řádu jednotek mg/kg oproti kontrolní skupině, kdy se koncentrace kadmia pohybovala o řád níže. Můžeme na grafu dále vidět, že rozdíl mezi pohlavími byl patrný a více kadmia vylučovali samci oproti samicím.

Graf 19. Obsah kadmia v exkrementech skupiny Jince hraboše polního (mg/kg)



Graf 20. Obsah kadmia v exkrementech skupiny Halda hraboše polního (mg/kg)

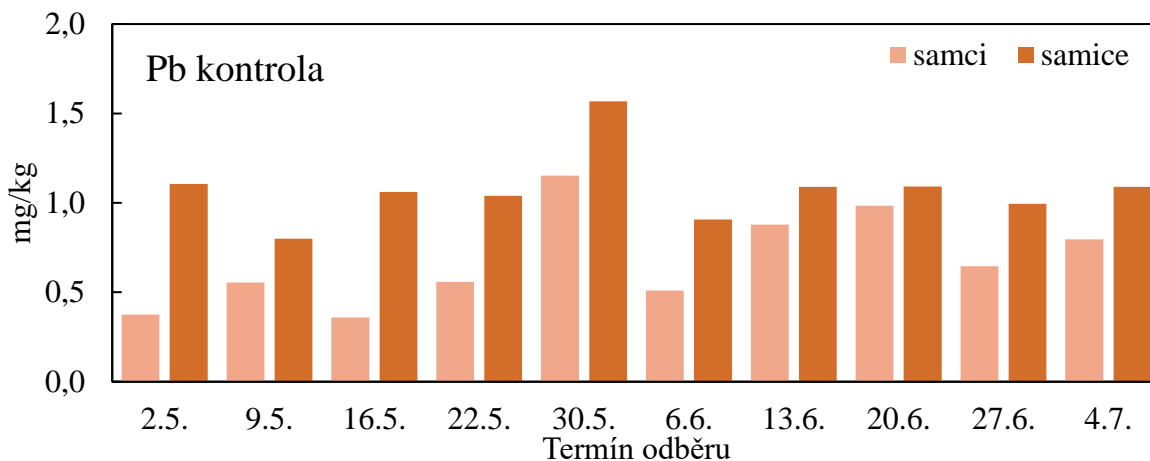


Graf 20. znázorňuje obsah kadmia v exkrementech u skupiny Halda hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah kadmia se pohybuje v desítkách mg/kg a jeho tendence je na konci pokusu významně stoupá. Také na grafu můžeme vidět, že ve větší míře vylučovaly kadmium samice ve srovnání se samci.

5.3.3 Obsah olova v exkrementech hraboše polního (mg/kg)

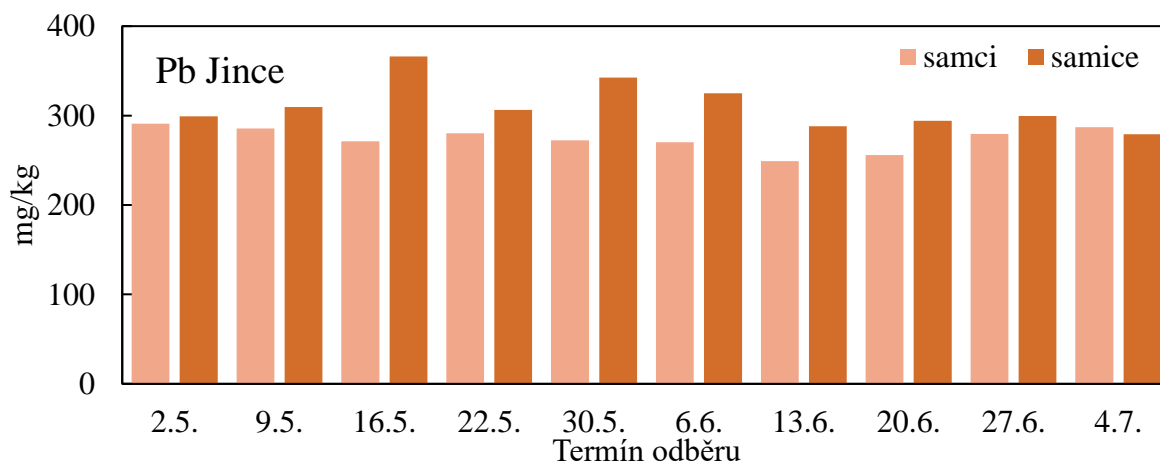
Koncentrace olova v exkrementech kontrolní skupiny hrabošů polních je ukázána v grafu 21., skupiny Jince v grafu 22. a skupiny Halda v grafu 23. Odběr exkrementů probíhal každý týden po dobu 3 měsíců (2.5.- 4.7.2018).

Graf 21. Obsah olova v exkrementech kontrolní skupiny hraboše polního (mg/kg)



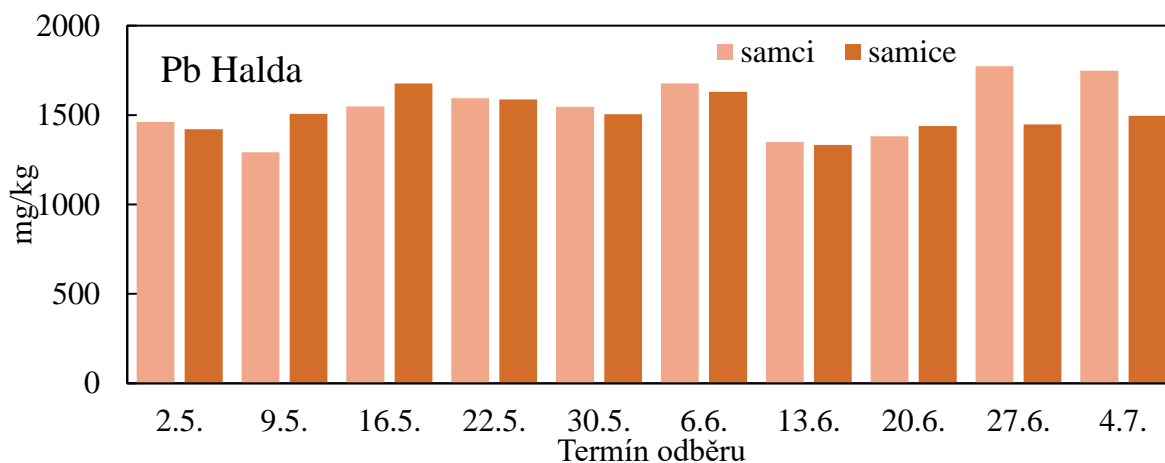
V grafu 21. je znázorněný obsah olova v exkrementech u kontrolní skupiny hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah olova se pohybuje v rozmezí 0,4 – 1,5 mg/kg a v průběhu pokusu obsahy Pb vykazují velkou variabilitu. Také na grafu můžeme vidět, že olovo více vylučovaly samice oproti samcům.

Graf 22. Obsah olova v exkrementech skupiny Jince hraboše polního (mg/kg)



V grafu 22. je zaznamenán obsah olova v exkrementech u skupiny Jince hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah olova se pohybuje již ve stovkách mg/kg oproti kontrolní skupině, kdy se koncentrace olova pohybovala jen v rámci desetin až jednotek. Můžeme na grafu dále vidět, že rozdíl mezi pohlavími byl patrný a více olova vylučovaly samice oproti samcům.

Graf 23. Obsah olova v exkrementech skupiny Halda hraboše polního (mg/kg)



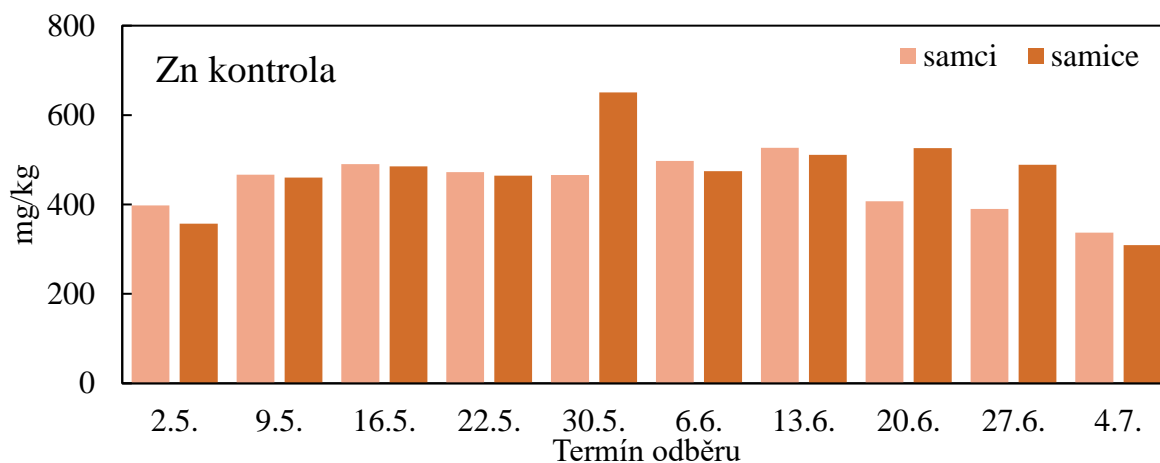
Graf 23. znázorňuje obsah olova v exkrementech u skupiny Halda hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah olova se pohybuje v tisících mg/kg a jeho tendence je lehce stoupající. Také na grafu můžeme vidět, že ve větší míře vylučovali olovo samci ve srovnání se samicemi.

5.3.4 Obsah zinku v exkrementech hraboše polního (mg/kg)

Koncentrace zinku v exkrementech kontrolní skupiny hrabošů polních je ukázána v grafu 24., skupiny Jince v grafu 25. a skupiny Halda v grafu 26. Odběr exkrementů probíhal každý týden po dobu 3 měsíců (2.5.- 4.7.2018).

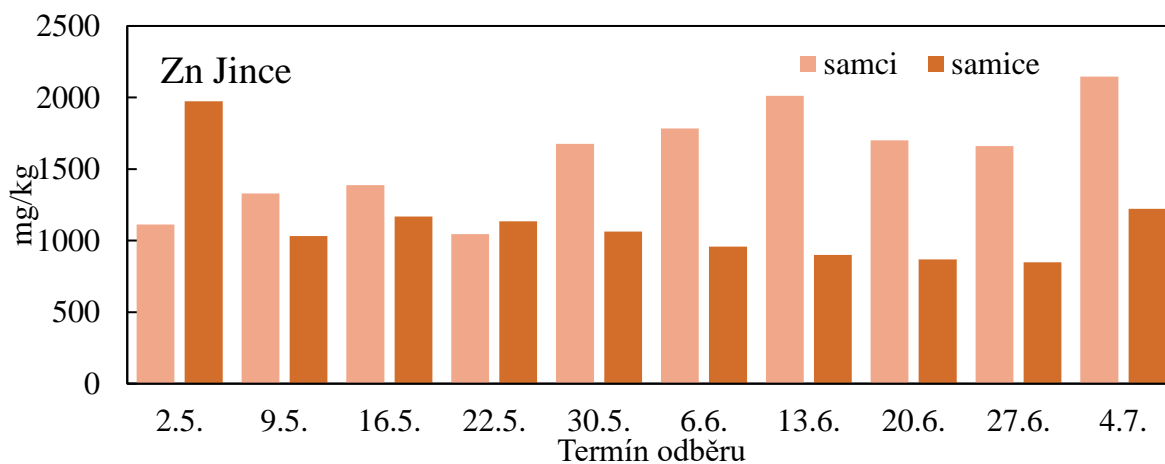
V grafu 24 je znázorněn obsah zinku v exkrementech u kontrolní skupiny hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah zinku se pohybuje ve stovkách mg/kg a jeho tendence nejvíce stoupají stoupá uprostřed pokusu. Také na grafu můžeme vidět, že zinek více vylučovaly samice oproti samcům.

Graf 24. Obsah zinku v exkrementech kontrolní skupiny hraboše polního (mg/kg)



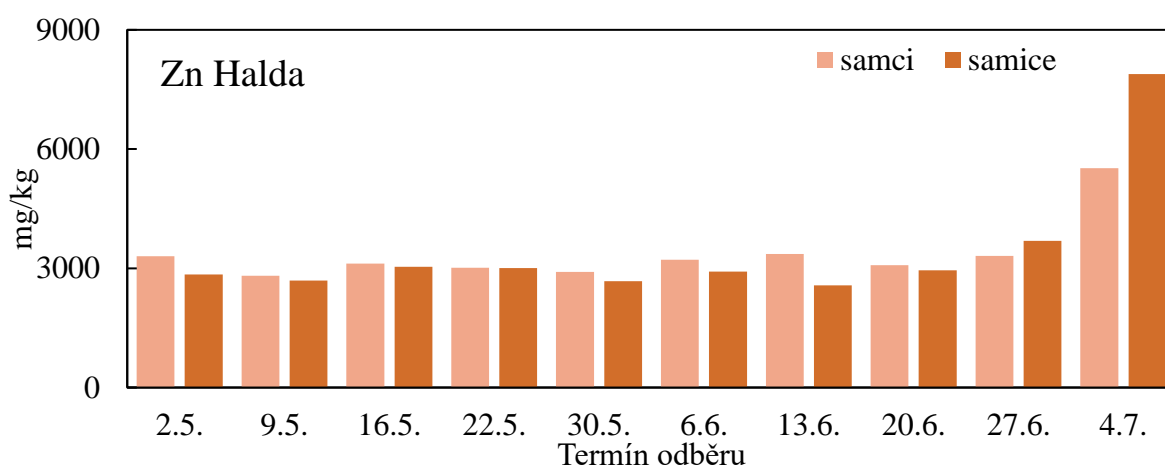
V grafu 25. je zaznamenán obsah zinku v exkrementech u skupiny Jince hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah zinku se pohybuje již v tisících mg/kg oproti kontrolní skupině, kdy se koncentrace zinku pohybovala v rámci stovek. Na grafu můžeme dále vidět, že rozdíl mezi pohlavími byl patrný a více arsenu vylučovali samci oproti samicím.

Graf 25. Obsah zinku v exkrementech skupiny Jince hraboše polního (mg/kg)



Graf 26. znázorňuje obsah zinku v exkrementech u skupiny Halda hraboše polního v období 2.5.- 4.7.2018. Můžeme zde pozorovat, že obsah zinku se pohybuje v tisících mg/kg a jeho tendence na konci pokusu rapidně stoupají. Také na grafu můžeme vidět, že ve větší míře vylučovali zinek samci, s výjimkou posledních dvou odběrů, kdy více zinku vyloučily samice.

Graf 26. Obsah zinku v exkrementech skupiny Halda hraboše polního (mg/kg)



5.4 Obsah prvků v orgánech myšice křovinné (mg/kg)

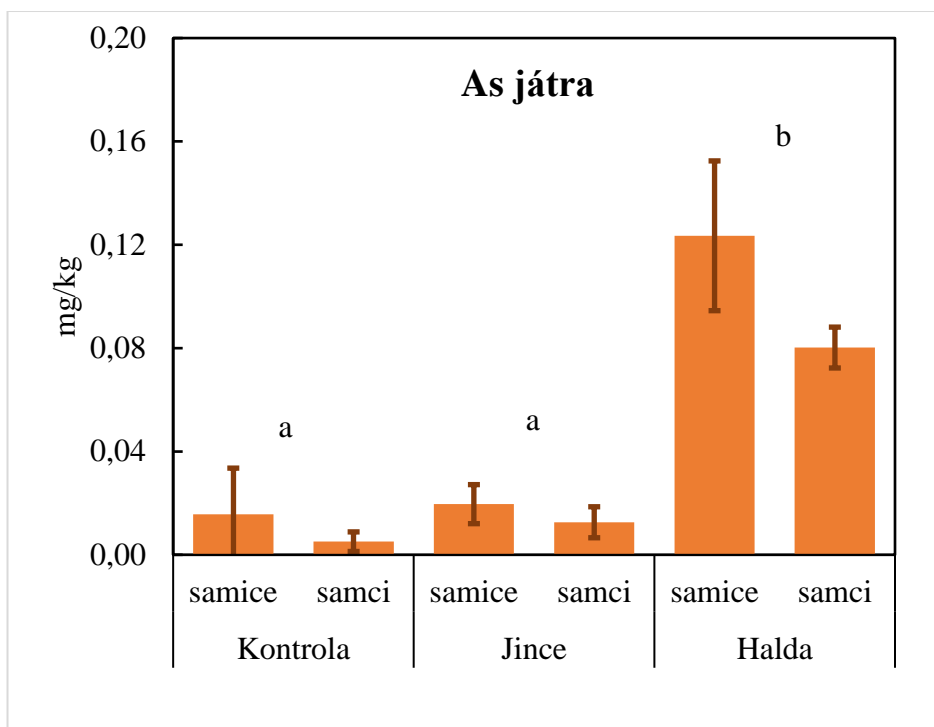
Koncentrace prvků se měřila ve dvou orgánech, a to v játrech a ledvinách. Odběr orgánů probíhal dne 4.7.2018.

5.4.1 Obsah arsenu v orgánech myšice křovinné (mg/kg)

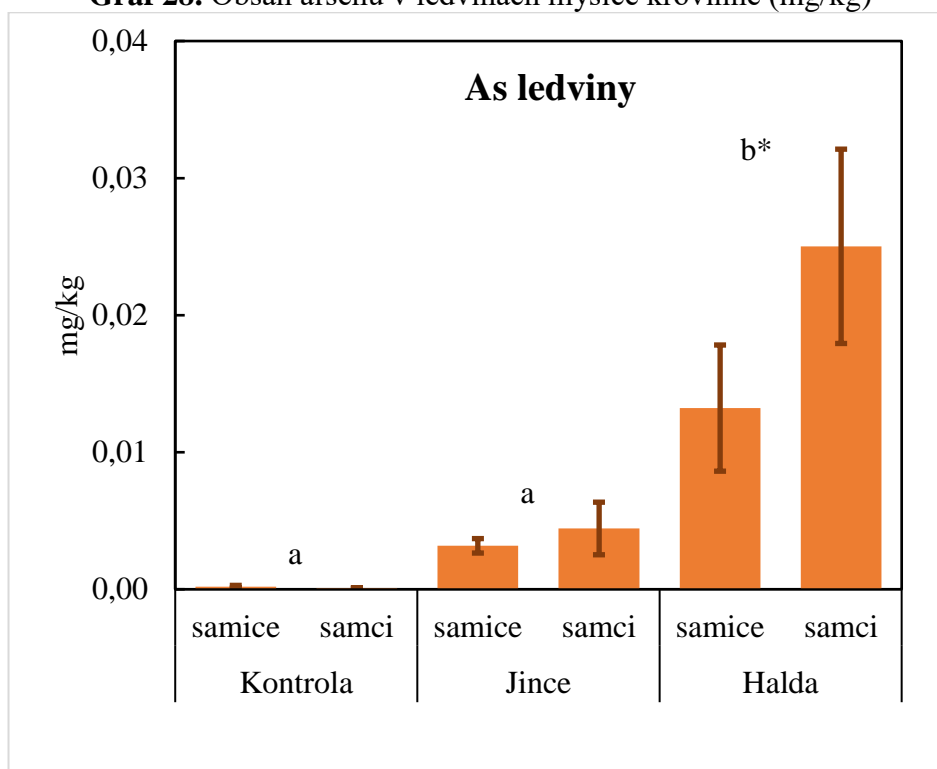
Koncentrace arsenu v játrech všech skupin myšic křovinných je ukázána v grafu 27.a koncentrace arsenu v ledvinách všech skupin myšic křovinných je vyobrazena v grafu 28.

Graf 27. prezentuje obsah arsenu v játrech pokusných jedinců myšice křovinné. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. Mezi skupinami kontrolní a Jince není statisticky významný rozdíl. Oproti tomu mezi skupinou Jince a Halda existuje statisticky významný rozdíl.

Graf 27. Obsah arsenu v játrech myšice křovinné (mg/kg)



Graf 28. Obsah arsenu v ledvinách myšice křovinné (mg/kg)



Graf 28. prezentuje obsah arsenu v ledvinách pokusných jedinců myšice křovinné. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu

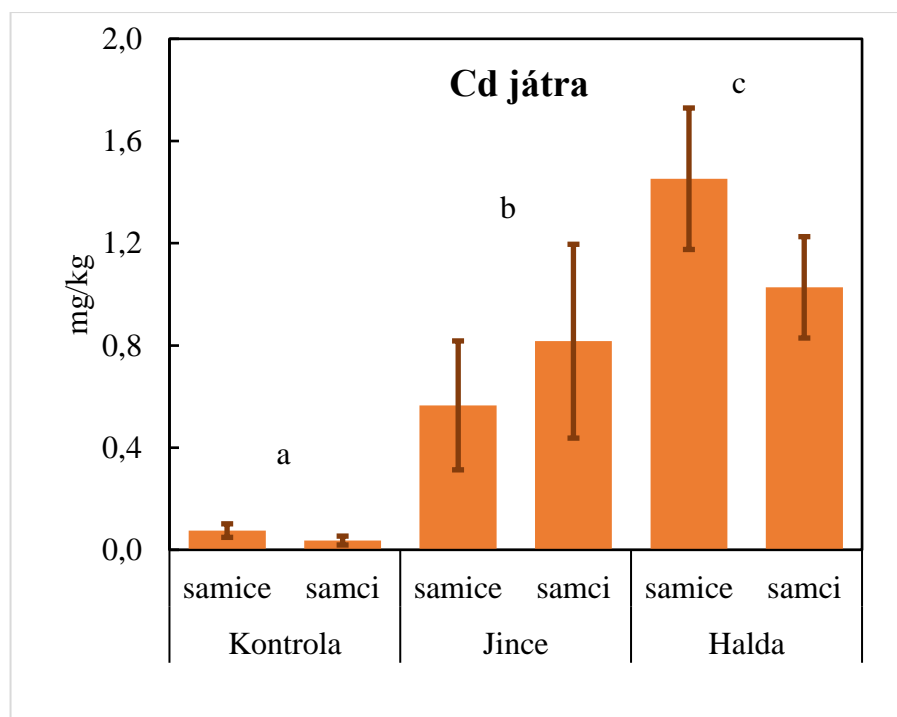
na pohlaví. U variant označených * byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími na téže lokalitě. Statisticky významný rozdíl není u skupin kontrolní a Jince. Oproti tomu se statisticky významný rozdíl vyskytuje mezi skupinami Jince a Halda. Ve skupině Halda byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími.

5.4.2 Obsah kadmia v orgánech myšice křovinné (mg/kg)

Koncentrace kadmia v játrech všech skupin myšic křovinných je ukázána v grafu 29. a koncentrace kadmia v ledvinách všech skupin myšic křovinných je vyobrazena v grafu 30.

Graf 29. ukazuje obsah kadmia v játrech pokusných jedinců myšice křovinné. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. Statisticky významný rozdíl se vyskytuje mezi kontrolní skupinou a skupinou Jince. Dále se vyskytuje statisticky významný rozdíl mezi skupinou Jince a Halda.

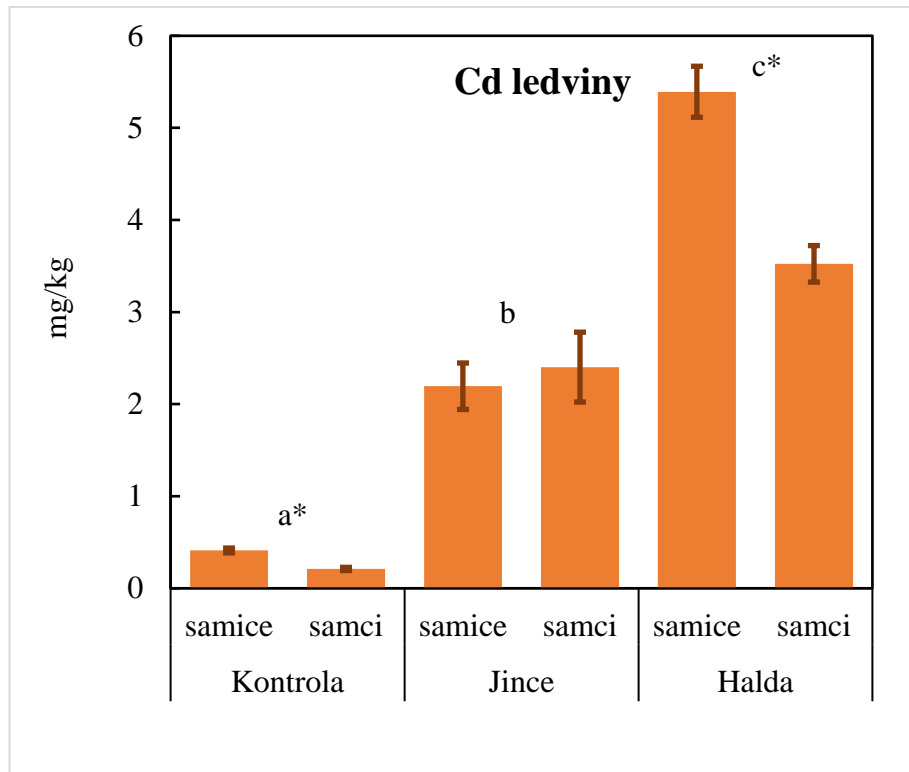
Graf 29. Obsah kadmia v játrech myšice křovinné (mg/kg)



Obsah kadmia v ledvinách pokusných jedinců myšice křovinné je prezentován v grafu 30. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. U variant označených * byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími na téže lokalitě. Statisticky významný rozdíl se vyskytuje mezi skupinami kontrolní,

Jince i Halda. U kontrolní skupiny a skupiny Halda byla prokázána významná odlišnost mezi pohlavími.

Graf 30. Obsah kadmia v ledvinách myšice křovinné (mg/kg)



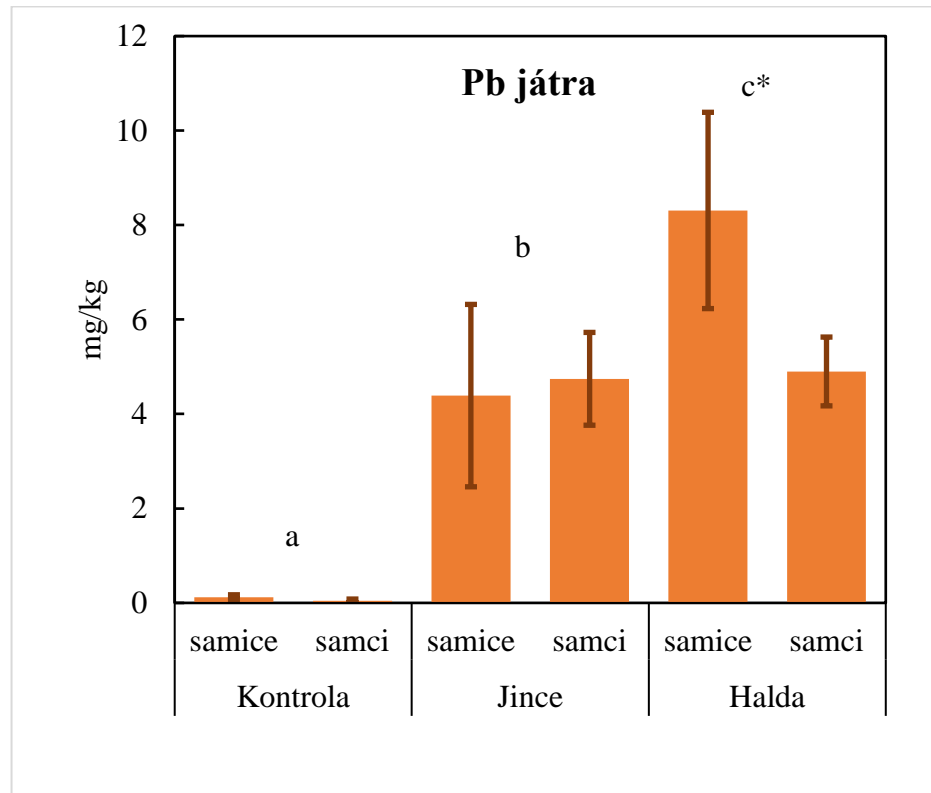
5.4.3 Obsah olova v orgánech myšice křovinné (mg/kg)

Koncentrace olova v játrech všech skupin myšic křovinných je ukázána v grafu 31. a koncentrace olova v ledvinách všech skupin myšic křovinných je vyobrazena v grafu 32.

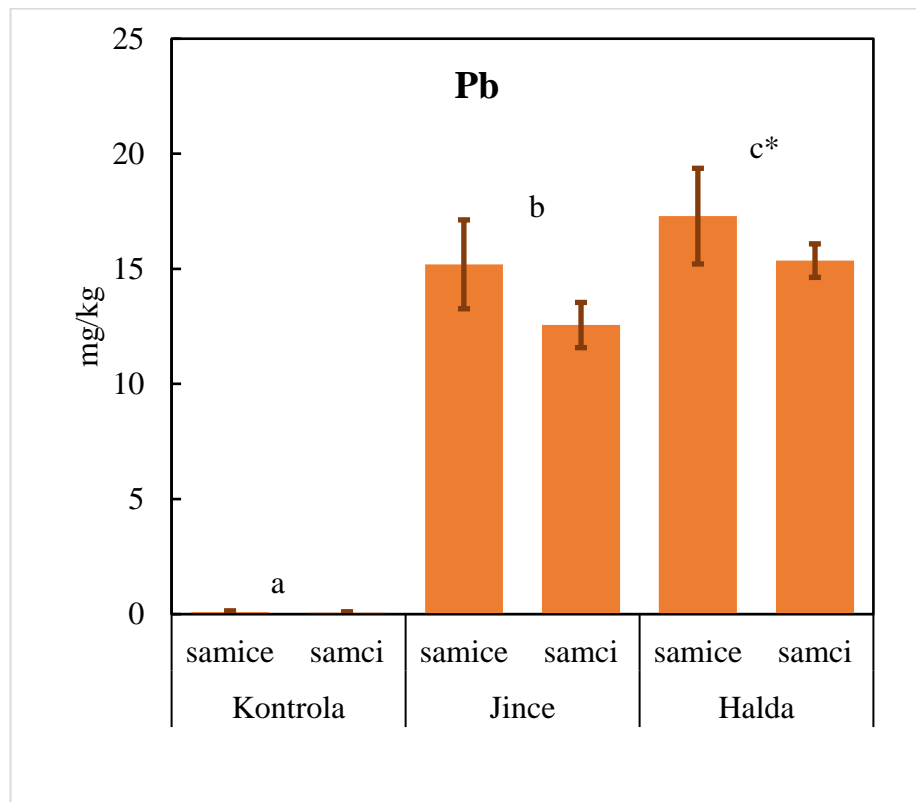
Graf 31. ukazuje obsah olova v játrech pokusných jedinců myšice křovinné. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. U variant označených * byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími na téže lokalitě. Mezi kontrolní skupinou, skupinou Jince a Halda existuje statisticky významný rozdíl. U skupiny Halda byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími.

Obsah olova v ledvinách pokusných jedinců myšice křovinné shrnuje graf 32. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. U variant označených * byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími na téže lokalitě. Mezi kontrolní skupinou, skupinou Jince a Halda existuje statisticky významný rozdíl. U skupiny Halda byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími.

Graf 31. Obsah olova v játrech myšice křovinné (mg/kg)



Graf 32. Obsah olova v ledvinách myšice křovinné (mg/kg)



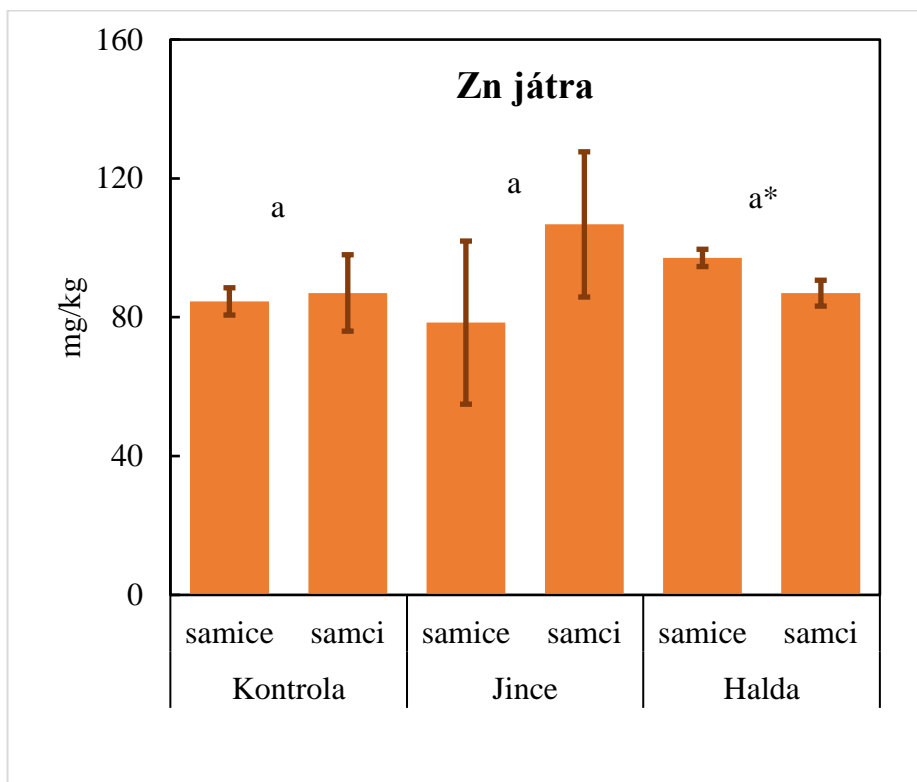
5.4.4 Obsah zinku v orgánech myšice křovinné (mg/kg)

Koncentrace zinku v játrech všech skupin myšic křovinných je ukázána v grafu 33. a koncentrace zinku v ledvinách všech skupin myšic křovinných je vyobrazena v grafu 34.

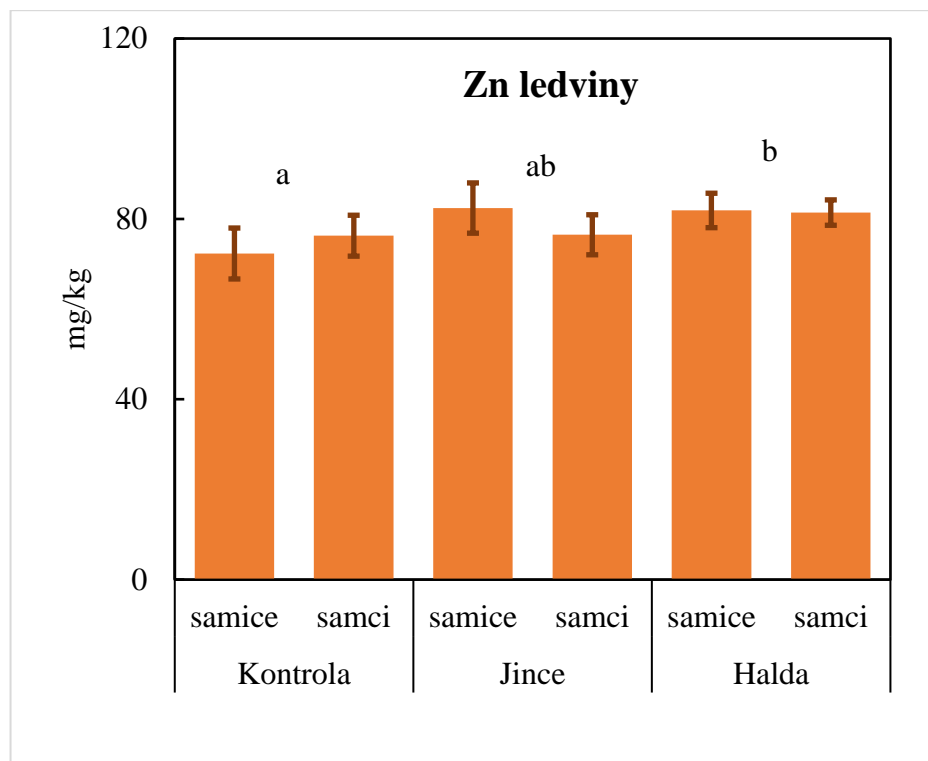
Obsah zinku v játrech pokusných jedinců myšice křovinné ukazuje graf 33. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. U variant označených * byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími na téže lokalitě. Statisticky významný rozdíl není ani u jedné skupiny. U skupiny Halda byla prokázána významná odlišnost mezi pohlavími.

Graf 34. prezentuje obsah zinku v ledvinách pokusných jedinců myšice křovinné. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. Mezi skupinami kontrolní a Jince není statisticky významný rozdíl, ale mezi kontrolní skupinou a skupinou Halda je statisticky významný rozdíl. Zároveň mezi skupinou Jince a Halda není statisticky významný rozdíl, ale mezi Skupinou Halda a kontrolní je statisticky významný rozdíl.

Graf 33. Obsah zinku v játrech myšice křovinné (mg/kg)



Graf 34. Obsah zinku v ledvinách myšice křovinné (mg/kg)



5.5 Obsah prvků v orgánech hraboše polního (mg/kg)

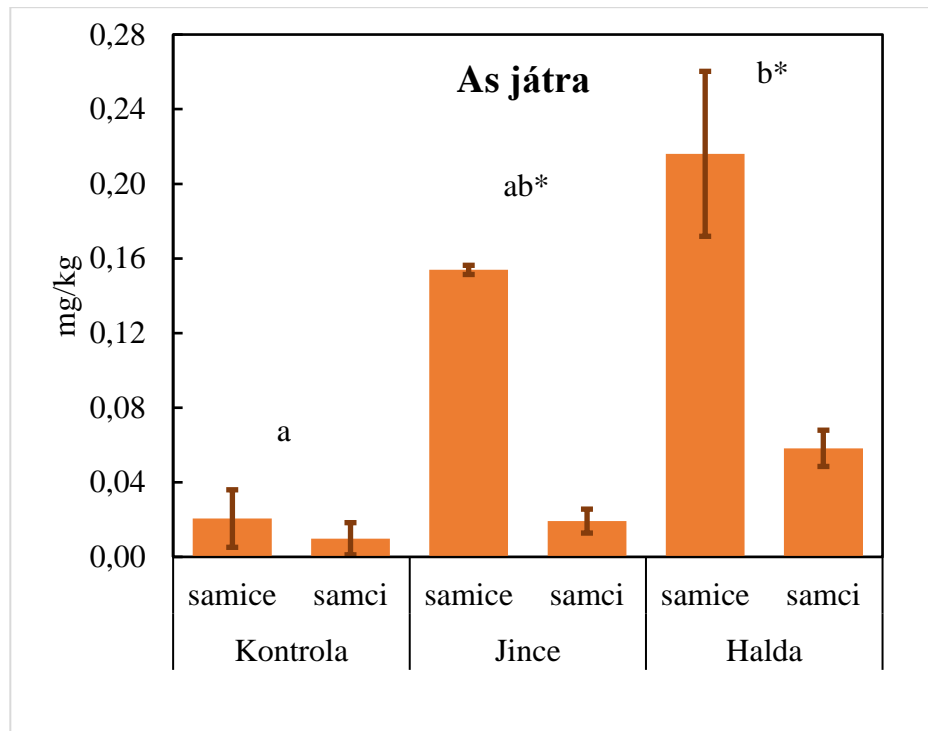
Koncentrace prvků se měřila ve dvou orgánech, a to v játrech a ledvinách. Odběr orgánů probíhal dne 4.7.2018.

5.5.1 Obsah arsenu v orgánech hraboše polního (mg/kg)

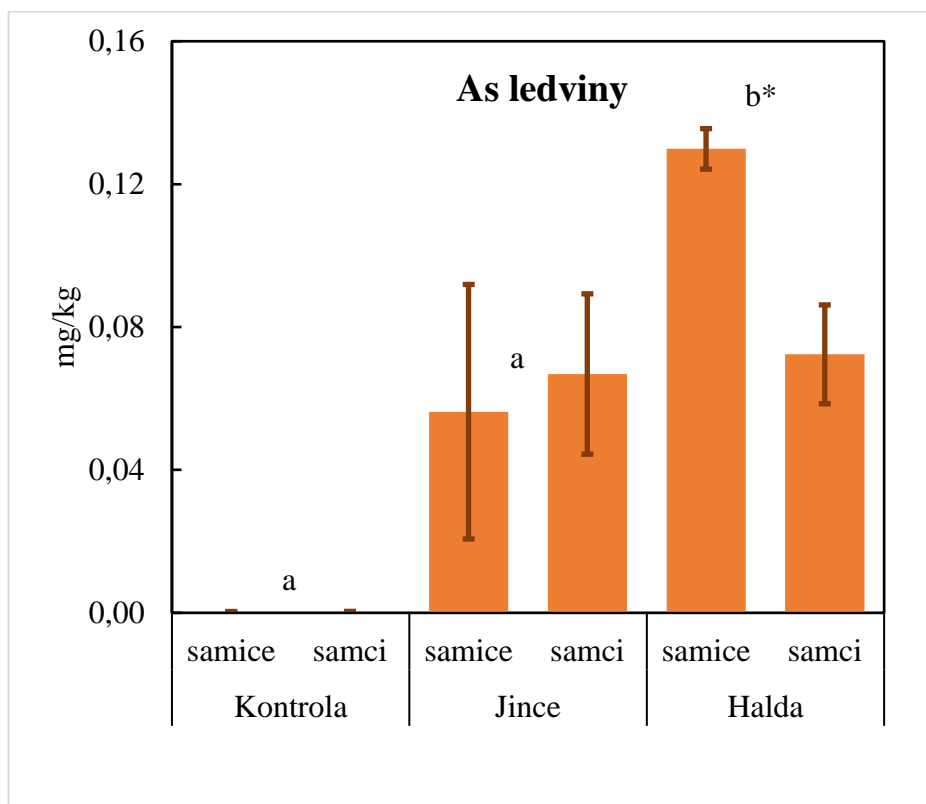
Koncentrace arsenu v játrech všech skupin hrabošů polních je ukázána v grafu 35. a koncentrace arsenu v ledvinách všech skupin hrabošů polních je vyobrazena v grafu 36.

Obsah arsenu v játrech pokusných jedinců hraboše polního je znázorněn v grafu 35. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. U variant označených * byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími na téže lokalitě. Mezi skupinami kontrolní a Jince není statisticky významný rozdíl, ale mezi kontrolní skupinou a skupinou Halda je statisticky významný rozdíl. Zároveň mezi skupinou Jince a Halda není statisticky významný rozdíl, ale mezi Skupinou Halda a kontrolní je statisticky významný rozdíl. U skupin Jince a Halda byla prokázána významná odlišnost mezi pohlavími.

Graf 35. Obsah arsenu v játrech hraboše polního (mg/kg)



Graf 36. Obsah arsenu v ledvinách hraboše polního (mg/kg)

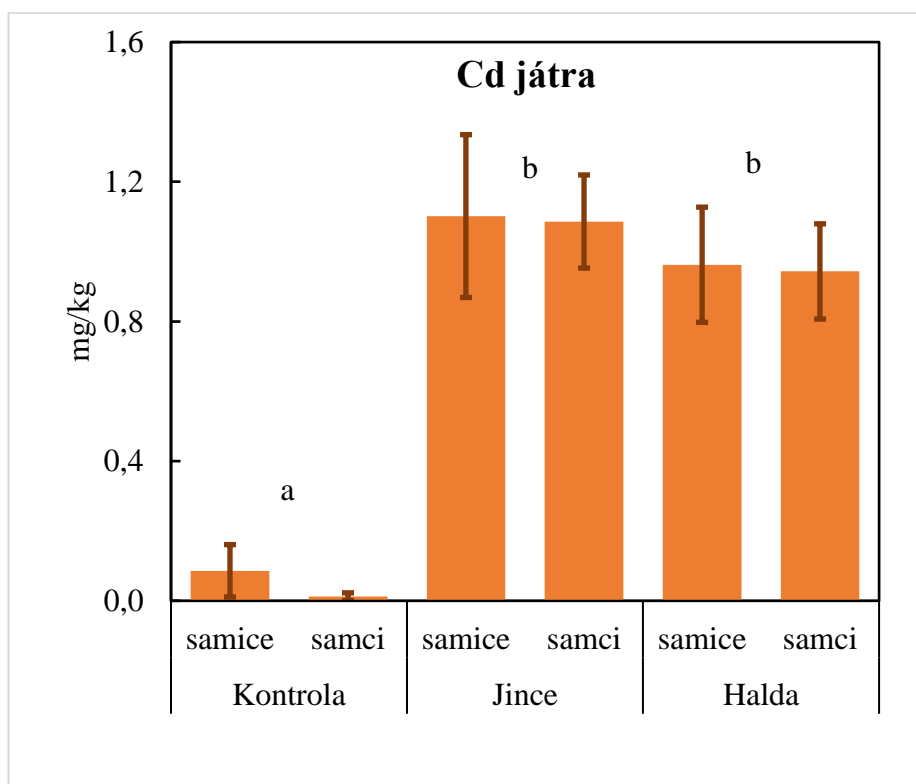


Graf 36. ukazuje obsah arsenu v ledvinách pokusných jedinců hraboše polního. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. U variant označených * byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími na téže lokalitě. Statisticky významný rozdíl není u skupin kontrolní a Jince. Oproti tomu se statisticky významný rozdíl vyskytuje mezi skupinami Jince a Halda. Ve skupině Halda byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími.

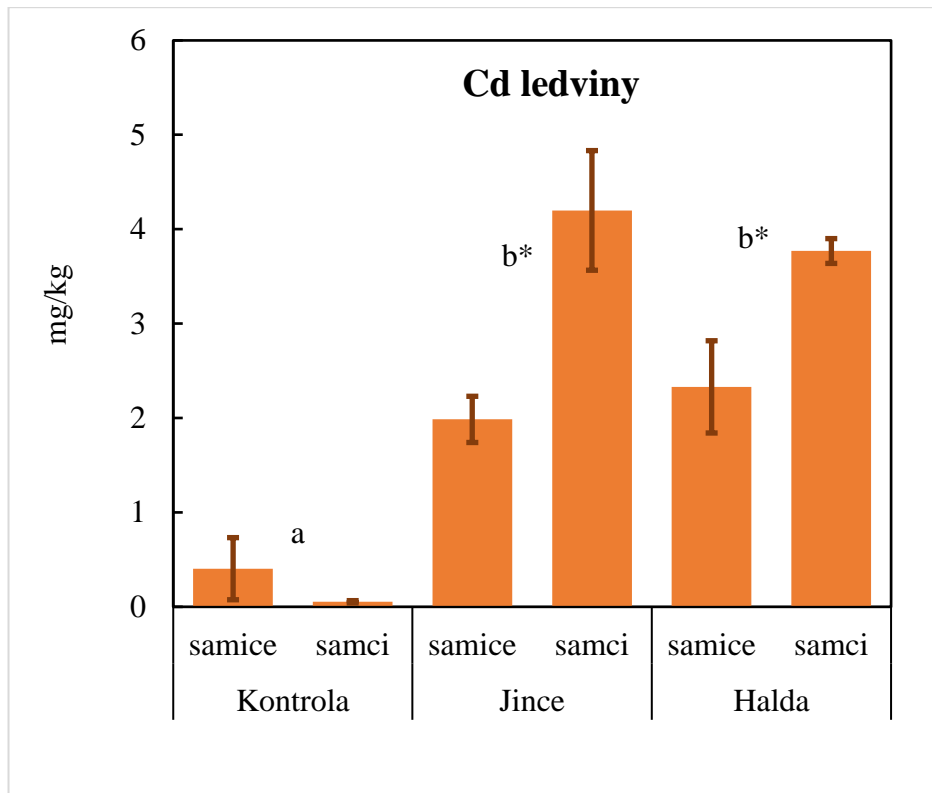
5.5.2 Obsah kadmia v orgánech hraboše polního (mg/kg)

Koncentrace kadmia v játrech všech skupin hrabošů polních je ukázána v grafu 37. a koncentrace kadmia v ledvinách všech skupin hrabošů polních je vyobrazena v grafu 38.

Graf 37. Obsah kadmia v játrech hraboše polního (mg/kg)



Graf 38. Obsah kadmia v ledvinách hraboše polního (mg/kg)



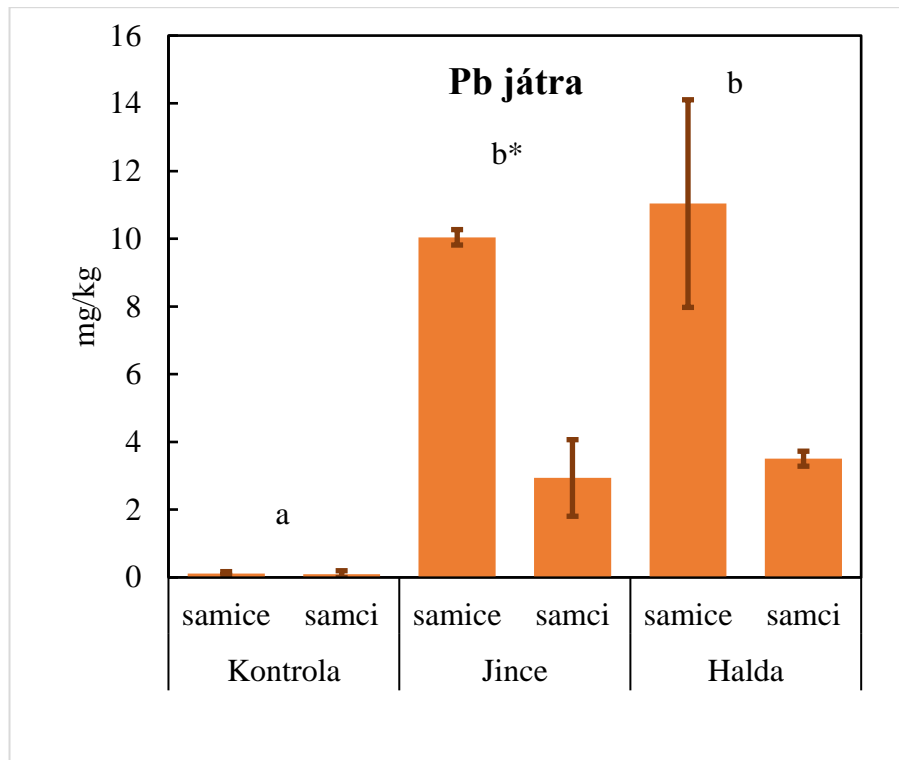
Obsah kadmia v játrech pokusných jedinců hraboše polního prezentuje graf 37. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. Statisticky významný rozdíl je u skupin kontrolní a Jince. Oproti tomu se statisticky významný rozdíl nevyskytuje mezi skupinami Jince a Halda.

Graf 38. ukazuje obsah kadmia v ledvinách pokusných jedinců hraboše polního. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. U variant označených * byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími na téže lokalitě. Statisticky významný rozdíl je u skupin kontrolní a Jince. Oproti tomu se statisticky významný rozdíl nevyskytuje mezi skupinami Jince a Halda. Ve skupinách Jince a Halda byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími.

5.5.3 Obsah olova v orgánech hraboše polního (mg/kg)

Koncentrace olova v játrech všech skupin hrabošů polních je ukázána v grafu 39. a koncentrace olova v ledvinách všech skupin hrabošů polních je vyobrazena v grafu 40.

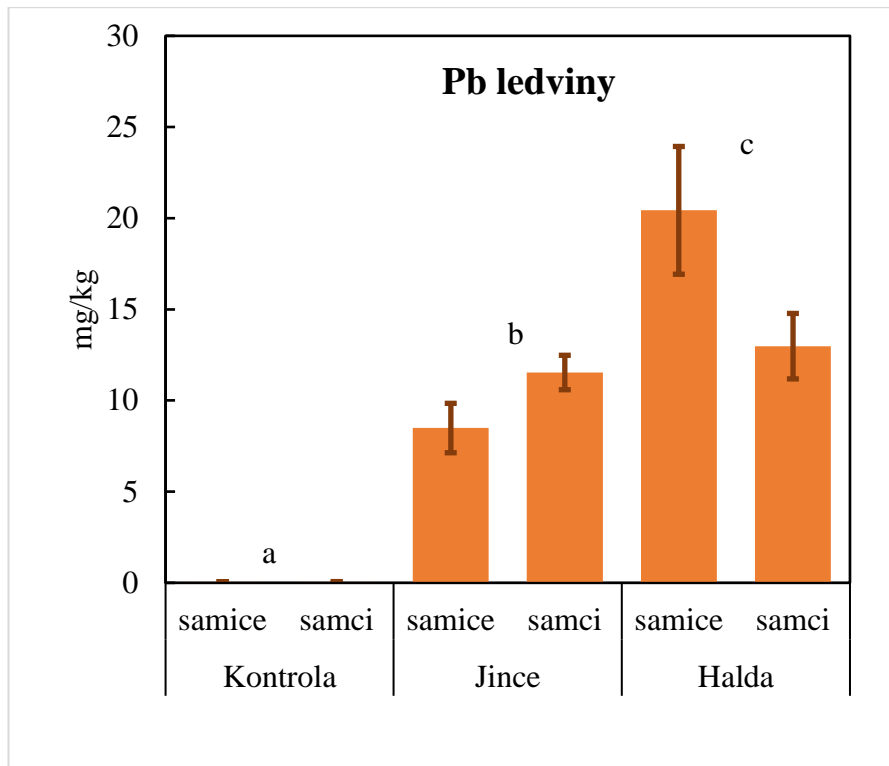
Graf 39. Obsah olova v játrech hraboše polního (mg/kg)



Obsah olova v játrech pokusných jedinců hraboše polního je prezentován v grafu 39. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. U variant označených * byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími na téže lokalitě. Statisticky významný rozdíl je u skupin kontrolní a Jince. Oproti tomu se statisticky významný rozdíl nevyskytuje mezi skupinami Jince a Halda. Ve skupině Jince byla prokázána významná odlišnost v obsahu prvků mezi pohlavími.

Obsah olova v ledvinách pokusných jedinců hraboše polního ukazuje graf 40. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. Statisticky významný rozdíl je u skupin kontrolní, Jince a Halda.

Graf 40. Obsah olova v ledvinách hraboše polního (mg/kg)

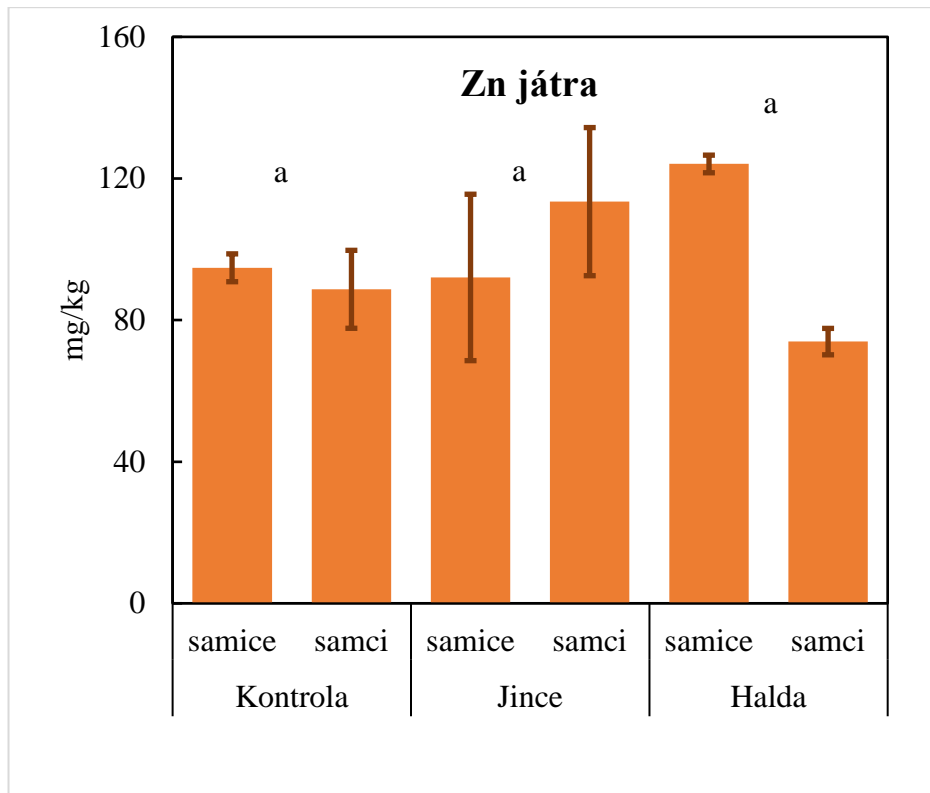


5.5.4 Obsah zinku v orgánech hraboše polního (mg/kg)

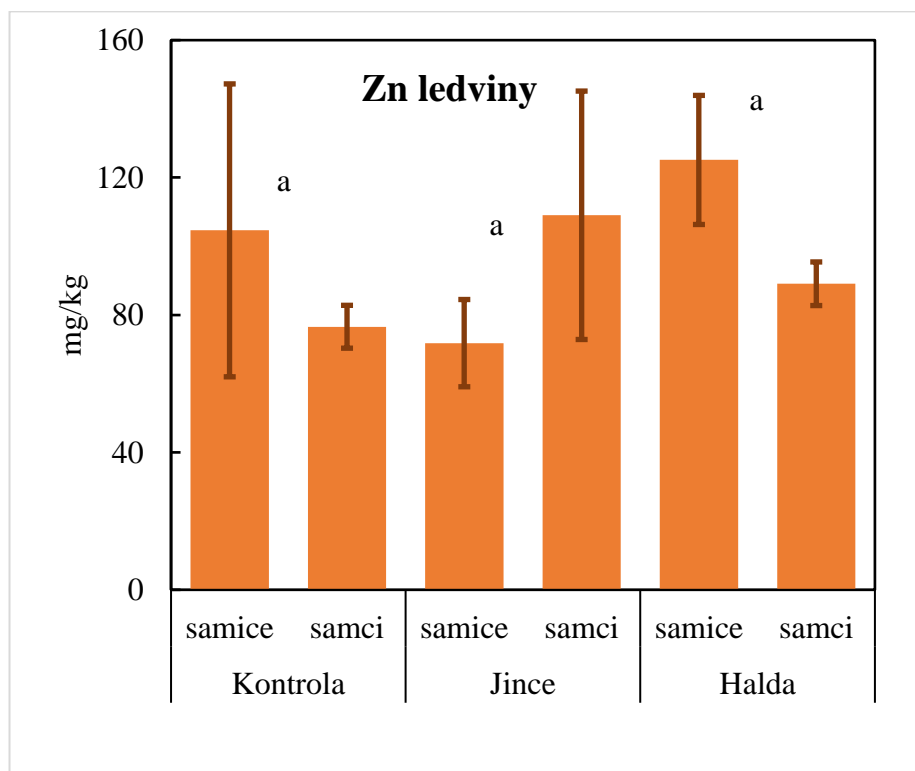
Graf 41. prezentuje obsah zinku v játrech pokusných jedinců hraboše polního. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. Statisticky významný rozdíl není u skupin kontrolní, Jince a Halda.

Obsah zinku v játrech pokusných jedinců hraboše polního je shrnut v grafu 42. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na $P < 0,05$ bez ohledu na pohlaví. Statisticky významný rozdíl není u skupin kontrolní, Jince a Halda.

Graf 41. Obsah zinku v játrech hraboše polního (mg/kg)



Graf 42. Obsah zinku v ledvinách hraboše polního (mg/kg)



6 Diskuze

Tabulka 1 dokumentuje vysoké obsahy sledovaných prvků jak v krmné směsi s přídatkem půdy, tak o v biomase huseníčku Hallerova. Samec myšice křovinné ve volné přírodě běžně váží okolo 30 g a samice okolo 20 g (Attuquayefio et al. 1986). Tomu odpovídají i hmotnosti zvířat v našem případě (Graf 1) a průměrné hmotnosti zvířat v jednotlivých skupinách jsou srovnatelné. Tělesná hmotnost dospělých hrabošů polních se pohybuje v rozmezí od 25 do 30 g, ale za optimálních podmínek může tělesná hmotnost přesáhnout 50 g u samců a 40 g u samic (Stein 1958). Z našeho pokusu vyplývá (Graf 2), hmotnosti samic v jednotlivých skupinách se podobně jako u myšic nelišily. U samců byl zaznamenán rozdíl ve hmotnostech, přičemž průměrná hmotnost zvířat byla vyšší u variant krmných kontaminovanou zemínou ve srovnání s kontrolou. Samci z varianty Halda vážili v průměru 45,7 g, varianta Jince 42,7 g a kontrolní skupina 34,5 g. Tyto výsledky naznačují, že zvýšený příjem prvků nezpůsobil zvířatům závažné akutní potíže.

Výsledky obsahů prvků v orgánech pokusných zvířat ale prokázaly významný vliv požití kontaminované půdy na obsah rizikových prvků v organizmu hrabošů a myšic (Grafy 27.-42.). Obsahy As, Cd a Pb v játrech a ledvinách hrabošů a myšic odrážely obsah těchto prvků v krmných směsích a rostly se zvyšujícím se obsahem prvků v krmné směsi. Výjimku tvořil zinek, u kterého jeho obsah v játrech nerostl a v ledvinách byl zaznamenán statisticky významný nárůst pouze u myšic, a to pouze ve skupině Halda, tedy s nejvyšší úrovní kontaminace. Tento fakt potvrzuje skutečnost, že Zn je esenciální prvek a nepatří mezi kumulativní kontaminanty, protože organismus umí jeho akumulaci regulovat (Jančová et al. 2006). Oproti tomu ve vylučování prvků v exkrementech viz. grafy 3.-26., zinek netvořil výjimku a byl vylučován podobně, jako ostatní prvky. Čím více kontaminované krmivo bylo, tím se také víc vylučovalo prvků. Matović et al. (2011) uvádějí, že expozice Cd snižuje příjem esenciálních prvků, jako je Zn. Toto pozorování náš výzkum nepotvrzuje. Jedinci, kterým bylo podáváno krmivo s příměsí kontaminované půdy a rostlin, více vylučovali Zn výkaly ve srovnání s kontrolou, ale případný pokles jeho obsahu v játrech i ledvinách ve srovnání s kontrolou pozorován nebyl. Tento aspekt ale může souviset s tím, že půdy přidané do krmné směsi v našem pokusu obsahovaly zvýšené koncentrace nejen Cd, ale i Zn.

Jak je konstatováno výše, kontaminaci ovlivňuje hned několik faktorů. Můžeme je rozdělit do dvou skupin a to vnější (pH půdy, forma kontaminantů, vazba na organickou hmotu,

četnost styku jedince s kontaminantem atd.) a vnitřní (individualita organismu, věk, hmotnost atd.). Důležitá je zejména forma přijímaného prvku. Yang (2010) poukazuje na to, že biodostupnost Pb a As je v případě anorganických forem minimální, ovšem dojde-li k jejich chemickým přeměnám jak přímo v půdě, tak i jejich transformací v rostlinné biomase, zvyšuje se jejich absorpce pro organismus. Při požití anorganických forem prvků živočichem také dochází k reakcím v trávicím traktu (hlavně působením charakteristického pH), které zvyšují nebo naopak snižují jeho vstřebání. Naše výsledky ukazují vysokou biodostupnost As a Pb, ale i Cd z kontaminovaného materiálu a naznačují dobrou rozpustnost sloučenin těchto prvků v trávicím traktu.

Mascolo et al. (2004) zkoumali vliv požití jílových materiálů na koncentrace prvků (včetně As, Cd a Pb) ve vybraných tkáních potkanů během 6denní studie. Tři skupiny potkanů byly krmeny třemi různými typy jílu přidanými do standardní diety. Jíly byly vybrány podle jejich koncentrace chemických prvků, od velmi nízkých po velmi vysoké hodnoty. Stejně jako v našem experimentu, autoři nepozorovali žádný viditelný makro-toxický účinek na zvířatech použitých v pokusu. Obsah sledovaných prvků v analyzovaných orgánech včetně ledvin a jater však jednoznačně souvisel s obsahem tohoto prvku v jílu: při zvýšeném obsahu prvků v jílu obsahy v orgánech také vzrostly a obsahy prvků nalezené v ledvinách byly srovnatelné obsahem prvků v játrech. Různá biologická dostupnost jednotlivých prvků klesající v pořadí Cd > As > Pb byla stanovena jak *in vitro*, tak *in vivo* experimenty. Nižší biologickou dostupnost Pb z půdy ve srovnání s As zmiňují také Ellickson et al. (2001). V našem případě se ale zdá, že obsahy As ve tkáních jsou velmi nízké ve srovnání s olovem (i s přihlédnutím k vyššímu obsahu olova v krmné směsi ve srovnání s arsenem) a naznačují tedy vyšší biodostupnost Pb v této oblasti.

Shore (1995) zjistil, že rezidua v půdě by mohla být použita k předpovědi koncentrací Cd a Pb u malých savců. Zaznamenal signifikantní ($P < 0,05$) vztahy mezi obsahem Cd v půdě, játrech a ledvinách myšic křovinných a rejsek obecných; podobné vztahy, ale s menší vahou významnosti, se vyskytovaly u hrabošů mokřadních ($0,05 < P < 0,10$). Byly také zaznamenány významné vztahy mezi obsahy Pb v půdě a orgánech u myšic křovinných a hrabošů mokřadních. Zejména v případě Cd pak byly zjištěny významné korelace mezi obsahy prvků v orgánech všech tří zkoumaných druhů malých savců, což naznačuje, že na základě analýzy orgánů jednoho druhu lze předpovědět možnou akumulaci prvků v orgánech ostatních druhů. Náš experiment se ztotožňuje s touto studií i s výsledky a lze konstatovat, že myšice křovinné a hraboši polní mohou sloužit jako bioindikátory znečištění dané oblasti rizikovými prvky. Tersago et al. (2004) provedli imunotoxikologickou terénní studii myšice křovinné ve třech

populacích podél gradientu znečištění těžkými kovy. Koncentrace rizikových prvků v jaterních tkáních ukázaly, obsahy As, Cd, Pb klesají s rostoucí vzdáleností od neželezné huti. Ke stejnému výsledku jsme došli i v naší studii, kdy lokalita Jince se nachází ve větší vzdálenosti od zdroje kontaminace než lokalita Halda.

Noble et al. (2010) hodnotili možné riziko náhodného požití půdy obyvateli těžebního okresu v Austrálii. V blízkosti dolu byly celkové koncentrace As v půdě mezi 16 a 946 mg/kg a celkové koncentrace Pb byly mezi 12 a 430 mg/kg. Autoři dospěli k závěru, že průměrné batole (12 kg) by muselo zkonzumovat nejméně 1,5 g (a nejpravděpodobněji 12 g) půdy denně, aby se projevil některé příznaky toxicity. Z toho také vyvodili, že denní vystavení malých dětí půdě není toxické, a proto je zdravotní riziko z požití půdy v blízkosti dolu minimální. Drobní zemní savci jsou ale s půdou v mnohem těsnějším kontaktu než člověk. Milton & Johnson (1999) stanovili ekotoxikologické riziko spojené s arsenem v pastevním ekosystému, založeném na výsypkách dolu. Vysoká koncentrace arsenu v důlních šachtách (630 ± 34 mg/kg) se neodrazila v živé vegetaci kvůli fyzikálně-chemickým vlastnostem hlušiny, kdy mobilita As v této matici a jeho přijatelnost rostlinami byla velmi nízká. Nízké koncentrace arsenu u býložravých bezobratlých odrážely koncentrace zjištěné v krmivu a expozice malých savců arsenu v potravě byla výrazně nižší, než by mohlo indukovat toxikologickou odpověď, a koncentrace v tkáních byly konzistentně pod analytickými detekčními limity. Zdá se tedy, že existuje malé riziko ekotoxikologického rizika spojeného se obsahy arsenu v půdě na místě zatíženém důlní činností. I v našem případě byly obsahy As ve tkáních pokusných zvířat nízké.

Szaková et al. (2012) ale ukazují, že míra potenciálního rizika vyplývajícího z požití kontaminované půdy se v jednotlivých lokalitách liší a závisí na úrovni obsahu rizikových prvků v půdě v blízkosti daného dolu a také na biologické dostupnosti jednotlivých prvků. Proto by v lokalitách České republiky, které vykazující vysokou rizikovost měla být věnována zvláštní pozornost analýzám půdy, aby bylo možné posoudit potenciální biologickou dostupnost rizikových prvků a určit potenciální zdravotní riziko pro obyvatele. Veltman et al. (2007) dospěli k podobným poznatkům, kdy použili model bioakumulace OMEGA (Optimální modelování pro ekotoxikologické aplikace) k odhadu akumulace kadmia v orgánech býložravých hrabošů a hmyzožravých rejsků. Kromě validace modelu prováděli meta-analýzu údajů o akumulaci kadmia, protože dřívější studie se obecně zaměřily na vztahy mezi koncentracemi kadmia ve specifických tkáních (ledvinách a játrech) nebo koncentracích celého těla a celkové úrovni půdy. Navíc do výpočtu zahrnuli vztah mezi potravou a malým savcem. Výsledky ukazují, že koncentrace kadmia stanovené v celém těle studovaného živočicha

významně korelují s hladinami kadmia v dietě. Kromě toho existuje významný vztah mezi akumulací kadmia v játrech a ledvinách malých savců a celkovou úrovní kontaminace půdy. Koncentrace kadmia v rejscích jsou obvykle řádově vyšší než hladiny kovu v hraboších v důsledku vyšší akumulace kovů v žízálech ve srovnání s rostlinami. Modelové předpovědi, jak pro hraboše, tak i pro rejšky, jsou v dobré shodě s pozorováním v terénu. Je také zřejmé, že míra eliminace Cd z organismu zvířat závisí na jejich schopnosti syntetizovat metalothionein. Je tedy zřejmé, že modelování případného dopadu kontaminace prostředí na populace drobných zemních savců by mělo být doplněno stanovením vazby rizikových prvků na metalothionein v konkrétních podmínkách kontaminace prostředí.

7 Závěr

- Cílem této práce bylo posoudit míru kumulace rizikových prvků (As, Cd, Pb, Zn) v orgánech (játra, ledviny) hrabošovitých hlodavců, konkrétně druhů hraboš polní (*Microtus arvalis*) a myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*) v závislosti na úrovni kontaminace půdy. Naši hypotézu jsme potvrdili a dokázali jsme, že sledované rizikové prvky mají kumulativní charakter a jejich obsahy v organismech zvířat se zvyšují s příjmem těchto prvků v dietě.
- Hraboši i myšice byli rozděleni do 3 skupin podle pohlaví a předem zvolené směsi krmiva lišící se příměsí kontaminované půdy s různými obsahy sledovaných prvků. Zemina pocházela z oblasti Příbramska. Navíc zvířata dostávala definované množství zelené biomasy, rovněž s rozdílným obsahem prvků. Krmivo jim bylo podáváno po dobu 3 měsíců *ad libitum*.
- Z rozboru obsahu prvků v játrech a ledvinách u hrabošů polních a myšic křovinných vyplývá závislost prvků na dietě. Vysoké hodnoty rizikových prvků (As, Cd, Pb) se v organismech zvířat ukládaly hlavně u skupin, které byly krmeny dietou s přídavkem kontaminované půdy. U zinku, jako esenciálního prvku, se s výjimkou ledvin myšic křovinných signifikantní zvýšení jeho hladiny v orgánech pokusných zvířat ve srovnání s kontrolou neprojevovalo. Oproti tomu ve vylučování prvků v exkrementech, zinek netvořil výjimku a byl vylučován podobně, jako ostatní prvky. Čím více kontaminované krmivo bylo, tím se také víc vylučovalo prvků.
- Pokus potvrdil, že oba sledované druhy reagují na zvýšený obsah prvků v půdě zvýšením akumulace těchto prvků v játrech a ledvinách, přičemž nebyly pozorovány vnější projevy toxicity jako například úbytek hmotnosti. Zdá se tedy, že oba testované druhy mohou být využity jako bioindikátory znečištění půdního prostředí rizikovými prvky.
- V příštím pokusu s hraboši bych doporučila delší socializaci skupin a vypořádání konfliktů před začátkem pokusu. Během našeho pokusu s tím byl problém zejména u dominantních samců, kteří utlačovali submisivní a napadali je. Museli jsme proto některé konfliktní jedince oddělit samostatně. Dále bych pro další pokusy doporučila použít jinou podestýlku než piliny. Pro hlodavce je to velmi dobrý substrát, ale bylo poměrně komplikované separovat exkrementy od pilin.

8 Seznam literary

- Adham KG, Ibrahim HM, Hamed SS, Saleh RA. 2002. Impaired functions in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757), from polluted waters. *Aquatic Ecology* **36**:549-557.
- Adonaylo VN, Oteiza PI. 1999. Pb²⁺ promotes lipid oxidation and alterations in membrane physical properties. *Toxicology* **132**:19-32.
- Aldrich AP, Kistler D, Sigg L. 2002. Speciation of Cu and Zn in drainage water from agricultural soils. *Environmental Science & Technology* **36**:4824-4830.
- Alva AK, Huang B, Paramasivam S. 2000. Soil pH affects copper fractionation and phytotoxicity. *Soil Science Society of America Journal* **64**:955-962.
- Andrews SM, Johnson MS, Cooke JA. 1989. Distribution of trace element pollutants in a contaminated grassland ecosystem established on metalliferous fluorspar tailings. 1: Lead. *Environmental Pollution* **58**:73-85.
- Animal Elitesm 2019. Canine Toxicovigilance, July 20. Health Elite, Bayfield, WI. Available at <https://animalelite.com/toxicity> (accessed March 04, 2019).
- Anke M. 1986. Arsenic. 347-372 in *Trace Elements in Human and Animal Nutrition.*, 5th Edition. Academic, Florida.
- Attuquayefio DK, Gorman ML, Wolton RJ. 1986. Home range sizes in the Wood mouse *Apodemus sylvaticus*: habitat, sex and seasonal differences. *Journal of Zoology* **210**:45-53.
- Basu A, Ghosh P, Das JK, Banerjee A, Ray K, Giri AK. 2004. Micronuclei as biomarkers of carcinogen exposure in populations exposed to arsenic through drinking water in West Bengal, India: a comparative study in three cell types. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **13**:820-827.
- Beernaert J, Scheirs J, Leirs H, Blust R, Verhagen R. 2007. Non-destructive pollution exposure assessment by means of wood mice hair. *Environmental Pollution* **145**:443-451.
- Berglund ÅMM, Sturve J, Förllin L, Nyholm NEI. 2007. Oxidative stress in pied flycatcher (*Ficedula hypoleuca*) nestlings from metal contaminated environments in northern Sweden. *Environmental Research* **105**:330-339.
- Bernier J, Brousseau P, Krzystyniak K, Tryphonas H, Fournier M. 1995. Immunotoxicity of heavy metals in relation to Great Lakes. *Environmental Health Perspectives* **103**:23-34.
- Berry RJ, Rose FEN. 1975. Islands and the evolution of *Microtus arvalis* (Murinae). *Journal of Zoology* **177**:395-409.

- Bersényi A, Fekete S, Hullár I, Kádár I, Szilágyi M, Glávits R, Kulcsár M, Mézes M, Zöldág L. 1999. Study of the Soil—Plant (Carrot)—Animal Cycle of Nutritive and Hazardous Minerals in a Rabbit Model. *Acta Veterinaria Hungarica* **47**:181-190.
- Beyer WN, Connor EE, Gerould S. 1994. Estimates of soil ingestion by wildlife. *The Journal of Wildlife Management* **58**:375-382.
- Bracken WM, Sharma RP. 1985. Biochemical responsiveness of a bovine kidney cell line to inorganic mercury. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **14**:509-515
- Briner T, Favre N, Nentwig W, Airoidi JP. 2007. Population dynamics of *Microtus arvalis* in a weed strip. *Mammalian Biology* **72**:106-115.
- Brügger A, Nentwig W, Airoidi JP. 2010. The burrow system of the common vole (*M. arvalis*, Rodentia) in Switzerland. *Mammalia* **74**:311-315.
- Buchman AL, Neely M, Grossie VB, Truong L, Lykissa E, Ahn C. 2001. Organ heavy-metal accumulation during parenteral nutrition is associated with pathologic abnormalities in rats. *Nutrition* **17**:600-606.
- Cole FR, Batzli GO. 1978. Influence of supplemental feeding on a vole population. *Journal of Mammalogy* **59**:809-819.
- Corbet GB, Southern HN. 1991. *The Handbook of British Mammals*, 2d ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, Philadelphia.
- Csanaky I, Gregus Z. 2002. Species variations in the biliary and urinary excretion of arsenate, arsenite and their metabolites. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **131**:355-365.
- Custer TW, Franson JC, Pattee OH. 1984. Tissue lead distribution and hematologic effects in american kestrels (*Falco sparverius* L.) fed biologically incorporated lead. *Journal of Wildlife Diseases* **20**:39-43.
- Daan S, Slopsema S. 1978. Short-term rhythms in foraging behaviour of the common vole, *Microtus arvalis*. *Journal of Comparative Physiology* **127**:215-227.
- Damek-Poprawa M, Sawicka-Kapusta K. 2004. Histopathological changes in the liver, kidneys, and testes of bank voles environmentally exposed to heavy metal emissions from the steelworks and zinc smelter in Poland. *Environmental Research* **96**:72-78.
- Drouhot S, Raoul F, Crini N, Tougard C, Prudent AS, Druart C, Rieffel D, Lambert JC, Tête N, Giraudoux P, Scheifler R 2014. Responses of wild small mammals to arsenic pollution at a partially remediated mining site in Southern France. *Science of the Total Environment* **470-471**:1012-1022.

- Eisler R. 1988a. Arsenic hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review. *Contaminant Hazard Reviews* **12**:1-65.
- Eisler R. 1988b. Lead hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. US Fish and Wildlife Service Biological Report 14; Biological Report **85**:1-14. Laurel Maryland.
- Eisler R. 2000. Handbook of chemical risk assessment. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- Elia AC, Galarini R, Martin Dörr AJ, Taticchi MI. 2007. Heavy metal contamination and antioxidant response of a freshwater bryozoan (*Lophopus crystallinus* Pall., Phylactolaemata). *Ecotoxicology and Environmental Safety* **66**:188-194.
- Ellickson KM, Meeker RJ, Gallo MA, Buckley BT, Liroy PJ. 2001. Oral Bioavailability of Lead and Arsenic from a NIST Standard Reference Soil Material. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **40**:128-135.
- Ercal N, Treeratphan P, Lutz P, Hammond TC, Matthews RH. 1996. N-acetylcysteine protects Chinese hamster ovary (CHO) cells from lead-induced oxidative stress. *Toxicology* **108**:57-64.
- Erry BV, Macnair MR, Meharg AA, Shore RF. 2000. Arsenic contamination in wood mice (*Apodemus sylvaticus*) and bank voles (*Clethrionomys glareolus*) on abandoned mine sites in southwest Britain. *Environmental Pollution* **110**:179-187.
- Flowerdew JR. 1991. Wood mouse. in: Corbet GB, Southern HN. (eds) *The Handbook of British mammals*, 2d ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, Philadelphia. 220-229
- Forsyth DJ (2001) Extrapolation of laboratory tests to field populations. In: Shore RF, Rattner BA (eds) *Ecotoxicology of wild mammals*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, pp 577–634.
- Fowler BA, Hildebrand CE, Kojima Y, Webb M. 1987. Nomenclature of Metallothionein. 19-22 in *Metallothionein II*. Birkhäuser Basel, Basel.
- Funes V, Alhama J, Navas JI, López-Barea J, Peinado J. 2006. Ecotoxicological effects of metal pollution in two mollusc species from the Spanish South Atlantic littoral. *Environmental Pollution* **139**:214-223.
- Gall JE, Boyd RS, Rajakaruna N. 2015. Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. *Environmental Monitoring and Assessment* **187**:201.
- Gardiner DT, Miller RW, Badamchian B, Azzari AS, Sisson DR. 1995. Effects of repeated sewage sludge applications on plant accumulation of heavy metals. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **55**:1-6.

- Goering PL, Waalkes MP, Klaassen CD. (1995) Toxicology of cadmium. In: Goyer R.A., Cherian M.G. (eds) Toxicology of metals. Handbook of Experimental Pharmacology, vol **115**. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Gomez-Caminero A, Howe PD, Hughes N, Kenyon E, Lewis DR, et al. 2001. Arsenic and arsenic compounds. Environmental health criteria **224** 2nd ed.:1-114. World Health Organization, Geneva.
- González XI, Aboal JR, Fernández JA, Carballeira A. 2008. Heavy metal transfers between trophic compartments in different ecosystems in Galicia (Northwest Spain): Essential elements. Archives of Environmental Contamination and Toxicology **55**:691-700.
- Govind P, Madhuri S. 2014. Heavy metals causing toxicity in animals and fishes. Research Journal of Animal, Veterinary and Fishery Sciences **2**:17-23.
- Gürer H, Özgünes H, Neal R, Spitz DR, Erçal N. 1998. Antioxidant effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead-exposed rats. Toxicology **128**:181-189.
- Haken AE, Batzli GO. 1996. Effects of availability of food and interspecific competition on diets of prairie voles (*Microtus ochrogaster*). Journal of Mammalogy **77**:315-324.
- Halle S. 1993. Diel pattern of predation risk in microtine rodents. Oikos **68**:510-518.
- Hamilton PB, Huff WE, Harris JR, Wyatt RD. 1982. Natural Occurrences of Ochratoxicosis in Poultry. Poultry Science **61**:1832-1841.
- Hammond PB, Beliles RP. 1980. Chapter 17: Metals. 409-468 in Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 2nd ed. Macmillan Publishing Co., New York.
- Hanafy S, Soltan ME. 2004. Effects of Vitamin E pretreatment on subacute toxicity of mixture of Co, Pb, and Hg nitrate-induced nephrotoxicity in rats. Environmental Toxicology and Pharmacology **17**:159-167
- Harrison RM, Chirgawi MB. 1989. The assessment of air and soil as contributors of some trace metals to vegetable plants I. Use of a filtered air growth cabinet. Science of the Total Environment **83**:13-34.
- Haynes S, Jaarola M, Searle JB. 2003. Phylogeography of the common vole (*Microtus arvalis*) with particular emphasis on the colonization of the Orkney archipelago. Molecular Ecology **12**:951-956.
- Heroldová M, Zejda J, Zapletal M, Obdržálková D, Jánková E, Bryja J, Tkadlec E. 2004. Importance of winter rape for small rodents. Plant, Soil, and Environment **50**:175-181.
- Hopkin W. 1989. The problem of arsenic disposal in non-ferrous metals production. Environmental Geochemistry and Health **11**:101-112.

- Hornburg V, Brümmer G. 1993. Heavy metals in soils: 1. Experiments on heavy metal mobility. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* **156**:27-38.
- Hunter BA, Johnson MS, Thompson DJ. 1987a. Ecotoxicology of copper and cadmium in a contaminated grassland ecosystem. I. Soil and vegetation contamination. *The Journal of Applied Ecology* **24**:573-586.
- Hunter BA, Johnson MS, Thompson DJ. 1987b. Ecotoxicology of copper and cadmium in a contaminated grassland ecosystem. II. Invertebrates. *The Journal of Applied Ecology* **24**:587-599.
- Hunter BA, Johnson MS, Thompson DJ. 1987c. Ecotoxicology of copper and cadmium in a contaminated grassland ecosystem. III. Small mammals. *The Journal of Applied Ecology* **24**:601-614.
- Hunter BA, Johnson MS, Thompson DJ. 1989. Ecotoxicology of copper and cadmium in a contaminated grassland ecosystem. IV. Tissue distribution and age accumulation in small mammals. *The Journal of Applied Ecology* **26**:89-99.
- Chang AC, Page AL. 2000. Trace elements slowly accumulating, depleting in soils. *California Agriculture* **54**:49-55.
- Jacob J, Halle S. 2001. The importance of land management for population parameters and spatial behaviour in common voles (*Microtus arvalis*). In *Advances in Vertebrate Pest Management II*. Filander Verlag: Fürth, Německo, 319-330.
- Jacob J, Manson P, Barfknecht R, Fredricks T. 2014. Common vole (*Microtus arvalis*) ecology and management: implications for risk assessment of plant protection products. *Pest Management Science* **70**:869-878.
- Jacob J, Tkadlec E. 2010. Rodent outbreaks in Europe: dynamics and damage. 207-223 in *Rodent outbreaks – ecology and impacts*. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines.
- Jančová A, Massányi P, Nad' P, Koréneková B, Skalická M, Drábeková J, Baláž I. 2006. Accumulation of heavy metals in selected organs of yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*). *Ekológia* **25**:19-26.
- Johnson FM. 1998. The genetic effects of environmental lead. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* **410**:123-140.
- Kabata-Pendias A, Pendias H. 2010. *Trace Elements in Soil and Plants*, 4th ed. CRC Press, Boca Raton, FL.

- Kålås JA, Steinnes E, Lierhagen S. 2000. Lead exposure of small herbivorous vertebrates from atmospheric pollution. *Environmental Pollution* **107**:21-29.
- Karmakar R, Bhattacharya R, Chatterjee M. 2000. *BioMetals* **13**:231-239.
- Khangarot BS, Rathore RS, Tripathi DM. 1999. Effects of chromium on humoral and cell-mediated immune responses and host resistance to disease in a freshwater Catfish, *Saccobranchus fossilis* (Bloch). *Ecotoxicology and Environmental Safety* **43**:11-20.
- Kido T, Nogawa K, Hochi Y, Hayano M, Honda R, Tsuritani I, Ishizaki M. 1993. The renal handling of calcium and phosphorus in environmental cadmium-exposed subjects with renal dysfunction. *Journal of Applied Toxicology* **13**:43-47.
- Kitchin KT. 2001. Recent advances in arsenic carcinogenesis: Modes of action, animal model systems, and methylated arsenic metabolites. *Toxicology and Applied Pharmacology* **172**:249-261.
- Klaassen C. 1981. Pharmacokinetics in metal toxicity. *Fundamental and Applied Toxicology* **1**:353-357.
- Klaassen CD, Liu J, Choudhuri S. 1999. Metallothionein: An intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **39**:267-294.
- Kotzageorgis GC, Mason CF. 1997. Small mammal populations in relation to hedgerow structure in an arable landscape. *Journal of Zoology* **242**:425-434.
- Krocova Z, Macela A, Kroca M, Hernychova L. 2000. The immunomodulatory effect(s) of lead and cadmium on the cells of immune system in vitro. *Toxicology in Vitro* **14**:33-40.
- Landres PB, Verner J, Thomas JW. 1988. Ecological uses of vertebrate indicator species: A critique. *Conservation Biology* **2**:316-328.
- Lansdown R, Yule W, Urbanowicz MA, Hunter J. 1986. The relationship between blood-lead concentrations, intelligence, attainment and behaviour in a school population: the second London study. *International Archives of Occupational and Environmental Health* **57**:225-235.
- Lawrence DA, McCabe MJ. 2002. Immunomodulation by metals. *International Immunopharmacology* **2**:293-302.
- LeBlanc A, Shen S, Lew K, Weinfeld M, Chris Le X. 2009. Detection of benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adducts in mononuclear white blood cells by CE immunoassay and its application to studying the effect of glutathione depletion. *Electrophoresis* **30**:1558-1563.
- Le Louarn H, Quéré JP. 2003. Les rongeurs de France: faunistique et biologie. Editions Quae. 260.

- L'Herroux L, Roux SL, Appriou P, Martinez J. 1997. Behaviour of metals following intensive pig slurry applications to a natural field treatment process in Brittany (France). *Environmental Pollution* **97**:119-130.
- Li Y, McCrory DF, Powell JM, Saam H, Jackson-Smith D. 2005. A Survey of selected heavy metal concentrations in Wisconsin dairy feeds. *Journal of Dairy Science* **88**:2911-2922.
- Liu Z-X, Govindarajan S, Kaplowitz N. 2004. Innate immune system plays a critical role in determining the progression and severity of acetaminophen hepatotoxicity. *Gastroenterology* **127**:1760-1774.
- Loman J. 1991. The small mammal fauna in an agricultural landscape in southern Sweden, with special reference to the wood mouse *Apodemus sylvaticus*. *Mammalia* **55**:91-96.
- Lopes PA, Viegas-Crespo AM, Nunes AC, Pinheiro T, Marques C, Santos MC, Da Luz Mathias M. 2002. Influence of age, sex, and sexual activity on trace element levels and antioxidant enzyme activities in field mice (*Apodemus sylvaticus* and *Mus spretus*). *Biological Trace Element Research* **85**:227-239.
- Ma WC, Talmage SS. 2001. Insectivora. In: Shore RF, Rattner BA. (eds) *Ecotoxicology of Wild Mammals*. John Wiley & Sons LTD, New York, 123-158.
- Ma WC. 1989. Effect of soil pollution with metallic lead pellets on lead bioaccumulation and organ/body weight alterations in small mammals. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **18**:617-622.
- Ma WC. 1996. Lead in mammals. In: Beyer W, Heinz G, Redmon-Norwood A. (eds.): *Environmental contaminants in wildlife. Interpreting tissue concentrations*. CRC Press Inc, London, 281-296.
- Maddrey WC. 2005. Drug-induced hepatotoxicity. *Journal of Clinical Gastroenterology* **39**: 83-89.
- Martin MH, Coughtrey PJ. 1982. *Biological Monitoring of Heavy Metal Pollution*. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Martin BG. 2003. The role of small ground-foraging mammals in topsoil health and biodiversity: Implications to management and restoration. *Ecological Management and*
- Martinet L, Spitz F. 1971. Variations saisonnières de la croissance et de la mortalité du campagnol des champs, *Microtus arvalis*. Role du photopériodisme et de la végétation sur ces variations. *Mammalia* **35**:38-84.
- Mascolo N, Summa V, Tateo F. 1999. Characterization of toxic elements in clays for human healing use. *Applied Clay Science* **15**:491-500.

- Mascolo N, Summa V, Tateo F. 2004. *In vivo* experimental data on the mobility of hazardous chemical elements from clays. *Applied Clay Science* **25**:23-28.
- Matović V, Buha A, Bulat Z, Đukić-Ćosić D. 2011. Cadmium Toxicity Revisited: Focus on Oxidative Stress Induction and Interactions with Zinc and Magnesium. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* **62**.
- McDonald P. 2011. *Animal nutrition*, 7th ed. Prentice Hall/Pearson, New York.
- Metcheva R, Teodorova S, Topashka-Ancheva M. 2003. A comparative analysis of the heavy metal loading of small mammals in different regions of Bulgaria I: monitoring points and bioaccumulation features. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **54**:176-187.
- Miller RS. 1958. A Study of a wood mouse population in Wytham Woods, Berkshire. *Journal of Mammalogy* **39**:477-493.
- Milton A, Cooke JA, Johnson MS. 2003. Accumulation of Lead, Zinc, and Cadmium in a Wild Population of *Clethrionomys glareolus* from an Abandoned Lead Mine. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **44**:405-411.
- Milton A, Johnson M. 1999. Arsenic in the food chains of a revegetated metalliferous mine tailings pond. *Chemosphere* **39**:765-779.
- Moore MM, Harrington-Brock K, Doerr CL. 1997. Relative genotoxic potency of arsenic and its methylated metabolites. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* **386**:279-290.
- Mullins JE, Fuentealba IC. 1998. Immunohistochemical detection of metallothionein in liver, duodenum and kidney after dietary copper-overload in rats.. *Histol Histopathol* **13**:627-633.
- National Research Council. 1991. *Animals as sentinels of environmental health hazards: Committee on Animals as Monitors of Environmental Hazards, Board on Environmental Studies and Toxicology, Commission on Life Sciences, National Research Council.* National Academy Press, Washington, D.C.
- Nicholson FA, Smith SR, Alloway BJ, Carlton-Smith C, Chambers BJ. 2003. An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales. *Science of the Total Environment* **311**:205-219.
- Noble RRP, Hough RM, Watkins RT. 2010. Enrichment and exposure assessment of As, Cr and Pb of the soils in the vicinity of Stawell, Victoria, Australia. *Environmental Geochemistry and Health* **32**:193-205.
- Novotný E. 1966. *Veterinární histologie*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.

- Nriagu JO, Pacyna JM. 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature* **333**:134-139.
- Nriagu JO. 1990. Global metal pollution: Poisoning the biosphere? *Environment: Science and Policy for Sustainable Development* **32**:7-33.
- Ozougwu, JC, Eyo, JE. 2014. Hepatoprotective effects of *Allium cepa* (onion) extracts against paracetamol-induced liver damage in rats. *African Journal of Biotechnology* **13**:2679-2688.
- Ozougwu JC. 2017. Physiology of the liver. *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences* **4**:13-24.
- Pande M, Mehta A, Pant BP, Flora SJS. 2001. Combined administration of a chelating agent and an antioxidant in the prevention and treatment of acute lead intoxication in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **9**:173-184.
- Park BK, Pirmohamed M, Kitteringham NR. 1995. The role of cytochrome P450 enzymes in hepatic and extrahepatic human drug toxicity. *Pharmacology & Therapeutics* **68**:385-424.
- Patra RC, Swarup D, Dwivedi SK. 2001. Antioxidant effects of α tocopherol, ascorbic acid and l-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology* **162**:81-88.
- Pereira R, Pereira ML, Ribeiro R, Gonçalves F. 2006. Tissues and hair residues and histopathology in wild rats (*Rattus rattus* L.) and Algerian mice (*Mus spretus* Lataste) from an abandoned mine area (Southeast Portugal). *Environmental Pollution* **139**:561-575.
- Petrick JS, Ayala-Fierro F, Cullen WR, Carter DE, Vasken Aposhian H. 2000. Monomethylarsonous acid (MMAIII) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology* **163**:203-207.
- Petrick JS, Jagadish B, Mash EA, Aposhian HV. 2001. Monomethylarsonous acid (MMA III) and arsenite: LD 50 in hamsters and *in vitro* inhibition of pyruvate dehydrogenase. *Chemical Research in Toxicology* **14**:651-656.
- Purcell PW, Hynes MJ, Fairley JS. 1992. Lead levels in Irish small rodents (*Apodemus sylvaticus* and *Clethrionomys glareolus*) from around a tailings pond and along motorway verges. *Proceedings of the Royal Irish Academy* **92B**:79-90.
- Rabitsch WB. 1995. Metal accumulation in arthropods near a lead/zinc smelter in Arnoldstein, Austria. I. *Environmental Pollution* **90**:221-237.
- Radike M et al. 2011. Distribution and accumulation of a mixture of arsenic, cadmium, chromium, nickel, and vanadium in mouse small intestine, kidneys, pancreas, and femur

- following oral administration in water or feed. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* **65**:2029-2052.
- Rainbow PS. 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what?. *Environmental Pollution* **120**:497-507.
- Rattner BA. 2009. History of wildlife toxicology. *Ecotoxicology* **18**:773-783.
- Rogival D, Scheirs J, Coen WD, Verhagen R, Blust R. 2006. Metal blood levels and hematological characteristics in wood mice (*Apodemus sylvaticus* L.) along a metal pollution gradient. *Environmental Toxicology and Chemistry* **25**:149-157.
- Ruby MV, Schoof R, Brattin W, Goldade M, Post G, Harnois M, Mosby DE, Casteel SW, Berti W, Carpenter M, Edwards D, Cragin D, Chappell W. 1999. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment. *Environmental Science & Technology* **33**:3697-3705.
- Salomons W, Förstner U. 1984. *Metals in de hydrocycle*. Springer-Verlag, Berlin.
- Sands P, Tarasofsky R. 1995. *Documents in European Community environmental law*. Manchester University Press, Manchester and New York.
- Sánchez-Chardi A, Peñarroja-Matutano C, Borrás M, Nadal J. 2009. Bioaccumulation of metals and effects of a landfill in small mammals Part III: Structural alterations. *Environmental Research* **109**:960-967.
- Sánchez-Chardi A, Peñarroja-Matutano C, Ribeiro CAO, Nadal J. 2007. Bioaccumulation of metals and effects of a landfill in small mammals. Part II. The wood mouse, *Apodemus sylvaticus*. *Chemosphere* **70**:101-109.
- Saunders JR, Knopper LD, Koch I, Reimer KJ. 2010. Arsenic transformations and biomarkers in meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*) living on an abandoned gold mine site in Montague, Nova Scotia, Canada. *Science of the Total Environment* **408**:829-835.
- Shacklette HT, Boerngen JG. 1984. *Element concentrations in soils and other surficial materials of the conterminous United States*. U.S. Geological Survey Professional Paper 1270. Government Printing Office, Washington, DC.
- Sharma RP, Shupe JL. 1977. Lead, cadmium, and arsenic residues in animal tissues in relation to those in their surrounding habitat. *Science of the Total Environment* **7**:53-62.
- Sheffield SR, Sawicka-Kapusta K, Cohen JB, Rattner BA. 2001. Rodentia and Lagomorpha. In: Shore RF, Rattner BA. (eds) *Ecotoxicology of Wild Mammals*. John Wiley & Sons LTD, New York, 215-314.

- Shen S, Lee J, Weinfeld M, Le XC. 2008. Attenuation of DNA damage-induced p53 expression by arsenic: A possible mechanism for arsenic co-carcinogenesis. *Molecular Carcinogenesis* **47**:508-518.
- Shenbrot GI, Krasnov BR. 2005. An atlas of the geographic distribution of the arvicoline rodents of the world (Rodentia, Muridae: Arvicolinae). Pensoft Publ., Sofia.
- Shore RF, Douben PET. 1994a. Predicting ecotoxicological impacts of environmental contaminants on terrestrial small mammals. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. **134**:49-89
- Shore RF, Douben PET. 1994b. The ecotoxicological significance of cadmium intake and residues in terrestrial small mammals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **29**:101-112.
- Shore RF. 1995. Predicting cadmium, lead and fluoride levels in small mammals from soil residues and by species-species extrapolation. *Environmental Pollution* **88**:333-340.
- Scheirs J, De Coen A, Covaci A, Bernaert J, Kayawe VM, Caturla M, De Wolf H, Baert P, Van Oostveldt P, Verhagen R, Blust R, De Coen W. 2006. Genotoxicity in wood mice (*Apodemus sylvaticus*) along a pollution gradient: exposure-, age-, and gender-related effects. *Environmental Toxicology and Chemistry* **25**:2154-2162.
- Silbergeld E. 2003. Facilitative mechanisms of lead as a carcinogen. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **533**:121-133.
- Sonne C, Dietz R, Leifsson PS, Born EW, Kirkegaard M, Letcher RJ, Muir DCG, Riget FF, Hyldstrup L. 2006. Are organohalogen contaminants a cofactor in the development of renal lesions in east greenland polar bears (*ursus maritimus*)?. *Environmental Toxicology and Chemistry* **25**:1551-7.
- Stav životního prostředí v jednotlivých krajích České republiky v roce 2001. 2002. Ministerstvo životního prostředí, Praha. Available at http://www.env.cz/ZZP_Regio_01/titul.htm (accessed February 26, 2019).
- Stein GHW. 1958. Die Feldmaus. Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart, Germany.
- Stewart DM. 1994. Does lead have a future? A twenty-year vision. *Journal of Power Sources* **48**:17-27.
- Storm GL, Fosmire GJ, Bellis ED. 1994. Persistence of metals in soil and selected vertebrates in the vicinity of the Palmerton zinc smelters. *Journal of Environment Quality* **23**:508-514.
- Styblo M, Del Razo LM, Vega L, Germolec DR, LeCluyse EL, Hamilton GA, Reed W, Wang C, Cullen WR, Thomas DJ. 2000. Comparative toxicity of trivalent and pentavalent

- inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells. *Archives of Toxicology* **74**:289-299.
- Száková J, Novosadová Z, Zídek V, Fučíková A, Zídková J, Miholová D, Tlustoš P. 2012. Effect of the diet amended with risk elements contaminated soil on risk elements content in tissues and hematological parameters of rats. *Czech Journal of Animal Science* **9**:430–441.
- Talmage SS, Walton BT. 1991. Small mammals as monitors of environmental contaminants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* **119**:47-145.
- Tersago K, De Coen W, Scheirs J, Vermeulen K, Blust R, Van Bockstaele D, Verhagen R. 2004. Immunotoxicology in wood mice along a heavy metal pollution gradient. *Environmental Pollution* **132**:385-394.
- Thomas DJ, Styblo M, Lin S. 2001. The cellular metabolism and systemic toxicity of arsenic. *Toxicology and Applied Pharmacology* **176**:127-144.
- Thornton I. 1981. Geochemical aspects of the distribution and forms of heavy metals in soils. In: Lepp N.W. (eds) *Effect of heavy metal pollution on plants*. Pollution Monitoring Series, vol 2. Springer, Dordrecht.
- Timbrell J. 2002. *Introduction to toxicology*. Boca Raton, Florida.
- Tlustoš P, Száková J, Šichorová K, Pavlíková D, Balík J. 2005. Rizika kovů v půdě v agroekosystémech v ČR. Vědecký výbor fyto-sanitární a životního prostředí:1-32. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby.
- Topashka-Ancheva M, Metcheva R, Teodorova S. 2003. A comparative analysis of the heavy metal loading of small mammals in different regions of Bulgaria II: chromosomal aberrations and blood pathology. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **54**:188-193.
- Torres KC, Johnson ML. 2001. Bioaccumulation of metals in plants, arthropods, and mice at a seasonal wetland. *Environmental Toxicology and Chemistry* **20**:2617-2626.
- Veltman K, Huijbregts MAJ, Hamers T, Wijnhoven S, Hendriks AJ. 2007. Cadmium accumulation in herbivorous and carnivorous small mammals: Meta-analysis of field data and validation of the bioaccumulation model optimal modeling for ecotoxicological applications. *Environmental Toxicology and Chemistry* **26**:06-518R.
- Viegas-Crespo AM, Lopes PA, Pinheiro MT, Santos MC, Rodrigues PD, Nunes AC, Marques C, Mathias ML. 2003. Hepatic elemental contents and antioxidant enzyme activities in Algerian mice (*Mus spretus*) inhabiting a mine area in central Portugal. *Science of The Total Environment* **311**:101-109.

- Von Blanckenhagen F, Eccard JA, Ylönen H. 2007. Animal protein as a reproductive constraint in spring reproduction of the bank vole. *Ecoscience* **14**:323-329.
- Waalkes MP. 2000. Cadmium carcinogenesis in review. *Journal of Inorganic Biochemistry* **79**:241-244.
- Walton KC. 1987. Fluoride in bones of small rodents living in areas with different pollution levels. *Water, Air, and Soil Pollution* **32**:113-122.
- Wanibuchi H, Salim EI, Kinoshita A, Shen J, Wei M, Morimura K, Yoshida K, Kuroda K, Endo G, Fukushima S. 2004. Understanding arsenic carcinogenicity by the use of animal models. *Toxicology and Applied Pharmacology* **198**:366-376.
- Wilson DE, Reeder DAM. 2005. *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*, 3rd ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Winge DR, Rajagopalan KV. 1972. Purification and some properties of Cd-binding protein from rat liver. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **153**:755-762.
- Włostowski T, Krasowska A, Laszkiewicz-Tiszczenko B. 2000. Dietary cadmium induces histopathological changes despite a sufficient metallothionein level in the liver and kidneys of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* **126**:21-28.
- Wren CD. 1986. Mammals as biological monitors of environmental metal levels. *Environmental Monitoring and Assessment* **6**:127-144.
- Yang JK, Barnett MO, Jardine PM, Brooks SC. 2010. Factors Controlling the Bioaccessibility of Arsenic(V) and Lead(II) in Soil. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal* **12**:165-179.