

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zoologie a rybářství**



**Vliv psychoaktivních látek na stres jelce tlouště *Squalius cephalus* L.**

**Bakalářská práce**

**Kateřina Fialová**

**Speciální chovy**

**Ing. Pavel Horký, Ph.D.**

© 2019 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Vliv psychoaktivních látek na stres jelce tlouště *Squalius cephalus* L." jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 18.4.2019

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu za poskytlou šanci a trpělivost, Claudii Kruschel za rozšíření obzorů a Jáchymovi Péčovi za podporu.

# Vliv psychoaktivních látek na stres jelce tlouště *Squalius cephalus* L.

## Souhrn

Znečištění vodního prostředí stále expanduje a obsažení polutanty mají negativní vliv na živočichy, které toto prostředí obývají. Bylo zjištěno, že farmaceutika mohou měnit chování zvířat, deformovat je a omezovat jejich zdraví. Látky, které jsou obsaženy v odpadních vodách mohou být hrozbou i pro lidské uživatele. Již byla zaznamenána pitná voda kontaminovaná toxickými látkami. K ohrožení může také dojít kumulací škodlivých substitucí v telích ryb a bezobratlých organismů. Vliv psychoaktivních látek tramadolu a sertralinu na jelce tlouště, může vést k dalšímu poodhalení, jak se farmaceutika chovají v necílovém organismu. Pokud budou zjištěny veškeré následky psychoaktivních látek, bude možné indikovat znečištění podle živočichů, kteří v něm žijí. Bohužel tento proces nyní nemožný, jelikož léky účinkují na různé organismy rozdílně. Mohou být rozdílně ovlivňováni i jedinci stejného druhu na základě různého stáří, hmotnosti, potravních preferencí a habitatu. Pokus na velikost oční zornice jelce tlouště byl prováděn v laboratorních podmínkách a bylo zjištěno, že při podání léčiv se zornice experimentální skupiny signifikantně rozšířily v porovnání s kontrolní skupinou. Výsledek studie znamená, že sertralin a tramadol působí v nervové soustavě jelce tlouště a tím potvrzuje, že léčiva působí ve stejném centru jako je tomu u lidí.

**Klíčová slova:** toxikologie, stresová zátěž, vodní prostředí, odpadní vody, vodní organismy

# Effect of psychoactive compounds on a stress response of chub *Squalius cephalus* L.

## Summary

The human influence on our aquatic ecosystem is getting bigger every year and it has a negative influence on animals living there. Researches show that drugs have a direct influence on animals behavior, they have health issues and can cause them to change their behavior. Toxic materials in our wastewater have an effect on people too, we can see many examples of that around the world. Problem is that these harmful substances are combined in our waters and in animals living in them. If we find out what effect psychoactive substances like tramadol and sertraline can have on *Squalius cephalus*, we can see more clearly what happens when animals are exposed to substances not meant for their organism. It is possible that psychoactive substances have a different effect on fishes depending on different weight, age or habitat. That is why it is impossible to indicate the cleanses of water based on fishes living in it. The experiment we conducted in laboratory conditions focused on pupil size of *Squalius cephalus*. It was found that the pupil of the experimental group was significantly bigger after being exposed to psychoactive substances compared to our control group. Result of this experiment is that tramadol and sertraline have an effect on *Squalius cephalus* nervous system, thus affecting the same part of the body as in humans.

**Keywords:** toxicology, stress, aquatic environment, waste water, aquatic organism

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>8</b>
<b>2 Cíl práce .....</b>	<b>9</b>
<b>3 Znečištění vodních ekosystémů .....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Znečištění vodní sítě v ČR .....</b>	<b>11</b>
<b>3.2 Způsoby znečištění .....</b>	<b>13</b>
<b>3.3 Detekce znečištění.....</b>	<b>14</b>
3.3.1 Biondikace .....	16
<b>3.4 Čištění odpadních vod .....</b>	<b>18</b>
3.4.1 Biomimikry.....	18
<b>4 Psychoaktivní látky.....</b>	<b>21</b>
<b>4.1 Sertralin .....</b>	<b>22</b>
<b>4.2 Tramadol.....</b>	<b>23</b>
<b>5 Negativní vliv psychoaktivních látek na vodní organismy.....</b>	<b>24</b>
<b>6 Jelec tloušť .....</b>	<b>28</b>
<b>6.1 Anatomie .....</b>	<b>28</b>
<b>6.2 Etologie.....</b>	<b>29</b>
6.2.1 Výskyt a habitat .....	29
6.2.2 Potrava .....	29
6.2.3 Reprodukce.....	30
<b>6.3 Chov.....</b>	<b>30</b>
<b>7 Stres u ryb.....</b>	<b>31</b>
<b>7.1 Nervová soustava ryb.....</b>	<b>32</b>
<b>8 Souhrn úvodní části a odvození hypotéz.....</b>	<b>35</b>
<b>9 Metody a materiály .....</b>	<b>36</b>
<b>9.1 Pokusná zvířata .....</b>	<b>36</b>
<b>9.2 Pokus .....</b>	<b>36</b>
<b>10 Metodická část.....</b>	<b>37</b>
<b>10.1 Analýza dat .....</b>	<b>37</b>
<b>11 Výsledky.....</b>	<b>38</b>
<b>12 Diskuze .....</b>	<b>40</b>
<b>13 Závěr .....</b>	<b>42</b>

<b>14 Literatura .....</b>	<b>43</b>
----------------------------	-----------

.

# 1 Úvod

Znečištění životního prostředí farmaceutickými látkami je problém, o kterém se dlouho nevědělo. Množství léčiv je uvolňováno lidmi do vodního prostředí v čím dál větším množství a nyní jsou považována za hlavní hrozbu. Léčiva jako taková jsou typicky navržena tak, aby vykazovala fyziologické účinky při nízkých dávkách a jejich neustálý vstup do životního prostředí může vést k prodloužené expozici, biokumulaci a nepříznivým dopadům na necílové organismy. Účinky na savce jsou dobře známy, ale informace o jejich ekotoxicitě a ekologických účincích jsou nedostatečné.

Tato práce se zabývá vlivem antidepresiva sertralinu a opioidního léku tramadolu na stresovou zátěž jelce tlouště. Jelec tloušť byl vybrán, jelikož je vnímán jako nenáročný, běžně se vyskytující druh, který je schopen se přizpůsobit různým podmínkám, jak přírodním, tak i umělým (Benzer & Gül, 2017). Vyskytuje se téměř po celé Evropě a často obývá znečištěné řeky, kde může být jeho chování ovlivňováno psychotropními látkami jako je tramadol a sertralin.



## **2 Cíl práce**

Práce je zaměřená na sledování stresu jelce tlouště vystaveného reálným koncentracím vybraných psychoaktivních sloučenin, které se běžně vyskytují v říční síti ČR. Stres bude sledovaný v laboratorních podmínkách. Testovaná hypotéza je, že reálné koncentrace psychoaktivních sloučenin, které se běžně vyskytují v říční síti ČR, významným způsobem ovlivňují stresovou zátěž jelce tlouště.

### 3 Znečištění vodních ekosystémů

Znečištění vodních ekosystémů má negativní vliv jak na živočichy, tak i na lidské spotřebitele, proto je důležité zabránit dalšímu znečišťování vod. Evropská unie (EU) v roce 1991 uložila státům EU povinnost vybavení všech měst, která jsou větší než 15 000 obyvatel, čistírnami vod. Zavedení mělo proběhnout před 1. lednem 2000 a u obcí nad 2 000 obyvatel do 31. prosince 2005. Tato ustanovení umožňují kontrolu konečné kvality zpracovaných vod. Kvalita odpadních vod je charakterizována globálními parametry jako je biologická spotřeba kyslíku (BOD), chemická spotřeba kyslíku (COD), celkový organický uhlík (TOC) nebo celková suspendovaná pevná látka (TSS) a sloučeniny dusíku a fosforu. Veškeré tyto hodnoty musí být nižší než maximální přípustné hodnoty, v závislosti na konkrétních předpisech (Thomas et al., 1997).

Celá Země se potýká s problémy způsobenými znečištěnými vodami. K takové kontaminaci dochází mnoha způsoby. Do vodních ploch se dostávají pesticidy splavem z polí a podzemními vodami, chemikálie a různé sloučeniny z osobní hygieny a mycích prostředků. Mnohé z těchto látek jsou perzistentní (dlouhodobě setrvávající látky v prostředí) nebo lipofilní (rozpuštěné v tucích) chemikálie. Tyto látky se dlouhodobě kumulují v životním prostředí a mohou vstupovat do potravního řetězce (Randák et al., 2006). Odhad Světové zdravotnické organizace je takový, že přibližně 780 milionů lidí nemá přístup k bezpečnému zdroji vody (WHO-UNICEF, 2012).

Znečištění už není pouze v podobě pesticidů. Čím dál tím více jsou zjišťována farmaceutika ve vodním prostředí. Rizika týkající se léčivých přípravků na životní prostředí řeší Evropská agentura pro léčivé přípravky (EMA- European Medicines Agency). Zjistit veškeré žádoucí i nežádoucí účinky léčiv je velice náročné a u žádného léčiva není jasně zjištěn dopad na všechny organismy, které mu mohou být vystaveny. Proto se při žádosti o registraci nového humánního nebo veterinárního léčiva posuzuje environmentální riziko. Musí být vyhodnoceno, zda je eventuálně možná průnik léku do vodního prostředí, biokumulace v potravním řetězci a odhadnout koncentraci látky. Pokud je předpokládaná koncentrace v životním prostředí (PEC- Predicted environmental concentration)  $< 0,01 \mu\text{g} / \text{l}$  a nejsou žádné jiné pochybnosti, předpokládá se neškodnost léku. Naopak pokud je hodnota PEC  $\geq 0,01 \mu\text{g} / \text{l}$ , musí se provést testy na eventuální škodlivé účinky (EMA 2006).

### 3.1 Znečištění vodní sítě v ČR

V českých řekách se také objevují takzvané perzistentní organické polutanty, které zůstávají v prostředí po dlouhou dobu z důvodu jejich špatné rozložitelnosti. Ukládají se stejně jako toxické kovy do vodních sedimentů a usazují se ve vodních organismech. Tento jev má za následek přítomnost v potravním řetězci i na místech, kde již ke znečišťování nedochází. U zvířat, mohou vést vysoké koncentrace farmaceutik k narušení endokrinní soustavy. Nejvyšší koncentrace byla naměřena ze svalové tkáně ryb v oblasti Labe - Svadov. Na tomto místě také bylo zaznamenáno nejvyšší množství pesticidů, jelikož je tato oblast charakteristická intenzivním zemědělstvím (Cervený et al., 2014).

Rostoucí znečištění vodního prostředí v ČR je převážně způsobeno zemědělskými a průmyslovými látkami, které se v posledních několika desetiletích stále zvyšují (Havelková et al., 2008). V mnoha malých řekách poblíž polí způsobují eroze zemědělských půd a následný splav látek, vysoký obsah fosfátů v povrchových vodách (Mrkva & Jánský, 2018). Pro monitorování míry znečištění a druhů škodlivých látek ve vodách se využívá hlavně biomarkerů a distribuce různých průmyslových a komunálních znečišťujících látek, díky kterým je možné zkoumat vliv kontaminace na ryby a ostatní organismy (Burkina et al., 2018).

Znečištění odpadních vod není nebezpečné pouze pro organismy, které v takto znečištěných vodách žijí. Vysoké riziko je i při příjmu takto kontaminovaných jedinců, kdy jsou jedinci spotřebováni nejen lidmi, ale jinými obratlovci, u kterých také může docházet k nežádoucím účinkům a kumulaci v organismu. Těžké kovy a perzistentní organické sloučeniny jsou jedny z hlavních nečistot monitorované na řece Labi (Randák et al., 2006).

Tato problematika je řešena ve spojitosti s obsahem rtuti ve svalech lovených ryb. Konzumace ryb, které obsahují ve svém těle rtuť, je považována za jeden z hlavních problémů (Havelková et al., 2008). Sedláčková et al. (2014) prováděli výzkum zatížení organismu jelce tloušť rtutí v českých řekách. Uvedli, že nejvyšší procentní podíl methylrtuti byl nalezen v lokalitě Sázava - Nespeky a nejnižší oblast Lužnice - Bechyně. Dále uvádějí, že z oblastí Labe - Obříství a Vltava - Vraňany by měla být konzumace ryb nejnižší, jelikož zde dochází k vysoké biokumulaci v tělech ryb (Sedláčková et al., 2014).

Kumulace škodlivých látek se vyskytuje ve znečištění zbytky bromových zpomalovačů hoření, které je stále možné nalézt v životním prostředí, díky jejich široké oblasti využití. Jsou to často používané průmyslové chemikálie, které se přidávají do mnoha materiálů. Tyto látky se bioakumulují v rybích tkáních a tím se mohou dostávat i do lidské tkáně. Tři druhy ryb, byly použity jako bondikátoři těchto látek. Okoun říční (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758) zastupoval dravce, jelec tloušť a cejn velký (*Abramis brama* Linnaeus, 1758) všežravce. U okouna říčního byla zaznamenána vyšší koncentrace chemikálií, zatímco u jelce tloušť a cejna velkého byly hodnoty téměř stejné. Vysoká biokumulace u okouna říčního by mohla být zapříčiněna tím, že je to dravec (Hajšlová et al., 2007).

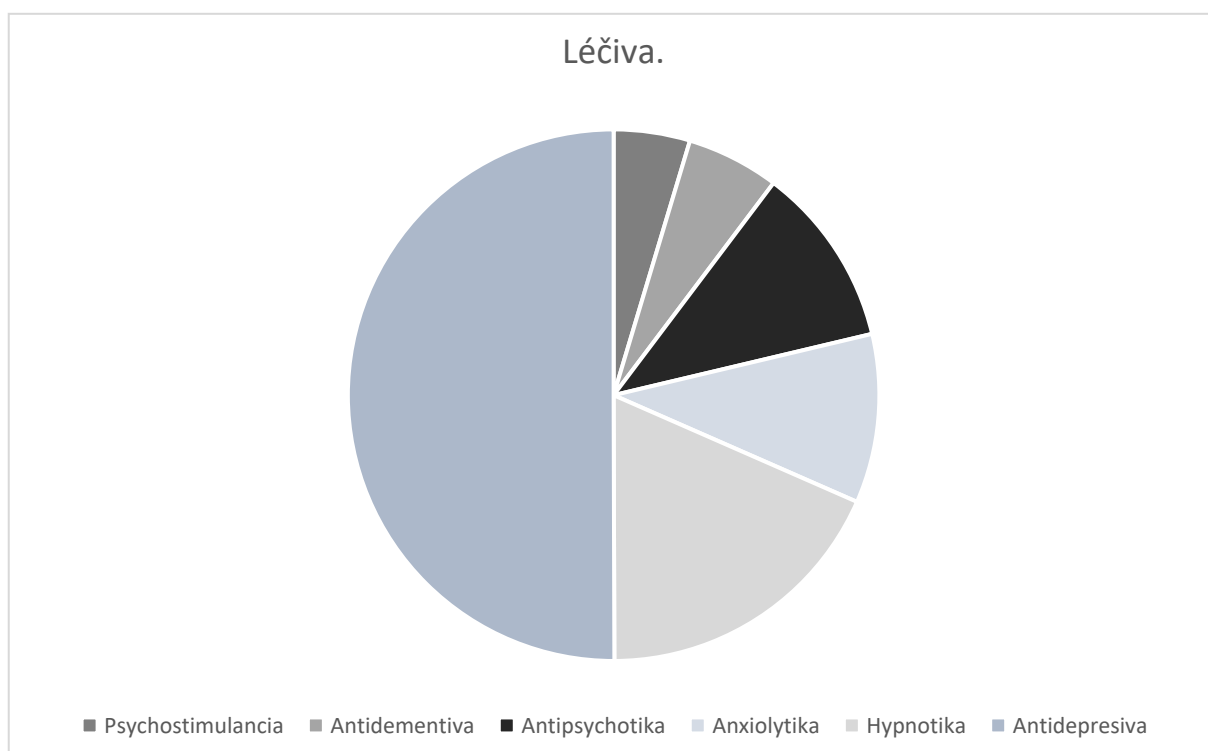
Jedním nejdiskutovanějším tématem v poslední době je eutrofizace vod. Eutrofizace vod je vysoké zatížení fosforem a dusíkem. Nadbytečný fosfor se do vodního prostředí dostává ze zemědělské půdy a dusík z používání hnoje na polích (Reynolds & Davies, 2001). Rosendorf et al. (2016) ukazuje, že v povodích horní Vltavy, Berounky a dolní Vltavy dosahují hodnoty fosforu od 0,1 do 9,98 kg/ km<sup>2</sup>. Tento vstup fosforu není významným zdrojem eutrofizace těchto řek. Fosfor se do řek dostává také erozími v místech s vyšším výskytem aluviálních půd (půdy vzniklé v nivách vodních toků). Zvýšené množství dusíku naopak od fosforu přesahuje kritickou zátěž převážně v místech s hospodářskou aktivitou (Rosendorf et al., 2016).

Následující tabulka vyobrazuje měsíční příjem ryb druhu parma obecná (*Barbus barbus* Linnaeus, 1758) které jsou vystaveny insekticidu z uvedených lokalit, které je možno konzumovat po celý život bez negativního vlivu na zdraví člověka. Odhaduje se na 70 kg váhy jedince (Cervený et al., 2014).

NÁZEV AREÁLU	Methylrtuť (MeHg)	Kadmium (Cd)	Dichlorodifenyltrichlorethan (DDT)
	Měsíční porce		
řeka Berounka- Praha	13	nd	6946
řeka Labe- Obříství	8,5	nd	46 880
řeka Labe- Pardubice	15,5	nd	65 882
řeka Labe- Svadov	19	nd	1424
řeka Lužnice- Majdalena	27	nd	222 576
řeka Lužnice- Soběslav	14,5	nd	17 362
řeka Ondra- Ostava	7,5	1281	3 778
řeka Otava- Strakonice	20,5	nd	11 225
VN Dalešice	9,5	nd	2 555
VN Hněvkovice	16,5	nd	14 490
VN Jesenice	62,5	nd	40 172
VN Jordán	14,5	nd	38 663
VN Kořensko	8	nd	64 506
VN Lipno	21	nd	138 022
VN Mušov	22,5	3843	939
VN Nechanice	23,5	nd	26 283
VN Olešná	15	1081	14 448
VN Orlík	12,5	5065	11 240
VN Rozkoš	27	nd	12 182
VN Skalka	6	3843	89 840
VN Slapy	46,5	nd	13 642
VN Slezká Harta	10,5	1747	5 552
VN Těrlicko	48,5	2477	24 955
VN Trnavka	29,5	nd	92 186
VN Větrov	115,5	5764	18 576
VN Vranov	11	1921	4 797
VN Žermanice	16,5	721	11 709

Tabulka č.1. Jedna porce 170g, počet porcí na jednu osobu za jeden měsíc. Nd - koncentrace nebyla naměřena převzato z Cervený et al. (2014).

Důležitou a dosud nejednoznačně prozkoumanou hrozbou je znečištění vod farmaceutiky. Tento problém se týká i řek v ČR. Čističky odpadních vod nejsou plně schopny odstranit veškerá léčiva z vod (Fedrova et al., 2014). Ve studii Grabicova et al. (2017) zkoumali znečištění Živného potoku (přítok Blanice) psychoaktivními látkami. Zjistili, že nejčastějším lékem byl tramadol, poté citalopram, mirtazapin, setralin a venlafaxin (Grabicova et al., 2017). Fedorová et al. (2014) se shodují s výše zmíněnou studií, že lék tramadol je jedním z nejrozšířenějších. Uvádí, že citalopram, venlafaxin a oxazepam byli detekováni na všech místech, kde byla prováděna studie (Fedorová et al., 2014).



Graf. 1. Spotřeba léků u duševních onemocnění v České republice v roce 2015 (Suchopár et al., 2016).

### 3.2 Způsoby znečištění

Kontaminace vod jako takové je způsobeno buď přírodním nebo antropogenním vlivem. Způsoby zamoření vod polutanty se mohou dělit podle tak zvaných bodových, difuzních a plošných zdrojů. Znečištění povrchových vod bývá způsobeno třemi hlavními zdroji a to zemědělstvím, průmyslem a obyvatelstvem. Místa, kde dochází k přímému styku odpadních vod s životním prostředím jsou bodové zdroje. To představují výpusty kanalizací v obcích nebo průmyslové podniky. Drobní znečišťovatelé jako jsou malá pole a farmy jsou označovány difuzní zdroje. Plošné zdroje jsou hlavně zemědělského původu a jsou rozptýleny kolem vodního prostředí (Hlaváček & Pepřík, 2013). K zemědělskému znečištění dochází hlavně u povodí řek, kdy se využívá více než 2/3 jeho území. Zdroje znečištění jsou převážně hnojiva

(živiny) a pesticidy. Zemědělská produkce společně s komunálním odpadem z lidských sídel bývá často vypouštěna přímo do vodních ploch a toků, což přispívá k významnému nárůstu fytoplanktonu ve vegetačním období. V nádrži Slapy je možné zaznamenat v tomto období vysoký nárůst cyanobakterií a řas, což způsobuje nedostatek kyslíku ve vodě a nemožnost samočištění. Nárůst cyanobakterií a řas není však způsoben pouze eutrofizací povrchových vod, ale i oteplováním vod (Mrkva & Janský, 2018). K znečištění dochází také při erozích půdy a tím se dostávají pesticidy a hnojiva ze zemědělských ploch do vodních toků (Farias Et al., 2018).

### 3.3 Detekce znečištění

Odpadní voda se dostává do čistíren, kde je následně čištěna od dusíku a fosforu, potravin, větších objektů, mýdel a detergentů. Detekce zbylých látek v odpadních vodách po vypuštění čistírnou byla často klamná. Monitoring odpadních vod bohužel selhával na prováděných kontrolních postupech, které zahrnují odběr vzorků, skladování a laboratorní analýzu. Tento proces může značně poškodit vzorky při manipulaci a výskytu chyb (Thomas et al., 1997).

Kvalita odpadních vod je závislá na mnoha fyzikálních ukazatelích. Obsah kyslíku je ovlivňován teplotou vody. Nedostatek kyslíku ve vodách může způsobit podmínky neslučitelné se životem. Dalším ukazatel je Ph vod a vyhodnocování cizích látek. Jakost vody lze hodnotit i podle pachu (Pitter, 2009).

Jedním z hlavních zdravotních rizik spojených s vodou a tekutým odpadem je identifikace mikrobiálních patogenů. Detekce mikrobiálních patogenů je jedním z hlavních zdravotních rizik spojených s vodou a tekutým odpadem. Analýza vod zahrnuje patogenní viry, bakterie a parazitické červy. Polymerázová řetězová reakce (PCR) je velice přesná metoda stanovování těchto rizikových substancí, pomocí bakterie, která je rozšířena mezi lidskými populacemi, jako indikátory znečištění prostředí (McQuaig et al., 2006). Ke stanovení tohoto znečištění se využívá bakterie *Escherichia coli* (Escherich, 1885) (Muniesa et al., 2018).

Z odpadních vod se může dostat do životního prostředí mnoho škodlivých látek, některé z nich jsou popsány v následujícím textu:

#### Fosfor

Základním prvkem kontroly kvality vody je právě fosfor. Vysoké množství této látky způsobuje nadměrný růst řas ve vodě a dochází tím k eutrofizaci a poklesu kvality vod (Islam et al., 2016). Fosfor ve vodách může způsobit velká nebezpečí a je mnoho způsobů, jak zjistit jeho vysokou koncentraci ve vodě. Jednou z možností je za pomoci pásek na bázi nanovláken, kdy optická změna barvy polypropylenu značí určité množství znečištění (De Almeida et al., 2015). Elektrochemické techniky pracují za použití látky, která vytváří elektrický signál, který

je úměrný koncentraci látky ve vzorku. Detekce je také možná za pomoci fluorescence, což je součástí spektroskopické metody. Částice ve vzorku jsou ozařovány za určité vlnové délky a nazpět vyzařují záření o jiné vlnové délce. Tuto metodu lze využít pro kvantitativní a kvalitativní analýzu (Islam et al., 2016).

## **Dusík**

Dusík je přirozený prvek v prostředí, který je důležitý pro růst a výživu organismů. Do životního prostředí ale proniká i prostřednictvím odpadních vod a hnojiv (Abbott et al., 2018). Splavem dusík vstupuje do povrchových a podzemních vod. Dusík se dostává do vod jak z atmosféry přirozeně, tak i ze spalování fosilních paliv. Vstup dusičnanů z hospodářských oblastí je největší hrozbou eutrofizace vod (Andersen et al., 2014).

## **Rtuť**

Jeden z hlavních komponentů znečišťujících vodní prostředí je rtuť. Přetrvává na dně vod v sedimentech, uvolňuje se do životního prostředí a biokumuluje se v organismech (Sedláčková et al., 2013). Znečištění životního prostředí rtuť antropogenními vlivy je velice nebezpečné, jelikož ke kontaminaci dochází daleko od zdroje (Shyam et al., 2018). Pro člověka je nebezpečná při konzumaci ryb, kterým se ukládá v organické formě methylrtuti ve svalové tkáni. Přítomnost této látky může negativně ovlivnit nervový, kardiovaskulární a imunitní systém (Sedláčková et al., 2014). Methylrtuť je obzvlášť škodlivá, jelikož se může biokumulovat ve velkých a starších rybách, které jsou na vrcholu potravního řetězce a mají nepřiměřeně vyšší množství látky v těle (Shyam et al., 2018). Množství methylrtuti ve svalových tkáních se provádí pomocí atomové absorpční spektrometrie (Randák et al., 2009). Tato metoda měření určuje množství absorbovaného záření chemickým prvkem, který je předmětem zájmu, tedy rtuti (Mehrorang et al., 2006).



Obr. 1. Nárůst cyanobakterií a řas v důsledku eutrofizace (Potužák & Duras, 2016).

### 3.3.1 Biondikace

Vzhledem k tomu, že environmentální kontaminující látky mohou mít široké spektrum subletálních (nejsou smrtelné) účinků na organismy, bioindikátoři jsou užitečným nástrojem pro posouzení přítomnosti a úrovně chemického znečištění (Havelkova et al., 2008). Jedním z nejčastějších bioindikátorů pro měření kontaminace v tekoucích vodách v České republice je využíván jelec tloušť, jelikož je všežravý a vyskytuje se v mnoha českých řekách (Randák et al., 2006).

Bioindikace se také využívá při zjišťování kontaminace rtuti ve vodách za pomoci různých druhů ryb. Dusek et al. (2005) zjišťovali množství rtuti ze svalové tkáně ryb. Prvním projevem je významně se měnící kontaminace tkání ve vztahu k věku nebo hmotnosti ryb. Dalším faktorem je hromadění rtuti v těle ryb vzhledem k jejich postavení v potravním řetězci. V řece Labe bylo zjištěno, že nejméně citlivé ukazatele znečištění rtutí byly druhy všežravých a herbivorních druhů ryb (Dusek et al., 2005).

Randák et al. (2006) využili jako bioindikátora znečištění jelce tlouště v řekách Labe, Vltava a Blanice. V řece Labe bylo zjištěno signifikantně vyšší množství polutantů než v jiných řekách. Ryby v Obříství, kudy protéká řeka Labe, vykazovaly nejhorší zdravotní status. Všichni jelci tloušti vykazovali v této lokalitě velké změny na povrchu kůže (léze a abscesy). V rybách se ve vysokém množství objevoval i vitellogenin u kterého bylo nejvyšší množství



zaznamenáno v krevní plazmě u samce jelce v Zelčíně a ve Valech. Vitellogenin v krevní plazmě byl zjištěn za pomoci ELISA testu (Randák et al., 2006). Havelkova et al. (2008) měřili polychlorované bifenyly a polycyklické aromatické uhlovodíky z jater a svalové tkáně jelce tlouště. Nejvyšší hladina polychlorovaných bifenyly byla naměřena v Němčicích, Obříství, Zelčínu, Valech a Lysé. Tyto látky se používají převážně jako změkčovadla a izolátory (Randák et al., 2006). Havelkova et al. (2008) zkoumali množství polycyklických aromatických uhlovodíků. Polycyklické aromatické uhlovodíky jsou obsaženy přirozeně v životním prostředí, ale také se uměle vyrábí jako nafta či asfalt. Vznikají při spalování například v elektrárnách (Ravindra et al., 2008). Nejvyšší hladiny těchto znečištění byly zjištěny ze svaloviny jelce tlouště z místa Obříství a na řece Svatce. Pro identifikaci bromových zpomalovačů byl využit jako bioindikátor cejn velký, okoun říční a jelec tloušť.

Na Labi je chemické znečištění způsobeno závody chemického průmyslu, které jsou umístěny podél jejích břehů. Velké chemické znečištění ve Svatce je způsobeno hustě osídleným městem Brno. Praha a její okolí je považováno za důležitý zdroj kontaminace vodního prostředí polycyklických aromatických uhlovodíků (Havelkova et al., 2008). Randák et al. (2006) zkoumali efekt odpadních vod ze třech hlavních chemických závodů, které jsou umístěny na řece Labi. Znečištění mělo dopad na bioindikatora samce jelce tlouště v oblasti Ústí nad Labem, kde se u mladých ryb identifikovali někteří jako intersex (jedinec má samčí i samčí části pohlavní ústrojí).

K bioindikaci se využívají i jiné organismy. Rak kamenáč (*Austropotamobius torrentium* Schrank, 1803) je velice citlivý na znečištění a využívá se na zjišťování polutantů v potocích. Při vysokém znečištění dochází k vysokému úmrtí až vyhynutí raků v daném místě. Raci jsou i velmi citliví na Ph vody, kdy musí být rozmezí okolo 6,96 až 8,41 (Svobodová et al., 2013).

Koncentrace polutantů v parazitech, kterými jsou napadené ryby, může být mnohdy lepším bioindikátorem než přímo vybraný druh ryby. Bylo zkoumáno množství olova v tkáních jater, pohlavních žlázách, svalů s kůží a kostí okouna říčního. Rybí tkáň akumuluje nižší množství kovů než vrtejší, kteří jsou častým parazitem ryb. Průměrná hodnota olova v *Acanthocephalus lucii* (Müller, 1776) byla 2 700krát vyšší než ve svalů, 770krát vyšší než v játrech a 280krát vyšší než ve střevech hostitele (Jankovská et al., 2011).

Výbornými ukazateli znečištění jsou rostliny, které dokáží dlouhodobě zadržovat mnoho polutantů. Rostliny rostoucí kolem břehů byly použity jako bioindikátoři těžkých kovů. Podél řeky Moravy byly takto hodnoceny kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica* L.) a smetánka lékařská (*Taraxacum officinale*) (Zeidler, 2005). Jedním z dalších bioindikatorů je okřehek (*Lemna minor*). Pro jeho správný růst je zapotřebí dostatek dusíku a fosforu z nepufrované vody. V blízkosti kořenů existuje mnoho bakterií, které jsou schopny odstranit nestravitelné pevné látky. Pomocí těchto kobercových rostlin je možné určit stav vody. Pokud voda není kontaminována vysokým obsahem fosfátů a dusíku, rostliny mají dlouhé kořeny, aby měly větší možnost získat živiny z vody. Pomocí biomarkerů lze zjistit množství látek, které vody obsahují a pokusit se je vyčistit (Tyrrell, 2015).

### 3.4 Čištění odpadních vod

Odpadní vody shromážděné z obcí a měst musí být nakonec vypuštěny do nádrží na odpadní vodu, přírodního prostředí nebo být znovu použity. Primárně se z odpadních vod odstraňují větší tělesa a poté chemické či biologické kontaminanty. Existují různé úrovně čištění:

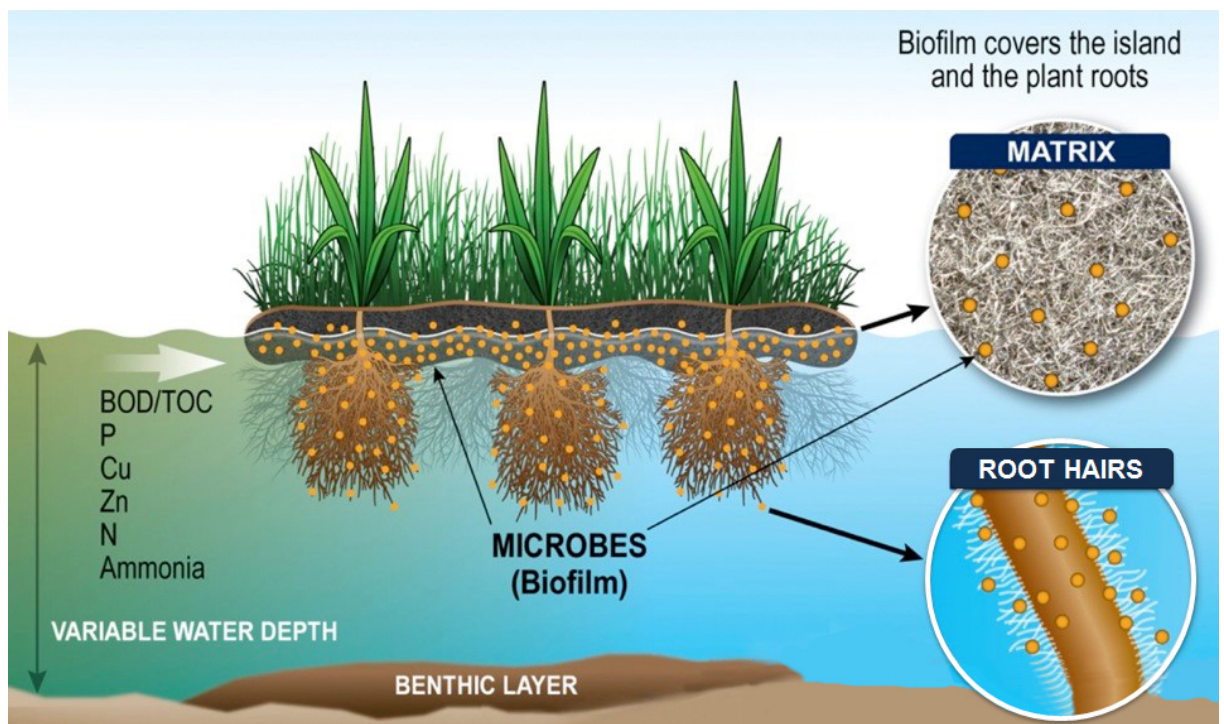
1. Předběžné - odstranění složek odpadních vod, jako jsou hadry, větve, plovoucí objekty, štěrk, písek a mastnoty, které mohou způsobit problémy s provozem čistících procesů a pomocných systémů.
2. Primární - odstranění suspendovaných pevných látek (bahno, rozvířený sediment ze dna, rozkládající se rostlinná hmota) a organických látek z odpadních vod. Obvykle se provádí přidáním chemikálií nebo filtrací.
3. Pokročilá primární - vylepšené odstraňování suspendovaných pevných látek a organických látek z odpadních vod. Obvykle se provádí přidáním chemikálií nebo filtrací.
4. Sekundární - odstranění biologicky rozložitelných organických látek (v roztoku nebo v suspenzi) a suspendovaných pevných látek. V této úrovni se typicky používá dezinfekce.
5. Sekundární s odstraněním živin - odstranění biologicky rozložitelných organických látek, suspendovaných látek a živin (dusík, fosfor nebo obojí).
6. Terciární - odstranění zbytkových suspendovaných pevných látek (po sekundárním zpracování), obvykle granulovanou filtrací nebo mikroskopickými filtry. Dezinfekce je také součástí terciárního ošetření. Odstraňování živin je často součástí této úrovně.
7. Pokročilé - odstranění rozpuštěných a suspendovaných materiálů, které zůstanou po normálním biologickém ošetření, pokud je to nutné pro opětovné použití vody (Metcalf and Eddy Inc., 2004)

#### 3.4.1 Biomimikry

Je mnoho způsobů, jak pochopit, naučit se a využít procesy, které jsou udržitelné a jsou ověřené již tisíce let. Takové systémy jsou viděny v přírodě a jsou inspirací pro udržitelnější budoucnost. Napodobování procesů, designů a schopností z přírody se nazývá biomimikry. Bio znamená řecky život a slovo mimikry znamenají napodobování někoho či něčeho. Pomocí těchto systémů, je možnost přispět pro lepší budoucnost nejen v čištění vod (Asknature.com).

Odpadní voda, která již pro lidskou či zemědělskou spotřebu nemá využití, často končí v životním prostředí. Za pomoci zpracování znečištěných vod v mokřadech je možné vodu dále používat (Bonner et al., 2018). Mokřadní systém je schopný efektivně odstranit z odpadních vod mnoho polutantů jako jsou organické materiály, živiny, stopové prvky, farmaceutické kontaminanty, patogeny a mnoho dalších (Wu et al., 2015). Zpracování vody v mokřadech vyžaduje určitou dobu, aby mohly být látky transformovány nebo degradovány. Mokřadní rostliny ovlivňují znečištěnou vodu mnoha způsoby. Voda je čištěna pomocí husté penetrace kořenů a stonků (Bonner et al., 2018).

Rostliny s velkými kořenovými strukturami dokáží účinně odstraňovat léky z odpadních vod procesem rhizofilizace (látky jsou přijímány z okolní vody za pomoci kořenů) Kotyza et al., (2009). Degradace léčiv je ovlivněna mnoha faktory, rostliny v mokřadech degradují organické sloučeniny pomocí komenzálních bakteriálních kultur. Lék ibuprofen je degradován bakteriálním biofilmem na rostlinném kořenu (Mackuřak et al., 2015). Li et al. (2014) uvádějí, že vybudování mokřadů jako prostředku čištění psychoaktivních látek (tramadol, citalopram, oxazepam) z odpadních vod má velký potenciál, ale zatím je nedostatek dat, které by přesvědčivě demonstrovali výkon a efektivitu vybudovaných mokřadů.



Obr. 2. Bakteriální biofilm na rostlinném kořenu (van der Valk A. G., 2012).

Řasy jsou nejproduktivnějšími fotosyntetickými organismy na Zemi. *Coelastrella sp.* a *Coelastrum astroideum* byly nejefektivnější v odstranění léčiva rozpustného ve vodě. Karbamazepin, oxazepam, tramadol, kodein a další byly nejvíce perzistentní a méně než 40 % těchto léků bylo odstraněno pomocí řas. Lipofilní léčiva zůstala ve vodách v menší než 12% koncentraci. Odstranění tramadolu bylo úspěšné ze 74 %. *Desmodesmus sp.* byl schopný odstranit 45 % tramadolu pouze se 3 % nahromaděnými v biomase, co indukuje specifický metabolismus této řasy vůči tomuto léku. Řasy běžně se vyskytující v rybnících byly schopné odstranit až 57 % tramadolu během 7 dnů (Gojkovic et al., 2019).

Ze systémů mokřadů se také inspirovali Gu et al. (2018), kteří využili jako čistič odpadních vod společenství ryb, mikroorganismů a vegetace. Využita byla rýže. Semenáčky byly zasazeny na plovoucí plochu, aby se zvýšil kontakt kořenů rýže s odpadní vodou (Gu et al., 2018). Tento systém pomocí hydrofytů se také používá při ekologickém čištění eutrofních vod (Trang & Brix. 2014).

Ze systémů mokřadů se také inspirovali Gu et al. (2018), kteří využili jako čistič odpadních vod společenství ryb, mikroorganismů a vegetace. Využita byla rýže. Semenáčky byly zasazeny na plovoucí plochu, aby se zvýšil kontakt kořenů rýže s odpadní vodou (Gu et al., 2018). Tento systém pomocí hydrofytů se také používá při ekologickém čištění eutrofních vod (Trang & Brix. 2014).

Filtrovacím mechanismem nečistot do velikosti 25 mikrometrů bez chemické pomoci se inspirovali členové organizace Asknature.com v mořském světě. Filtr Baleen je vysoce účinný, beztlakový samočisticí filtr inspirován studiem velryb, které takto zachycují plankton, malé ryby a jiné mořské organismy z vody během přijímání potravy (Asknature.com, 2017).

## 4 Psychoaktivní látky

Léčiva mohou být obsažena v odpadních vodách a negativně tak ovlivnit organismy, které žijí v odpadních vodách. Látky mohou mít na živočichy nepříznivé účinky ovlivňováním identických nebo podobných cílových orgánů, tkání, buněk nebo biomolekul (Fent et al., 2006). Odlišné účinky na receptory, které se podobají těm, které se vyskytují u savců znamenají, že odhadování vlivu farmaceutik na vodní organismy může naprosto selhat. Léčiva jsou mnohy biologicky neodbouratelná a přetrvávají v životním prostředí dlouho dobu a tím se jejich vliv může prodloužit (Li a Randák, 2009). Kontaminace životního prostředí farmaceutiky se často vyskytuje v nižších koncentracích, než je pro živočichy smrtelné. Znečištěné vody obsahují látky, které mohou působit negativně na sensorické, hormonální, neurologické a metabolické systémy vodních organismů. Jedinci mohou být poté narušeni nebo poškozeni a může se to projevit na jejich chování. Psychoaktivní látky byly již nalezeny v pitné vodě, povrchových vodách, podzemních vodách, mořské vodě a odpadních vodách. Koncentrace v odpadních vodách byla u některých léků natolik vysoká, že bylo možné naměřit toxicitu pomocí testů ekotoxicity (Kellner et al., 2018).

Psychoaktivní látky jsou substance, které ovlivňují duševní procesy exponovaného organismu. Pojem psychoaktivní látka a psychotropní droga jsou jedním z nejpoužívanějších termínů pro celou třídu látek, které mohou být jak, legální tak i nelegální. Ve farmacii je možnost se setkat s různými druhy těchto látek (WHO, 2012). Tento typ léků je vytvořen tak, aby změnil chování uživatele (Kellner et al., 2018).

Psychoaktivní látky jsou většinou lipofilní a v čistírnách vod jsou odstraněny pouze do určité míry (Kellner et al., 2018). Výskyt těchto látek v odpadních vodách se využívá jako ukazatel trendů spotřeby různých substancí podle regionů (Campos-Mañas et al., 2019). Mezi nejčastěji předepisované látky patří selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu. V Evropě a Severní Americe je to lék sertralin, fluoxetin, citalopram, paroxetin a fluvoxamin (Lamichhane et al., 2014).

Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI- selective serotonin reuptake inhibitors) jsou jednou z nejnovějších forem antidepresiv, která potlačují látky vychytávající neurotransmitter serotoninu ze synaptické štěrbiny (mezibuněčný prostor) a zvyšují tak jeho hladinu. Serotonin je neurotransmitter, který je zodpovědný za ovlivňování přesného fungování nervového a hormonálního systému. Může ovlivňovat chuť k jídlu, chování a modifikovat sexuální funkce (Kellner et al., 2018).

Jedním z nejčastěji užívaným lékem SSRI v mnoha zemích na světě je citalopram. Toto léčivo působí pouze na neuroendokrinní systém. Citalopram účinkuje na komplexní serotoninergní systém a podílí se na usměrňování nálady a řadu jiného chování. U savců také moduluje růst neuronů (Fricker et al., 2005). Efekt na savce je v podobě snížené míry úzkosti, změnami chování a sníženou agresivitou (Kellner et al., 2018). Jedním z dalších léčiv SSRI je fluvoxamin, u něhož Theodore et al. (2004) zjistili, že se jeho koncentrace po 48 hodinovém testu rapidně snížila. To by mohlo mít za následek, že je lék náchýlný k fotolýze (rozklad látky způsobený světlem) ve vodním prostředí. Pokud by tomu tak bylo, je kontaminace životního prostředí tímto léčivem snížena, jelikož je nestabilní a není schopen přetrvat natolik dlouho, aby měl negativní biologické účinky (Theodore et al., 2004).

Ve znečištěných vodách se také mohou objevovat benzodiazepinová léčiva, jako je diazepam, která působí na centrální nervový systém prostřednictvím GABA receptorů. Tyto receptory mají za následek modulaci endogenních (vnitřních) inhibičních neurotransmiterů kyseliny gama-aminomáselné. Aktivace receptorů vede k otevření iontového kanálu a umožňuje procházet chloridovým iontům. Tento proces vede ke snížení excitability (dráždivosti) neuronů. Tento proces se může projevit u jedince jako sedace, hypnóza, snížená úzkost, svalová relaxace a anterográdní amnézie (neschopnost vytváření nových vzpomínek) (Overturf et al., 2016). V životním prostředí se vyskytuje lék oxazepam, který je vedlejším produktem degradace diazepamu. Proto při srovnání těchto dvou léčiv byly koncentrace ve vodním prostředí oxazepamu vyšší (Cunha et al., 2017).

Odpadní vody mohou také obsahovat tricyklická antidepresiva, která se podávají při stavech jako je deprese, úzkostné poruchy, bolestivé syndromy (souhrn příznaků, které charakterizují určitou nemoc) nebo poruchy příjmu potravy. Tato léčiva fungují tak, že blokují žpětné absorpce serotoninu a nonadrenalinu v presynaptických nervových zakončení, kde byl neurotransmitter uvolněn. To způsobuje, že neurotransmitter působí déle. Nejčastěji se vyskytující tricyklická antidepresiva jsou amitriptylin, nortriptylin a klomipramin (Sehonova et al., 2018).

#### **4.1 Sertralin**

Sertralin je jedním z nejčastějším předepisovaným SSRI (Xie et al., 2015). Lamichhane et al. (2014) uvádí, že je to třetí nejvíce užívaný lék, ale je to jeden z nejtoxičtějších pro vodní organismy. Z toho důvodu je koncentrace tohoto léku nejčastěji kontrolována ve vodním prostředí. Sertralin se předepisuje pro léčbu klinické deprese a u některých kompulzivních poruch (Xie et al., 2015).

Sertralin se běžně vyskytuje v povrchových a odpadních vodách a dokáže se akumulovat v různých organismech (Xie et al., 2015, Bossus et al., 2014.). Množství sertralínu v roce 2008 naměřeného v Severní Americe a Evropě bylo od 0,06 do 0,6 mg/l (Schultz et al., 2010).

Xie et al. (2005) zjistili, že k nejvyšší kumulaci léčiva dochází v játrech. Vysoké množství sertralinu v játrech by mohlo být zapříčiněno tím, že játra jsou primárním orgánem metabolismu xenobiotik (látka nevznikající v organismu, ale je schopná ho farmakologicky ovlivňovat) (Schultz et al., 2010). Ve studii Grabicová et al. (2017) však poukazuje na nejvyšší koncentraci sertralinu v mozku. Ramirez et al. (2009) ve své studii poukazuje, že sertralin se nejčastěji z SSRI vyskytuje ve svalové tkáni a játrech ryb v USA.

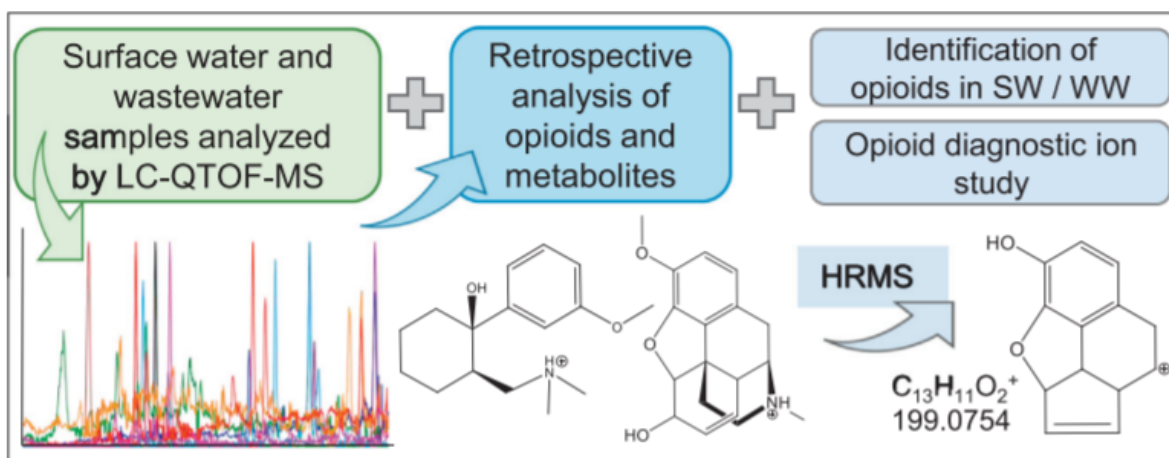
Tento lék je lipofilní (rozpustný v tucích) a pasivně proniká přes lipidové membrány, a tak vykazuje slučitelnost k tukovým tkáním (Schultz et al., 2010). U těhotných žen, které užívají sertralin je známo, že tento lék kontaminuje mateřské mléko a může zapříčinit toxicitu kojenců a následně způsobit například hypoglykémii. Zvýšené množství sertralinu má za následek zpomalený růst a nižší příjem potravy. Tyto projevy by mohly být způsobeny zvýšenou hladinou serotoninu (Connors et al., 2009). Pokud je hladina serotoninu zvýšená, nastává u myší dramatický pokles příjmu potravy (Mequid et al., 2000). Zvýšené množství serotoninu má následky také u vodních organismů. Dramaticky zpomaluje u vodních organismů růst, podle čeho se dá poznat znak vývojové toxicity (Conner et al., 2009). Tento stav byl zaznamenán i u myší (Meguid et al., 2000). Z těchto výsledků se nedá vyloučit, že požívání léčiva matkou, může mít vliv i na kojence (Connors et al., 2009).

## 4.2 Tramadol

Tramadol se využívá pro léčbu středně závažných akutních nebo chronických bolestí (Cátia et al., 2017). Řadí se mezi opioidy a působí na nervový systém, aby zmírnil mnoho typů bolesti například po operacích nebo zmírnění bolesti u lidí s pokročilým karcinomem. Opioidy jsou řazeny mezi narkotika, jelikož mohou způsobit závislost. Velké množství požití těchto léčiv v jedné dávce může vést k úmrtí (Campos-Mañas et al., 2019). Účinky farmaceutik na savcích, jak již bylo zmíněno jsou velice dobře prozkoumány a tramadol může při častém užívání způsobit nežádoucí účinky (Cátia et al., 2017). Při chronickém vystavení potkanů tramadolu, byl jedním ze zaznamenaných projevů vyvolání hepatotoxicity a nefrotoxicity. Tyto toxicity jsou způsobeny tramadolem, jelikož tramadol a jeho metabolity jsou vylučovány ledvinami, a proto jsou ledviny považovány za primární cílový orgán (Eatemand & Sala-Eldin, 2015, Cátia et al., 2017). Grabicová et al. (2017) ve své studii také uvádí, že je tramadol nejvíce zastoupený v játrech a v ledvinách je pouze stopové množství.

Jedním z nejčastějších opioidů zjištěných v odpadních vodách byl právě tramadol (Campos-Mañas et al., 2019), který má vliv na vodní organismy, které jsou mu vystaveny (Burič et al., 2018). Studie Tanoue et al. (2019) poukazuje, že účinky tramadolu na ryby jsou nejednoznačné. Při podání střední dávky léčiva nebyla žádná odezva experimentálních ryb. Vysoká a nízká koncentrace látky způsobila zvýšené plavání v horní části nádrže (Tanoue et al.,

2019). Množství opioidů v odpadních vodách je zjistitelné za pomoci retrospektivní analýzy, kdy se provádí rozbor, který postupuje od účinku opioidů k jejich příčinám a je tak možné identifikovat daleko více látek (Campos-Mañas et al., 2019).



Obr. 3. Retrospektivní analýza opioidů. HRMS (high resolution mass spektrometry)-Tandemová hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (slouží k identifikaci a stanovení obsahu látek) (Campos-Mañas et al., 2019).

## 5 Negativní vliv psychoaktivních látek na vodní organismy

Díky novodobým způsobům zjišťování polutantů z těl organismů i vodního prostředí, se dá vyhodnotit vliv různých látek na živočichy. Antidepresiva, benzodiazepiny a opioidy jsou legálně i nelegálně získávány a užívány ve velkém množství. Řadí se do skupiny kontaminantů, kterým se přikládá velký význam kvůli široké spotřebě moderní společností a jejich přetrvávání v životním prostředí. Látky v odpadních vodách, které už nejsou nijak filtrovány, se dostávají do prostředí, buď ve své původní podobě, nebo jako metabolity se zbytkovými aktivitami. Tato léčiva mohou působit jako toxikanty u necílových organismů, které poté vykazují farmakologický účinek, například estrogenní aktivitu (Cuhna et al., 2019).

Psychoaktivní léky jsou vytvořeny tak, aby vyhovovaly specifickým molekulárním cílům (receptory a enzymy) u lidí, podobnost, kterou mají vodní organismy v molekulárních cílech, mohou působit na proteiny, které jsou odvozeny ze společného původního proteinu z dob speciace (evoluční proces vzniku nových biologických druhů) (Cuhna et al., 2019). Pokud je znám genom necílových organismů, na které mají látky v odpadních vodách účinek, je snažší předvídat jejich působení na jejich organismus. Je nutné vědět, jestli organismus má cílový gen, ve kterém by farmaceutická substance vyvolávala jejich farmakologickou aktivitu. U vodních obratlovců je dobře zmapovaný genom u Drápatky tropické (*Silurana tropicalis* Gray,



1864) a Dánia pruhovaného (*Danio rerio* Hamilton, 1822), u kterých je známo 80 % farmaceutických molekulárních cílů. U bezobratlých organismů jako je Hrotnatka obecná (*Daphnia pulex* Leydig, 1860) je to přibližně 60 % (Gunnarsson et al., 2012).

Jedním z hlavních negativních vlivů psychoaktivních látek jsou poruchy chování, reprodukce a malformace (vrozené vývojové vady) (Sehonova et al., 2018). Jedním z prvních příznaků je behaviorální ekotoxikologie (Cunha et al., 2019). Ekotoxikologie je vědní obor, který kombinuje studium ekosystémů a interakce chemických látek (Altenberger R., 2011). Škodlivé chemické látky se mohou projevovat u ryb zvýšenou agresivitou, sníženou pohyblivostí a změnami příjmu potravy (Kellner et al., 2018). S větší náchylností je možné se setkat u predace, kdy dochází k nezájmu, odvážlivosti nebo rychlému nekontrolovanému plavání. Tyto faktory mnohdy neovlivňují jenom jedince, ale celé populace, ryby se hůře reprodukuje a nezvládají péči o mláďata (Cunha et al., 2019).

V souvislosti s touto problematikou je často zkoumáno Dánio pruhované právě kvůli znalosti genomu, jak již bylo zmíněno. Tato ryba je často zkoumána v souvislosti s různými druhy látek, které ovlivňují chování, například při vypuštění bromazepamu do vody, nastal snížený zájem o plavání v hejnu a preference na světlý podklad (Cunha et al., 2019, Miller & Gerlai, 2007).

Citalopram je charakteristický tím, že snižuje úzkost, napětí, strach a celkovou stresovou zátěž u ryb (Kellner et al., 2017). To způsobilo u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) sníženou potřebu lovit a útočit (Sehonova et al., 2018). Při podání citalopramu byla zaznamenána inhibice růstu u druhu fytoplanktonu. Rak mramorový (*Procambarus virginalis* Lyko, 2017) výrazně snížil svou pohyblivost, hlavně rychlost, než tomu bylo u kontrolních jedinců (Cunha et al., 2019). U *Ceriodaphnia dubia* (Richard, 1894) se zvýšila úmrtnost při vyšší koncentraci léku (Theodore et al., 2004). Tento lék způsobil u samičky dánia pruhovaného absenci nehybného chování a změny v reprodukci. U pstruha duhového bylo ještě zaznamenáno snížení hladiny kortizolu, což způsobuje sníženou reakci na hrozbu. Studie také objevily, že i při velmi nízké koncentraci jako je 11 µg / l, dochází k biokumulaci ve svalech a mozkové tkáni (Cunha et al., 2019). Arnnok et al., (2017) však odhalili, že v různých jedincích jsou hodnoty citalopramu různé a koncentrace léku je tedy selektivní. Klonazepam se projevil u dánia pruhovaného nesoudržností s ostatními jedinci v nádrži, kratší dobou strávenou ve tmě a zvýšenou pohybovou aktivitou (Overturf et al., 2016).

U léku diazepam byli nejcitlivější organismy vodního prostředí ryby, u kterých se nejvyšší koncentrace léčiva nacházela v játrech (Overturf et al., 2016). U jedinců hrotnatky velké (*Daphnia magna* Straus, 1820) byl prokázán výrazný nárůst počtu potomků (Cunha et al., 2019). Dospělci Dánia pruhovaného při nízkých koncentracích neprojevovali žádné následky, ale přežití mláďat výrazně kleslo (Kalichak et al., 2016). Abreu et al. (2014) ve své práci uvedl, že dánio pruhované po vystavení léku mělo sníženou kortizolovou odezvu na stresor. U

sumečka tečkovaného (*Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818) nedošlo k výrazné koncentraci léčiva v rybí tkáni, ale látka byla schopná způsobit narušení endokrinního systému (Overturf et al., 2016).

Oxazepam měl za následek snížení úmrtnosti ryb během embryonálního vývoje. I u sladkovodních krevet byl zaznamenán menší úhyn než u kontrolní skupiny, avšak u dospělců. Bohužel při této studii došlo k nedostatečnému krmení a nevyhovujícímu životnímu prostředí. Tyto okolnosti mohly výsledky pokusu značně ovlivnit (Garcia- Galan et al., 2017). U lososa obecného (*Salmo salar* Linnaeus, 1758) se oxazepam projevil zvýšeným migračním chováním (Cuhna et al., 2019). Mláďata Okouna říčního projevovala zvýšenou aktivitu a spotřebu více krmení, byla více společenská a odvážná (Brodin et al., 2013). U mnoha ryb byli dospělí jedinci méně sociální a objevila se významně vyšší koncentrace oxazepamu ve svalové tkáni, játrech, mozkové tkáni a krevní plazmě, což poukazuje na možnost biokoncentrace v tělech ryb. U embryí docházelo k malformaci, nepravidelnému plavání a zpomalenému růstu. (Duffy a kol., 2014).

K biokumulaci ve tkáních ryb také docházelo při znečištění vod lékem fluoxetin. Tento lék je jedním z nejběžnějších antidepresiv v severoamerických a evropských odpadních vodách. U bezobratlých živočichů způsobuje fluoxetin zrychlené plavání (Arnnok et al., 2017). Fluoxetin byl také zaznamenán v mořské vodě (Bossus et al., 2014). U jedinců sépie obecné (*Sepia officinalis* Linnaeus, 1758) bylo zjištěno, že fluoxetin výrazně změnil potřebu zvířete přizpůsobovat (maskovat) se okolnímu prostředí, to může vést k vyšší predaci dravci. Slávička mnohotvárná (*Dreissena polymorpha* Pallas, 1771) při vystavení většího množství fluoxetinu vykazovala zvýšené tření, které může být pro tyto živočichy nebezpečné kvůli důležitosti synchronizace a krátké životnosti gamet. Morčák stříbřitý (*Morone chrysops* Rafinesque, 1820) a morčák pruhovaný (*Morone saxatilis* Walbaum, 1792) vykazovali nižší schopnost zachycení své kořisti v důsledku poklesu koncentrace serotoninu v mozku (Arnnok et al., 2017). Snížená rychlost krmení byla zaznamenána i u druhů morčák pruhovaný a morčák stříbřitý a u okouna říčního (Hedgspeth et al., 2014). Při chronické toxicitě (účinky se projevují po dlouhodobém vystavení jedince látce) se *Ceriodaphnia dubia* po 7 dnech vystavení léku, výrazně zredukoval počet plodů (Theodore et al., 2004). U pulců drápatek vodních vysoká koncentrace léčiva způsobila sníženou rychlost růstu a krmení (Connors et al., 2009).

Triciklická antidepresiva amitriptylin, nortriptylin a klomipramin u kapra obecného (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) vedly k zvýšené mortalitě, retardaci vývoje, morfologických anomáliím a patologickým změnám v mozku, srdci a ledvinách (Sehonova et al., 2018).

Fluvoxamin, jak již bylo zmíněno, podléhal ve studii fotolýze. Bylo však zaznamenáno, že po vystavení *Ceriodaphnia dubia* na 48 hodin vysoké koncentraci látky, tak byla u jedinců zaznamenána vyšší mortalita a výrazně klesl počet plodů (Theodore et al., 2004).

Na zjištění negativní vlivů na chování vodních organismů ve znečištěných vodách tramadolem, byl využit rak mramorový, který je ideálním organismem jako modelový vzor pro korýše (Crustacea), desetinožce (Decapoda). Živočichové byli vystaveni množství látky, která se běžně vyskytuje v životním prostředí. Raci, kteří byli vystaveni tramadolu vykazovali nižší rychlost, bez dostupného úkrytu zvýšili svou aktivitu, ale při dostupnosti skrýše trávili raci více času v ní než kontrolní jedinci. Toto chování může evokovat vyšší plachost (Buřič et al., 2018). Tramadol zvýšil rychlost vyhledávání kořisti, ale snížil rychlost krmení u larev šídla modrého (*Aeshna cyanea* Müller, 1764) (Bláha et al., 2019).

Xie et al. (2015) uskutečnili výzkum na možné nepříznivé následky koncentrace sertralinu ve vodním prostředí na karase stříbřitého (*Carassius gibelio* Bloch, 1782). Ryby byly vystaveny léčivu po 7 dní. Zjistili, že se lék nejvíce kumuluje v játrech, mozku, v žábřácích a nejméně ve svalové tkáni. Ve studii bylo prokázáno, že aktivita se výrazně zvýšila po vystavení jedinců léku. Zvýšené plavání může však mít zapříčinu změnu chování i v jiných aktivitách jako je třeba doba krmení. Ryby vystavené léčivu projevovaly menší tendenci k tvoření hejn a sníženou rychlost konzumace potravy (Xie et al., 2015). Nejvyšší koncentrace sertralinu u ryb slunečnice obecná (*Lepomis macrochirus* Rafinesque, 1819), sumeček tečkovaný (*Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818), kapr obecný a okounek černoskvřinný (*Pomoxis nigromaculatus* Lesueur, 1829) byla naměřena v mozku (Brooks et al., 2005). Theodore et al. (2004) testovali *Ceriodaphnia dubia* na akutní toxicitu. Bylo zjištěno, že po vystavení vysoké koncentraci léčiva, se úmrtnost rapidně zvyšuje (Theodore et al., 2004). Blešivec *Echinogammarus marinus* (Leach, 1815) byl vystaven koncentraci sertralinu relevantní životnímu prostředí a bylo zjištěno, že již po 1 hodině expozice v množství 0,01 µg / l léčiva se zvýšila pohyblivost v porovnání s kontrolními jedinci (Bossus et al., 2014).

Huber et al. (1997) uvádí, že serotonin ovlivňuje u raků říčních (*Astacus astacus* Linnaeus, 1758) pohyblivost a ústupnost vůči různým agresorům. Může se také podílet na změnách chování jiných korýšů (Huber et al., 1997). Vyšší koncentrace sertralinu ve srovnání s jinými organismy byla zaznamenána u mlžů, jako jsou Korbikula asijská (*Corbicula fluminea* Müller, 1774), *Uniomerus tetralasmus* (Say, 1830) a škeble papírová (*Anodonta imbecilis* Say, 1829) (de Solla et al., 2016). U drápatek vodních vyvolal sertralin vývojovou toxicitu (škodlivé působení látky během vývoje organismu) u pulců. Vystavení pulců nízké koncentraci, která se běžně vyskytuje v životním prostředí, měla za následek snížený růst. Tento jev mohl být následek pomalého příjmu potravy po vystavení léčivu (Connors et al., 2009). Lamichhane et al. (2014) ve své studii zjistili, že vyšší koncentrace sertralinu na *Daphnia magna* způsobila pokles reprodukce a růst potomků. Nejvýraznější dopad na jedince vystavené sertralinu se projevilo na třetí generaci, kdy byly následky nejvýraznější. Použití koncentrace léčiva v této studii byla vyšší, než je tomu v životním prostředí. I když byla koncentrace vyšší, dlouhodobé účinkování na vodní organismy se může projevovat jinak, než jak je to při pokusech, kdy jsou jedinci vystaveni látkám pouze po určitou dobu. (Lamichhane et al., 2014).

## 6 Jelec tloušť

Jelec tloušť (*Squalius cephalus* Linnaeus, 1758), se řadí mezi paprskoploutvé ryby (Actinopterygii), do řádu máloostní (Cypriniformes) a čeledi kaprovití (Cyprinidae). Je jedním z nejrozšířenějších druhů kaprovitých ryb. I přes své vysoké rozšíření a s vysokou ekologickou přizpůsobivostí není ekonomicky významný a je vnímán jako velice nenáročný druh (Benzer & Gül, 2017).

### 6.1 Anatomie

Tloušť je typický velkými ústy, z čehož se dá usoudit, že nemá problém i s větší potravou. Jeho tělo je podlouhlé a válcovitého tvaru. U hlavy je poznat její přesné ohraničení. Je pokryt stříbrnými až měděnými šupinami, které jsou tmavě až černě olemované. Ryba je dobře rozpoznatelná podle oranžových až načervenalých prsních, břišních a řitních ploutví. Hřbet je spíše tmavý, a proto hůře rozpoznatelný predátorem, který je nad hladinou (Freyhof & Kottelat, 2008).



Obr. 4. Dospělec jelce tlouště (Havelkova et al., 2008).

## 6.2 Etologie

### 6.2.1 Výskyt a habitat

Jelec tloušť se vyskytuje téměř přes celou Evropu, jižní Kavkaz a část Anatólie. V těchto oblastech osídluje malé i velké řeky, velké potoky a jezera (Hliwa et al., 2009). Preferuje lotické prostředí, mělké vodnaté a šterkové břehy se středním až vysokým tokem vody pro tření (Caffrey et al., 2008). S jelcem tlouštěm je možnost se setkat i ve značně znečištěných a odpadních vodách. Tento nenáročný výběr habitatu má za následek úbytek těchto ryb a možné fyziologické následky (Silkina et al., 2016). Jedinci, kteří žijí v těchto vodách mohou vykazovat stav, kdy imunitní systém není úplně funkční a vykazuje nedostatek antioxidantů, nazývaný imunodeficiencí. U takto postižených jedinců je významně oslaben imunitní systém, což zapříčiňuje přebytkovou tvorbu komplexů nespecifické imunity, tento jev nastává, když je organismus nasycen znečišťujícími a infekčními látkami a tím je snížena čistící funkce fagocytárních buněk (Silkina et al., 2012).

Ačkoli je přítomnost jelce po celé České republice známa a jsou často viděni, jsou velice plaší a opatrní. Dospělé ryby jsou spíše samotářské a ukrývají se v rýhách u dna. Mladí jedinci dávají přednost plavání v hejnech a nejčastěji se vyskytují na mělkých místech podél břehů ve větších, které zasahují do vody (Gutmann & Britton, 2018). Schopnost ukrývání jedinců může být ovlivněna polutanty ve vodě jako jsou psychoaktivní látky, jako je tomu u larválního stádia jelečka velkohlavého (*Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). Při podání léku venlafaxin, který inhibuje zpětné vychytávání serotoninu, měl tento druh ryby o 92 % pomalejší reakci, než tomu bylo u kontrolní skupiny (Painter et al., 2010).

### 6.2.2 Potrava

Jednou z běžných ryb se jelec tloušť stal také díky nevýrazné potravní preferenci. Podle struktury úst a čelistí se řadí mezi spásáče (Ünver & Erk'akan, 2011). Tvar a délka zažívacího traktu však poukazuje na druh omnivorní (Caffrey et al., 2008). Tento druh se živí fytoplanktonem, zooplanktonem, hlísticemi, hmyzem, rybami, makrofyty, rostlinnými a živočišnými odumřelými látkami. Výběr potravy může být ovlivňován věkem. Larvální stádia se živí převážně zooplanktonem, juvenilní jedinci dávají spíše přednost planktonu (fytoplanktonu, méně potom zooplanktonu), krmnou dávku také obohacují malými bezobratlými živočichy (Ünver & Erk'akan, 2011). Jedinci do pěti let se stravují vegetací a létavým hmyzem (Caffrey et al., 2008). Starší ryby se potom chovají spíše jako masožravci, ale konzumují i makrofyty (Ünver & Erk'akan, 2011). Obecně platí, že čím větší velikosti jedinec dosáhne, tím se zvýší množství ryb ve stravě (Caffrey et al., 2008). Jelec tloušť je schopný se živit téměř jakoukoli potravou, proto by mohl být využit například při boji proti invazivnímu druhu raka zavlečeného do Evropy (Wood et al., 2017). Ve své studii Wood et al. (2017) zjistili,

že je možné začlenit jako doplňkovou složku do jíelníčku jelce tloušť invazivní druh raka signálního (*Pacifastacus leniusculus* Dana, 1852). Tento druh raka a rak pruhovaný (*Faxonius limosus* Rafinesque, 1817) jsou přenašeči račího moru na nativní druhy raků v Evropě (Wood et al., 2017).

Raci signální snížili celkový počet domorodých raků o 60 % a proto by využití jelce tloušť jako regulátora raka signálního bylo velice přínosné (Crawford et al., 2006).

### 6.2.3 Reprodukce

Jelec tloušť, který se vyskytuje v čistých vodách, je schopen se během reprodukční doby, která je od května do srpna, rozmnožit až třikrát (Ünver & Erk'akan, 2011). Tyto ryby se nejčastěji vytírají ve vodách s kamenitými substráty, kde se zvyšuje počet zachycených jiker. Jsou schopni migrovat proti proudu 1 až 13 kilometrů, aby našli správné místo ke tření (Fredrich et al., 2003). Bohužel, lidská činnost způsobila zhoršení či naprosté vymizení možnosti migrace fragmentací řek. Řeky jsou nyní rozděleny přehradami, vodními elektrárnami a jezy a tím je omezena migrace potamodromních ryb. Tato problematika má řešení, a to v podobě spojení řek a jejich přítoků pomocí takzvaných rybích přechodů (Benitez et al., 2018). Jedinci, kteří dosáhnou správného habitatu musí docílit reprodukční dospělosti a ta nastává obvykle v jejich třetím roce. Samice v tomto období dosahují 14,40 cm délky a hmotnosti 41, 60 gramů. Délka samců je 14,50 cm a hmotnost 54,40 gramů. Délka i hmotnost je proměnlivá podle prostředí, kde se ryby vyskytují (Hüseyin, 2004). Aby mohlo dojít k reprodukci, musí mít okolní voda okolo 15 °C. Pohlavní buňky mohou při této teplotě dozrát a jedinci jsou poté schopni se rozmnožovat (Fredrich et al., 2003).

Jak již bylo zmíněno výše, jelec tloušť se hojně vyskytuje v odpadních vodách, a to má za následek fyzický stres i na jeho reprodukčních orgánech. U samčích mláďat, která byla vystavena vitellogeninu po 14 dnů, byly zaznamenány nekrotické spermie, narušení semenných váčků a pokles počtu spermií. Nejvíce poškozená část varlat byly Sertoliho buňky (Flammarion et al., 2000). Vitellogenin je normálně přítomen pouze u samic v krvi nebo hemolymfě, jelikož působí jako prekurzor proteinu vaječného žloutku (Flammarion et al., 2000). Tyto látky také snižují koncentraci pohlavních steroidních hormonů (Örn et al., 2003).

## 6.3 Chov

Jelikož je jelec tloušť velice nenáročný, je možné ho chovat v zahradních jezírkách. Jeho nenáročnost na životní prostředí je spíše ceněna v laboratorních podmínkách (Flammarion et al., 2000). Využívání určitých druhů ryb v laboratorním prostředí může být ekonomičtější a mnohdy účinnější než u jiných druhů zvířat (Hope et al., 2019). Laboratorní pokusy, které se provádějí na méně náročných druzích ryb, se provádějí za účelem testování léčiv, krmiv, toxicity a různých chemických látek. Ryby mohou být také využívány jako bioindikátoři

znečištěných vod. A samozřejmě je možnost použít je jako výukový materiál. Mnohdy dochází v průběhu pokusů k poškození organismu ryb a tato zvířata jsou následně usmrcována. K laboratorním pokusům jsou využívány ryby přímo z vodního prostředí aby se vědělo, jestli se ve vodách nehromadí škodlivé polutanty jako mohou být psychoaktivní látky (Bartoš & Jebavý, 2014).

## 7 Stres u ryb

Ve znečištěných vodách může docházet k různým druhům stresu, které mohou ryby poškodit (Diamond et al., 1989). Selye (1950) definoval že „stres je nespecifická odezva těla na jakoukoliv zátěž, která je na něj kladena“. Stres je obranná reakce těla na stresory (příčiny stresu), které mohou probíhat uvnitř těla jedince nebo mohou mít vnější příčinu (Shafiei Sabet et al., 2015). Stresová odezva se skládá z fyziologické kaskády událostí, která je iniciována stresorem a sdělena tělu prostřednictvím centrální nervové soustavy. Tělo má za úkol stres překonat. Tento proces může být uskutečněn hormonálním procesem, který začíná v mozku v hypothalamusu, poté v hypofýze, která vyplavením hormonů stimuluje činnost nadledvin. Dřeň nadledvin produkuje epinefrin a kůra glukokortikoidy kortizol a kortizon, které regulují metabolismus (Schreck, 2010). Stres u ryb může být způsoben fyzicky, chemicky nebo vizuálně, když je spatřen dravec (Shafiei Sabet et al., 2015). Stresová zátěž může nastat i při nedostatku potravy (Abreu et al., 2016).

Epinefrin, kortizol a kortizon jsou uvolňovány při reakci na stresory, jako je predace, sociální konflikty a omezení přirozeného chování (Schreck, 2010). Dlouhodobé vystavení ryb stresorům zapříčiňuje zvýšené uvolňování glukokortikoidů a ty mohou do jisté míry snižovat produkci pohlavních steroidů, snížení růstu nebo zhoršení imunitní odpovědi (Sapolsky et al., 2000). Stres může hrát velkou roli při diferenciaci pohlaví (Schreck, 2010).

Ryba, která podléhá stresu může být poznána podle barvy těla, očí nebo zatmavení očí. Takováto identifikace umožňuje neinvazní označení stresovaných jedinců (Freitas et al., 2014). Změna barvy těla je u některých ryb tvořena podle sociálního zařazení. U některých cichlid se podřazenost projevuje tmavším vzhledem (tmavým proužkováním) mezitím, co dominantní jedinci jsou světlého zbarvení. Barva očí u tilápie nilské (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) při stabilní sociální hierarchii byla u dominantních jedinců světlá (Miyai et al., 2011). Tmavnutí očí, bylo měřeno po expozici jedinců vzduchu. Zotavení jedinců po stresu záviselo na pohlaví. Samičím trvalo déle se uklidnit než samcům. Velice pohotová reakce očí by mohla být rychlejším indikátorem stresu (Freitas et al., 2014). Zvětšování očních zornic, by také mohlo být indikátor stresu, jelikož zornice u jedince, který je pod stresovou zátěží dochází k rozšíření zornic. Tento ukazatel by ovšem mohl být chybný, jelikož velikost zornice může být také ovlivněna farmakami, které působí na nervovou soustavu (Krásnik et al., 2014).

U ryb se také objevuje chemický stres, který může mít fatální následky. Takový stres se projevuje hlavně u jedinců vystavených znečišťujícím látkám. Jelce tloušť vyskytující se ve znečištěných vodách Rhôny vykazoval sníženou genetickou diverzitu multilokusové (kombinace alel nalezených u dvou nebo více lokusů u jednoho jedince) heterozygotnosti. Bylo zjištěno, že jedinci žijící ve znečištěném vodním prostředí mají vyšší možkození DNA než kontrolní skupina. Je možné, že masivní vymírání jelce tlouště na řece Rhôně v 60. letech bylo způsobeno právě nízkou genotypovou diverzitou a vysokým množstvím stejných genotypů (Sugg et al., 1995).

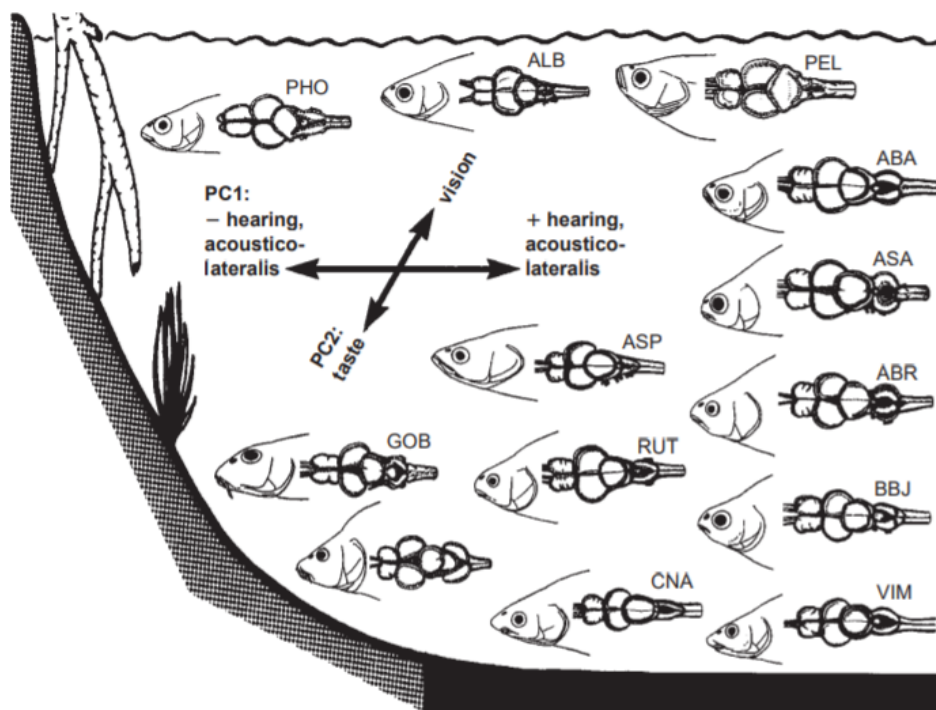
Díky chemické stresové zátěži na jelce tlouště a s tím spojené poškození jeho DNA, bylo zjištěno, že některé genotypy mohou být tolerantní ke znečišťujícím látkám z hlediska biotransformace (chemická přeměna jedné látky na druhou) xenobiotik. Proto jsou tyto genotypy spojeny se znaky, které přispívají k lepší kondici populace. V důsledku chemického stresu také ale existují genotypy, které jsou citlivější na znečištění a tím i na přizpůsobení života v odpadních vodách. Tento jev může vést k zániku těchto genotypů. Ovšem platí, že většina heterozygótních jedinců jelce tlouště by mohla vykazovat lepší odolnost vůči chemickému stresu. Tento jev může být spojen s vyšší metabolickou činností (Larno et al., 2001).

## 7.1 Nervová soustava ryb

Tato podkapitola poukazuje na různé diference v nervových soustavách ryb. Mozky ryb se mezi sebou liší, a proto reakce na stres může mít u různých druhů ryb jiné trvání i projevy. Různorodost je spojena s tvarováním mozků, které jsou propojeny s ekologickými a behaviorálními aspekty. Srovnání napříč druhy ukazuje, že ryby, které žijí ve stejném prostředí mají podobné uspořádání mozku. Čeled' kaprovití má dobře vyvinutý chuťový systém. Plotice obecná (*Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758) demonstruje typ mozku kaprovitých, kteří mají velké množství chuťových pohárků (Kotrschal et al., 1998).

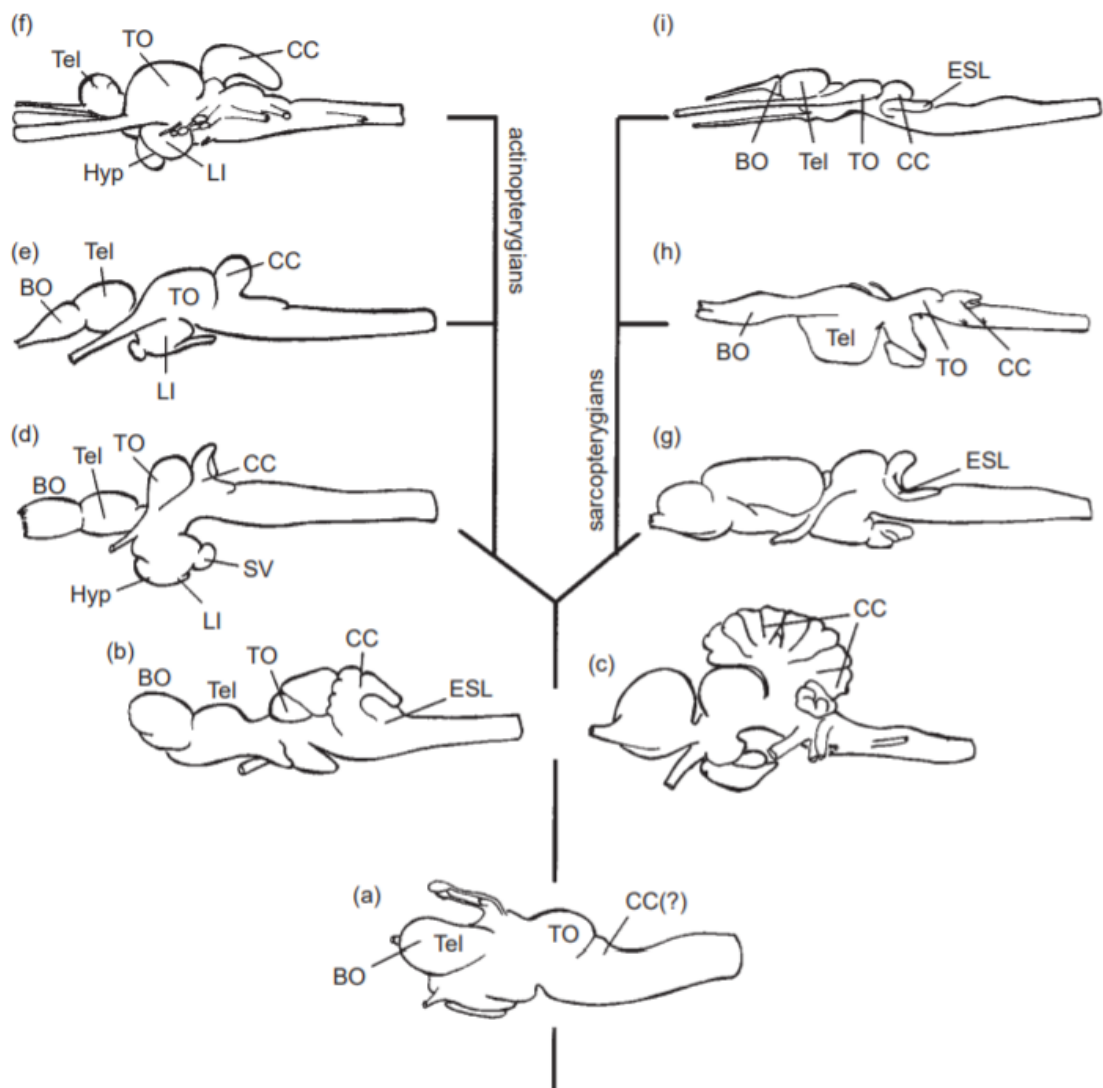
Jelce tloušť má dobře vyvinuté vizuální centrum. Chuťové (vagální) a centrum laterální čáry je pouze středně rozvíjené v porovnání s jinými druhy čeledi kaprovití (Kotrschal et al., 1998). Laterální čára slouží rybám jako hmatový smyslový orgán, který začíná po stranách hlavy. Tento smyslový orgán je využit při detekci pohybu a vibrací ve vodě a je velice důležitý u dravých ryb (Kasumyan, 2003).





Obr. 5. Ekomorfologické vztahy u středoevropských kaprovitých ryb. Změny mozkových struktur v souvislosti s potravou a místem habitatu (Kotrschal et al., 1998).

Základní anatomická organizace centrální nervové soustavy (CNS) a periférní nervové soustavy (PNS) je relativně zachována mezi kostnatými rybami a savci (Guo, 2009). V CNS se nachází mozek a páteřní mícha. Mozek je však velice malý, na povrchu je hladký a u ryb naprosto chybí šedá mozková kůra. Nachází se v lebeční dutině. Mozek je tvořen pěti částmi. V předním mozku se nalézá čichové centrum (čichové laloky). Mezimozek je spoj mezi endokrinní a nervovou soustavou. Nachází se zde také epifýza a hypofýza. Největší část mozku je střední mozek, kde se nachází vizuální centrum. Mozeček a střední mozek koordinují pohyb, rovnováhu a svalové napětí. Mozeček je nejvíce vyvinutý u ryb, které jsou vytrvalými plavci. V prodloužené míše se nachází čtvrtá mozková komora, v níž jsou uložena centra pro dýchání a regulaci chromatoforů (buňky obsahující barevné pigmenty), sluchové centrum a centrum pro příjem impulzů z postranní čáry. Řád maloostní mají spojené vnitřní ucho s plynovým měchýřem a díky tomu je jejich sluch velice dobrý. Pokračováním prodloužené míchy je páteřní mícha. Jak již bylo poznamenáno výše, velikost smyslových center je závislá na podmínkách života jednotlivých druhů ryb (Baruš et al., 1995).



Obr. 6. Vyobrazení rozdílů mezi mozky hlavních taxonomických skupin ryb. Mihule (a: *Petromyzon* Linnaeus, 1758). Příkladů (b: žralok veliký *Cetorhinus maximus* Gunnerus, 1765), (c: žralok *Cetorhinus* Blainville, 1816). Dvojdyšný (h: bahník *Neoceratodus* Castelnau, 1876). Lalokoploutví (i: latimérie *Latimeria* Smith, 1939). Bichirovití (g: bichirek *Erpetoichthys* Smith, 1865). Jeseteři a neopterygians (d: jeseter *Acipenser* Linnaeus, 1758), (e: *Amia* Linnaeus, 1766), (f: *Gadus* Linnaeus, 1758). BO- čichový bulbus, CC- mozeček, ESL- elektrosenzorický lalok, Hyp- hypofýza, LI- lobus inferior (spodní lalok), SV- saccus vasculosus, Tel- koncový mozek, TO- tectum opticum (součást vizuálního systému) (Kotrschal et al., 1998).

## **8 Souhrn úvodní části a odvození hypotéz**

Znečištění odpadních vod antropogeními vlivy představuje hrozbu pro lidi i životní prostředí. Psychoaktivní látky, které se dostávají do vodního prostředí mohou mít negativní vliv na vodní organismy. V této práci se zabývám vlivem psychoaktivních látek sertralin a tramadolem na stresovou zátěž jelce tlouště a sledovaná hypotéza je působení těchto dvou látek na velikost rozrnice exponovaných jedinců.

## 9 Metody a materiály

### 9.1 Pokusná zvířata

Experiment byl proveden za využití juvenilních jedinců jelce tlouště. Při pokusu byla testována skupina experimentálních jedinců (vystavení látky) a skupina kontrolní. Skupiny byly od sebe odděleny, aby nedošlo k případné kontaminaci uvolňováním chemických látek. Kontrolní a experimentální jedinci byli každý v jiné místnosti, kde byli umístěny do dvou 200 litrových nádrží. Bylo udržováno umělé světlo s půl denní tmou a půldenním světlem. Každý den bylo rybám podáváno granulové krmivo a probíhalo měření parametrů vody. V průběhu experimentu se měnilo denně 150 litrů vody v akváriích, jelikož by mohlo dojít ke znečištění kvůli absenci filtračního zařízení, které by mohlo ovlivnit koncentraci látek. Poté byla experimentální skupina vystavena léčivu tramadol a sertralin v koncentraci 1 µg/l.

### 9.2 Pokus

Experimentální skupiny byly vystaveny SSRI léčivu sertralinu a opioidu tramadolu. V koncentraci srovnatelné s množstvím v životním prostředí a to 1 µg/l byly skupiny vystaveny po 6 týdnů. Další dva týdny docházelo k čištění organismu ryb. K testování došlo již první den, následující po jednom dni expozice. K dalšímu vystavení došlo po prvním, třetím, šestém a osmém týdnu. Byla zkoumána velikost zornice ryb a tím projev na psychoaktivní látky. Skupiny byly vždy po osmi jedincích vystavených látky a osmi kontrolních. Po provedení experimentu následovalo usmrcení, zkontrolování hmotnosti a uskladnění pomocí zamražení pro další rozbor látek v tělech.

## 10 Metodická část

Na začátku testu bylo z každé skupiny náhodně vybráno 8 jedinců. Test probíhal ve čtvercových nádržích, do kterých byla vložena vodotěsná kamera (GoPro), která kontinuálně fotografovala jedince v nádrži během pěti minut. Z fotografií získaných kamerou umístěnou ve vodě byla následně pomocí analýzy obrazu v programu Image J (<https://imagej.nih.gov/ij/index.html>) vyhodnocena míra rozšíření zornice v procentech. Pro každého jedince bylo rozšíření zornice stanovené na třech náhodně vybraných fotografiích.

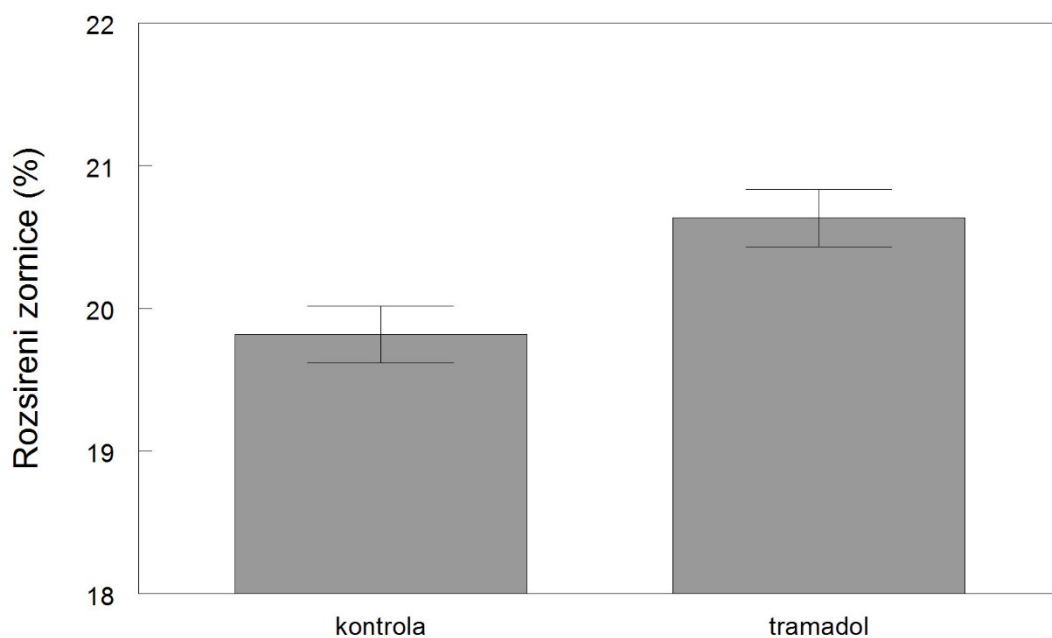
### 10.1 Analýza dat

Zpracování a analýza dat byly realizované pomocí programu SAS verze 9.4 (Statistical Analyses System; [www.sas.com](http://www.sas.com)). Rozšíření zornice bylo vyhodnocené pomocí procedury MIXED, se započítáním náhodných faktorů identifikujících jedince v průběhu pokusu. Rozdíly mezi třídami byly vyhodnocené pomocí Tukeyho testu,

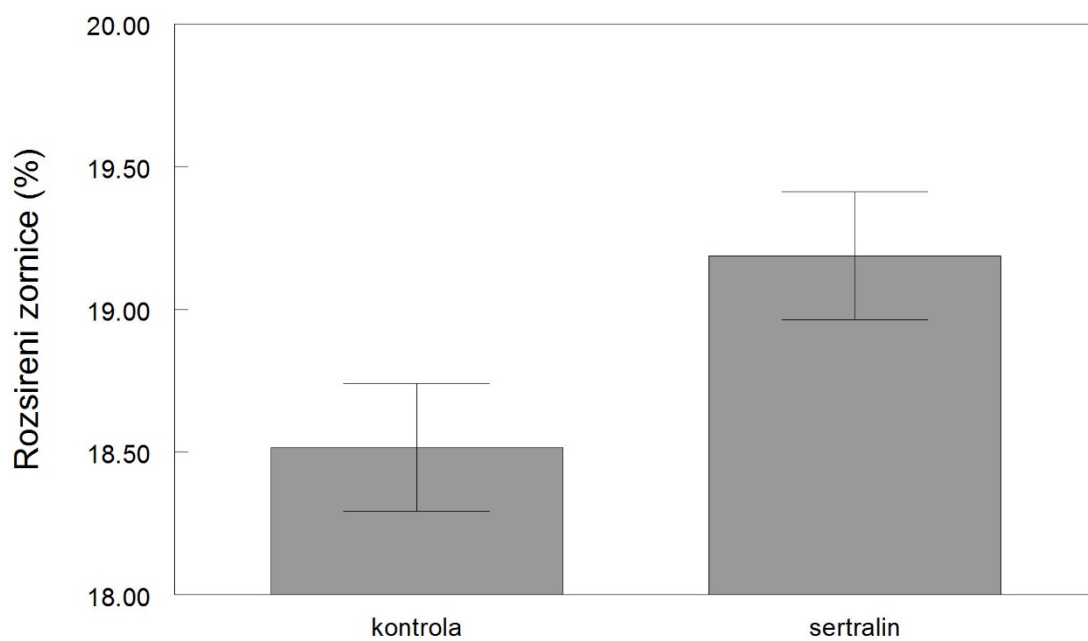
## 11 Výsledky

Celkem bylo pro účely analýzy rozšíření zornice vyhodnoceno 480 fotografií, z toho jedna polovina fotografií náležela experimentu s tramadolem a druhá polovina experimentu se sertralinem.

Statistická analýza prokázala významný vliv obou látek na rozšíření zornice experimentálních jedinců jelce tlouště. Vliv obou látek se shodoval. Jedinci exponovaní tramadolem ( $F_{1, 240} = 8.33$ ,  $P < 0.0042$ ; Graf 1). i sertralinem ( $F_{1, 240} = 4.45$ ,  $P < 0.0360$ ; Graf 2) měli v průběhu experimentu rozšířenější zornice než jedinci kontrolní.



Graf 2.: Rozšíření zornice kontrolních a exponovaných jedinců jelce tlouště.



Graf 3.: Rozšíření zornice kontrolních a exponovaných jedinců jelce tlouště.

## 12 Diskuze

Znečištění psychoaktivními látkami je problémem po celém světě. Stále neexistuje dostatek studií, které by přesně určily možné ohrožení. Proto je potřeba vytvářet nové výzkumy, které by byly schopné odhalit více. Léčiva mohou mít vliv na chování jedinců v podobě absence či zvýšené agrese, společenského chování, světelných preferencí, ukrývání, nebo úprkem před predátorem (Hope et al., 2019).

Závažností této problematiky jsme se zabývali v této práci, kdy byla měřena velikost zornice jelce tlouště po přidání psychoaktivních látek tramadol a sertralin do experimentálních nádrží. Potvrdila se naše domněnka, že u jedinců, kteří byli vystaveni léčivu, došlo k výraznému zvětšení zornice. Musíme samozřejmě brát v potaz, že fyziologické procesy jsou velice složité a ke změně velikosti zornice dochází také při různých emocích, jako je třeba stres. Tento jev by mohl ovlivnit výsledky studie. U tilápie nilské dochází při stresu k tmavšímu zabarvení těla i očí. Jedinci, kteří jsou tmavší barvy tím dávají najevo svou submisivitu na rozdíl od dominantních světlých jedinců. K této změně barvy může docházet při sociálním stresu. Ryby, které jsou submisivní bývají často více stresované, než nadřazení jedinci (Miyai et al., 2011).

Reakce zornic může být také zapříčiněna oběma vlivy, a to jak stresem, tak i léčivem. Může nastat situace, kdy dojde kvůli dlouhodobému vlivu léčiv k vyšší agresi, zrychlenému plavání, větší plachosti a jiným aktivitám, které jsou schopny vyvolat stres. Pulzování zornice v tomto případě by mohlo být nerelevantní na určení jaký vliv je příčinou. Tato hypotéza není podložena žádnou studií, jelikož experimentů na vodní živočichy vystaveny léčivům po dlouho dobu nebo několik generací je velice málo.

Jelikož naše bádání bylo prováděno na jedincích, kteří dříve vystaveni farmaceutikám nebyli, je možné předpokládat, že rozšiřování zornic bylo způsobeno tramadolem a sertralinem. Proto by bylo možné využít tento fenomén k biondikaci různých psychoaktivních látek. Rozhodně musíme brát v potaz rozdíl laboratorních podmínek a vystavování léčivu po celý život, jak již bylo zmíněno.

Dalším klíčovým faktem je také koncentrace látek v životním prostředí. Campos-Mañas et al. (2019) ve své studii uvádí, že může dojít k jevu, kdy organismy reagují pouze na malé nebo velké množství polutantu a při středních hodnotách nevykazují žádnou změnu. Odpadní vody také vytváří takzvaný koktejl různých léčiv, a to může mít za následek naprosto rozdílné chování, než je u jedné látky.



Vliv psychoaktivních látek také může mít na různé organismy rozdílné účinky. To se netýká pouze různých živočichů, ale i jedinců stejného druhu. Dopad farmaceutik je také závislý na věku ryby, hmotnosti, habitatu a postavení v potravním řetězci. Různě veliká smyslová centra v mozku jsou přizpůsobena habitatu, ve kterém se ryby nachází. Vizuální centra jsou větší u druhů, které žijí v čistých vodách, zatímco u druhů, které se vyskytují v zakalených stanovištích spíše dominují čichové a chuťové struktury (Kotrschal et al., 1998). Takto rozmanitá nervová centra u ryb mohou způsobit, že léčiva ovlivňují různé druhy ryb specificky. Ohledně postavení živočichů v potravním řetězci, může docházet ke kumulaci látky finálního predátora, který poté může být více ovlivněn danými látkami.

## 13 Závěr

V současné době se užívá okolo 1 500 účinných farmaceutických léčiv, které se dostávají do vodního prostředí odpadními vodami. Čištění odpadních vod je nedostatečným a je zapotřebí, aby byl vynalezen lepší mechanismus na čištění všech polutantů.

Psychoaktivní látky, kterými se tato bakalářská práce zabývá, jsou ve vodách obsaženy v nízkých koncentracích výrazně pod úrovní akutní toxicity. Ve vodách účinkují směsi léčiv a negativně ovlivňují vodní organismy. Proto je zapotřebí uskutečnit ještě mnoho studií, aby byly známy efekty na experimentální organismy a znalosti poté praktikovat ve vodním prostředí. Naneštěstí při výzkumu jsou zvířata vystavena často vyšším koncentracím, než se kterými je možné se setkat v přírodě.

Tato bakalářská práce se zabývá vlivem sertralinu a tramadolu na stres jelce tlouště podle velikosti zornice. Experimentální jedinci byli vystaveni reálné koncentraci životního prostředí. Na exponované látky reagovali rozšířením zornice. Tento výsledek znamená, že tyto látky působí v nervové soustavě stejně jako u cílových uživatelů.

Schultz et al. (2010) zjistili, že jedinci vystaveni léku sertralinu v koncentraci životního prostředí, změnili své behaviorální aktivity. Tato studie však uvádí, že vystavení organismů polutantům po celý život, může mít jiné následky po více generacích.

Tato problematika má pouze obtížná řešení, dokud nebude vymyslen lepší systém na čištění, než je tomu nyní. Proto se tato práce zabývá i alternativní možností čištění vod s inspirací v přírodě. Příroda nám nabízí mnoho možností a je důležité je využít i v potížích jako jsou tyto. Mnoho inspirací lze nalézt na webových stránkách AskNature.com.

## 14 Literatura

Abott B. W., Moatar F., Gauthier O., Fovet O., Antoine V., Ragueneau O. (2018). Trends and seasonality of river nutrients in agricultural catchments: 18 years of weekly citizen science in France. *Science of the Total Environment* 845-858.

Abreu M. S., Koakoski G., Ferreira D., Oliveira T. A., Rosa J. G. S., Gusso D., Giacomini A. C. V., Piato A. L., Barcellos L. J. G. (2014). Diazepam and Fluoxetine Decrease the Stress Response in Zebrafish. *PLoS ONE* 1-5.

Abreu M., Giacomini A., Gusso D., Koakoski G., Oliveira T., Marqueze A., Barreto R., Barcellos L. (2016). Behavioral responses of zebrafish depend on the type of threatening chemical cues. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural & Behavioral Physiology* 895-901.

Altenburger R. (2011). Understanding combined effects for metal co-exposure in ecotoxicology. *Metal ions in toxicology: effects, interactions, interdependencies* 1–26.

Andersen J. H., Fossing H., Hansen W J., Manscher O. H., Murray C., Peteresen D. L. J. (2014). Nitrogen Inputs from Agriculture: Towards Better Assessments of Eutrophication Status in Marine Waters. *Ambio* 906-913.

Arnnok P., Singh R. R., Burakham R., Fuentetaja P. A., Aga D. S. (2017). Selective Uptake and Bioaccumulation of Antidepressants in Fish from Effluent-Impacted Niagara River. *Environmental Science & Technology* 18.

Asknature.com. Self-cleaning water filtering system cleans without chemicals. Posted 2017.

Bartoš L., Jebavý L. (2014). *Ochrana, chov a využití pokusných zvířat*. Brno: Společnost pro vědu o laboratorních zvířatech ve spolupráci s ČZU v Praze, 80-80.

Baruš V., Oliva O., Baradlaiová M. (1995). *Mihulovci (Petromyzontes) a ryby (Osteichthyes) 1 a 2*, Academia.

Benitez J-P, DierckxA., Nzau M., B., Rollin X., Ovidio M. (2018). Movement behaviours of potamodromous fish within a large anthropised river after the reestablishment of the longitudinal connectivity. *Fisheries Research* 140-149.

Benzer S., Gül A. (2017). Population structure and some growth properties of chub *Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758) in Devres Stream of Kızılırmak River, Turkey. *Journal of Fisheries* 513-518.

Bergman Å., Heindel J. J., Jobling S., Kidd K. A., Zoeller R. T. (2012) *Organization, Endocrine Disrupting Chemicals*. World Health Organization.

- Bláha M., Grabicova K., Shaliutina O., Kubec J., Randák T., Zlabek V., Buřič M., Veselý L. (2019). Foraging behaviour of top predators mediated by pollution of psychoactive pharmaceuticals and effects on ecosystem stability. *Science of the Total Environment* 655-661.
- Bonner R., Aylward L., Kappelmeyer U., Sheridan C. (2018). Combining tracer studies and biomimetic design principles to investigate clogging in constructed wetlands. *Water SA* 764-770.
- Bossus M. C., Guler Y. Z., Short S. J., Morrison E. R., Ford A., T. (2014). Behavioural and transcriptional changes in the amphipod *Echinogammarus marinus* exposed to two antidepressants, fluoxetine and sertraline. *Aquatic Toxicology* 46-56.
- Brodin T., Fick J., Jonsson M., Klamindeer J. (2013). Dilute Concentrations of a Psychiatric Drug Alter Behavior of Fish from Natural Populations. *Science* 814-815.
- Brooks B. W., Chambliss C. K., Stanley J. K., Ramirez A., Banks K. E., Johnson R. D., Lewis R. J. (2005). DETERMINATION OF SELECT ANTIDEPRESSANTS IN FISH FROM AN EFFLUENT-DOMINATED STREAM. *Environmental Toxicology* 25.
- Burkina V., Zamaratskaia, G., Sakalli S., Giang P. T., Kodes V., Grabic R., Velisek J., Turek J., Kolarova, J., Zlabek V., Randak T. (2018). Complex effects of pollution on fish in major rivers in the Czech Republic. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 92-99.
- Buřič M., Grabicová K., Kubec J., Kouba A., Kuklina I., Kozák P., Grabic R., Randák T. (2018). Environmentally relevant concentrations of tramadol and citalopram alter behaviour of an aquatic invertebrate. *Aquatic Toxicology* 226-232.
- Caffrey J. M., Acevedo S., Gallagher K., Britton R. (2008). Chub (*Leuciscus cephalus*): a new potentially invasive fish species in Ireland. *Aquatic Invasions* 201-209.
- Campos-Mañas M. C., Ferrer I., Thurman E. M., Sánchez Pérez J. A., Agüera A. (2019). Identification of opioids in surface and wastewaters by LC/QTOF-MS using retrospective data analysis. *Science of the Total Environment* 874-884.
- Cerveny D., Zlabek V., Velisek J., Turek J., Grabic R., Grabicova K., Fedorova G., Rosmus J., Lepic P., Randak T. (2014). Contamination of fish in important fishing grounds of the Czech Republic. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 101-109.
- Connors D. E., Rogers E. D., Armbrust K. L., Kwon J-W., Black M. C. (2009). Growth and development of tadpoles (*Xenopus laevis*) exposed to selective serotonin reuptake inhibitors, fluoxetine and sertraline, throughout metamorphosis. *Environmental toxicology and chemistry* 2671-2676.
- Crawford L., Yeomans W. E., Adams C. E. (2006). The impact of introduced signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* on stream invertebrate communities. *Aquatic Conservation* 611-621.

- Cuhna D. L., Mendes M. P., Marques M. (2019). Environmental risk assessment of psychoactive drugs in the aquatic environment. *Environmental Science & Pollution Research* 78-90.
- Cuhna D., Araujo F., Marques M. (2017). Psychoactive drugs: occurrence in aquatic environment, analytical methods, and ecotoxicity-a review. *Environmental Science & Pollution Research* 24076-24091.
- DE Almeida L. K. S., Chigome S., Torti N., Frost C. L., Pletschke B. I. (2015). A novel colorimetric sensor strip for the detection of glyphosate in water. *Sensors & Actuators:B. Chemical* 357-363.
- De Solla S. R., Gilroy È. A. M., Klinck J. S., King L. E., McInnis R., Struger J., Backus S. M., Gillis P. L. (2016). Bioaccumulation of pharmaceuticals and personal care products in the unionid mussel *Lasmigona costata* in a river receiving wastewater effluent. *Chemosphere* 486-496.
- Duffy K. L., Dunlap K. L., Godduhn A. R. (2014). Bias, complexity, and uncertainty in ecosystem risk assessment: pharmaceuticals, a new challenge inscale and perspective. *Environmental Research Letters*.
- Dusek L., Svobodova Z., Janouskova D., Vykusova B., Jarkovsky J, Smid R., Pavlis P. (2005). Bioaccumulation of mercury in muscle tissue of fish in the Elbe River (Czech Republic): multispecies monitoring study 1991-1996. *Ecotoxicology and environmental safety* 256-267.
- Eatemand A. A., Salah-Eldin A. (2015). Histopathological and Molecular Studies on Tramadol Mediated Hepato-Renal Toxicity in Rats. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences* 90-102.
- EMA (2006). European Medicines Agency, Committee For Medicinal Products For Human Use—guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use Doc. Ref.: EMA/CHMP/SWP/4447/00 corr 2.
- Farias V. L. da S., Martins F. M., Paula D. T. de, Siqueira D. S. (2018). MODELING OF PHOSPHORUS LOSSES BY WATER EROSION. *Engenharia Agrícola* 149-157.
- Fedorova G., Randak T., Golovko O., Kodes V., Grabicova K., Grabic R. (2014). A passive sampling method for detecting analgesics, psycholeptics, antidepressants and illicit drugs in aquatic environments in the Czech Republic. *Science of the Total Environment* 681-687.
- Fent K., Wetson A. A., Caminada D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* 122-159.
- Flammarion P., Brion F., Babut M., Garric J., Migeon B., Noury P., Thybaud E., Palazzi X., Tyler C (2000). Induction of Fish Vitellogenin and Alterations in Testicular Structure: Preliminary Results of Estrogenic Effects in Chub (*Leuciscus cephalus*). *Ecotoxicology* 127-135.
- Fredrich F., Ohmann S., Curio B., Kirschbaum F. (2003), Spawning migrations of the chub in the River Spree, Germany. *Journal of Fish Biology* 710-14.

- Freitas R. H. A., Negrão C. A., Felício A. K. C., Volpato G. L. (2014). Eye darkening as a reliable, easy and inexpensive indicator of stress in fish. *Zoology* 179-184.
- Freyhof J. & Kottelat M. (2008). *Squalius cephalus*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species.
- Garcia- Galan M. J., Sordet M., Buleté A., Garric J., Vulliet E. (2017). Evaluation of the influence of surfactants in the bioaccumulation kinetics of sulfamethoxazole and oxazepam in benthic invertebrates. *Science of the Total Environment* 554-564.
- Ghaedi M., Reze F. M., Shokrollahi A., Shajarat F. (2006). Highly Selective and Sensitive Preconcentration of Mercury Ion and Determination by Cold Vapor Atomic Absorption Spectroscopy. *Analytical Letters* 1171-1185.
- Gojkovic Z., Lindberg R. H., Tysklind M., Funk Ch. (2019). Northern green algae have the capacity to remove active pharmaceutical ingredients. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 644-656.
- Grabicova K., Grabic R., Fedorova G., Fick J., Cerveny D., Kolarova J., Turek J., Zlabek V., Randak T. (2017). Bioaccumulation of psychoactive pharmaceuticals in fish in an effluent dominated stream. *Water Research* 654-662.
- Gunnarsson L., Kristiansson E., Larsson J. D. G. (2012). Environmental Comparative Pharmacology: Theory and Application. *Human Pharmaceuticals in the Environment* 90-105.
- Guo S. (2009). Using zebrafish to assess the impact of drugs on neural development and function. *Expert Opinion on Drug Discovery* 715-726.
- Gutmann C. R., Britton J. R. (2018). Quantifying trophic interactions and niche sizes of juvenile fishes in an invaded riverine cyprinid fish community. *Ecology of Freshwater Fish* 976-987.
- Hajšlová J., Pulkrábová J., Postka J., Čajka T., Randák T. (2007). Brominated flame retardants and related chlorinated persistent organic pollutants in fish from river Elbe and its main tributary Vltava. *Chemosphere* 1195-1203.
- Havelkova M., Blahova J., Kroupova H., Randak T., Slatinska I., Leontovycova D., Grabic R., Pospisil R., Svobodova Z. (2008). Biomarkers of Contaminant Exposure in Chub (*Leuciscus cephalus* L.) – Biomonitoring of Major Rivers in the Czech Republic. *Sensors* 2589-2603.
- Havelková, M., Dušek, L., Némethová, D., Poleszczuk, G. & Svobodová, Z. (2008). Comparison of mercury distribution between liver and muscle – A 15 biomonitoring of fish from lightly and heavily contaminated localities. *Sensors* 4095-4109.
- Hedgspeth M. L., Nilsson P. A., Berglund O. (2014). Ecological implications of altered fish foraging after exposure to an antidepressant pharmaceutical. *Aquatic Toxicology* 84-87.

- Henry T. B., Jeong-Wook K., Ambrust K. L., Black M. C. (2004). ACUTE AND CHRONIC TOXICITY OF FIVE SELECTIVE SEROTONIN REUPTAKE INHIBITORS IN CERIODAPHNIA DUBIA. *Environmental Toxicology* 2229-2233.
- Hlaváček J. & Pepřík Š. (2013). Znečištění vody. Asociace pro mezinárodní otázky pro potřeby XIX. ročníku Pražského studentského summitu.
- Hliwa P., Żyła A., Król J. (2009). Gonadogenesis in Chub *Squalius (Leuciscus) cephalus* (L. 1758). *Folia Biologica* 115-120.
- Hope B. V., Hamilton T. J., Hurd P. L. (2019). Research report: Submerged plus maze: A novel test for studying anxiety-like behaviour in fish. *Behavioural Brain Research* 332-337.
- Huber R., Smith K., Delago A., Isaksson K., Kravitz E. A. (1997). Serotonin and Aggressive Motivation in Crustaceans: Altering the Decision to Retreat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 5939-5942.
- Hüseyin S. (2004). The Reproduction Biology of Chub (*Leuciscus cephalus* L. 1758) in Topçam Dam Lake (Aydın, Turkey). *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 693-699.
- Chaloupka, V., Petr, T., Skácel, V., Lípa, O. (2011): *Vodovody a kanalizace ČR 2009*. Praha, MZe, 44 s., ISBN 978-80- 7084-936-1.
- Islam S., Reza N. Md., Jeong J-T., Lee K-H. (2016). Sensing Technology for Rapid Detection of Phosphorus in Water: A Review. *Journal of Biosystems Engineering* 138-144.
- Jankovská I., Miholová D., Petrtýl M., Romočuský Š., Kalous L., Vadlejch J., Čadková Z., Langrová I. (2011). Intestinal Parasite *Acanthocephalus lucii* (Acanthocephala) from European Perch (*Perca fluviatilis*) as a Bioindicator for Lead Pollution in the Stream "Jevanský potok" Near Prague, Czech Republic. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 342-346.
- Kasumyan A. O. (2003). The Lateral Line in Fish: Structure, Function, and Role in Behavior. *Journal of Ichthyology* 175-213.
- Kellner M., Porseryd T., Porsch-Hällström I., Borg B., Roufidou C., Olsén K. H. (2018). Developmental exposure to the SSRI citalopram causes long-lasting behavioural effects in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Ecotoxicology* 12-22.
- Kellner M., Porseryd T., Porsch-Hällström I., Olsén K. H., Borg B., Roufidou C. (2018). Developmental exposure to the SSRI citalopram causes long-lasting behavioural effects in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Ecotoxicology* 12-22.
- Kotrschal K., Van Staaden M. J., Huber R. (1998). Fish brains: evolution and environmental relationships. *Fish Biology and Fisheries* 373-408.
- Kotyza, J., Soudek, P., Kafka, Z., Vanek T. (2009). Pharmaceuticals – new environmental pollutants. *Chemické Listy* 540–547.

- Krásnik V., Štefaničková J., Furdová A. (2014). DIAGNOSTIKA A LÉČBA OČNÍCH ZÁNĚTŮ. (Czech). Czech & Slovak Ophthalmology 119. ISSN: 12119059.
- Lamichhane K., Garcia S. N., Huggett D. B., DeAngelis D. L., La Point T. W. (2014). Exposures to a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), sertraline hydrochloride, over multiple generations: Changes in life history traits in *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 124-130.
- Larno V., Laroche J., Launey S., Flammarion P., Devaux A. (2001). Responses of Chub (*Leuciscus cephalus*) Populations to Chemical Stress, Assessed by Genetic Markers, DNA Damage and Cytochrome P4501A Induction. *Ecotoxicology* 145-158.
- Li G., Tao L., Li X, Peng L., Song C-f., Dai L-l., Wu Y-z., Xie L. (2018). Design and performance of a novel rice hydroponic biofilter in a pond-scale aquaponic recirculating system. *Ecological Engineering* 1-10.
- Li Y., Zhu G., Ng W. J., Tan S. K. (2014). A review on removing pharmaceutical contaminants from wastewater by constructed wetlands. *Science of the Total Environment* 468-469.
- Li Z.h.(2009). Residual pharmaceutically active compounds (PhACs) in aquatic environment - status, toxicity and kinetics: a review. *Veterinarni Medicina - UZEI (Czech Republic)* 295-314.
- Lupica S.J. & Turner J.W. (2009). Validation of enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of faecal cortisol in fish. *Aquacult. Res.* 40, 437–441.
- Mackuľák T., Mosný M., Škubák J., Grabic R, Birošová L. (2015). Fate of psychoactive compounds in wastewater treatment plant and the possibility of their degradation using aquatic plants. *Environmental Toxicology & Pharmacology* 969-973.
- Mcquaid S. M., Scott T. M., Harwood V. J., Farrah S. R., Lukasik J. O. (2006). Detection of Human-Derived Fecal Pollution in Environmental Waters by Use of a PCR-Based Human Polyomavirus Assay. *Applied and environmental microbiology AEM* 7567-7574.
- Meguid M. M., Fetissof S. O., Varma M., Sato T., Zhang L., Laviano A., Rossi-Fanelli F. (2000). Ingestive behavior and obesity: Hypothalamic dopamine and serotonin in the regulation of food intake. *Nutrition* 843-857.
- Metcalf and Eddy Inc, Tchobanoglous G., Burton F. L., Stensel H. D. (2004). *Wastewater Engineering 4th Edition*. Pages 3-12.
- Miller N, Gerlai R. (2007). Quantification of shoaling behaviour in zebrafish (*Danio rerio*). *Behav Brain Res* ;184:157-66.
- Miyai C. A., Carretero S. F. H., Costa T., Colpo K. D., Volpato G. L., Barreto R. E. (2011). The correlation between subordinate fish eye colour and received attacks: a negative social feedback mechanism for the reduction of aggression during the formation of dominance hierarchies. *Zoology* 335-339.



Mrkva L., Janský B. (2018). Surface water quality in the mastník stream catchment area: The situation in the Czech countryside. *Geografie- Sbornik CGS* 479-505.

Muniesa M., Ballesté R., Imamovic L., Pacual-Benito M., Toribio.Avedillo D., Lucena F., Blanch A. R., Jofre J. (2018). Bluephage: A rapid method for the detection of somatic coliphages used as indicators of fecal pollution in water. *Water Research* 10-19.

Örn S., Holbech H., Madsen T. H., Norrgren L., Petersen G. (2003). Gonad development and vitellogenin production in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to ethinylestradiol and methyltestosterone. *Aquatic Toxicology* 397-411.

Overturf C. L., Overturf M. D., Huggett D. B., (2016). Bioconcentration and endocrine disruption effects of diazepam in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 183-184.

Overturf C. L., Overturf M. D., Huggett D.B. (2016). Bioconcentration and endocrine disruption effects of diazepam in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 183-184.

Pitter P. (2009). *Hydrochemie*. ISBN 9788070807019.

Potužák J., Duras J. (2016). Jou rybníky zdroje či naopak příjemci znečištění? Fórum ochrany přírody. Available from: <http://www.casopis.forumochranyprirody.cz/magazin/analyzy-komentare/jsou-rybniky-zdroje-ci-naopak-prijemci-znecisteni>.

Ramirez A. J., Brain R. A., Usenko S., Mottaleb M. A., O'Donnell J. G., Stahl L. L., Wathen J. B., Snyder B. D., Pitt J. L., Perez-Hurtado P., Dobbins L. L., Brooks B. W., Chambliss C. K. (2009). Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in fish: Results of a national pilot study in the United states. *Environmental toxicology and chemistry* 2587-2597.

Randak T., Zlabek V., Pulkrabova J., Kolarova J., Kroupova H., Siroka Z., Velisek J., Svobodova Z., Hajslova J. (2009). Effects of pollution on chub in the River Elbe, Czech Republic. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 737-746.

Řandák T., Žlábek V., Kolářová J., Svobodová Z., Hajšlová J., Šířoká Z., Jánřká M., Polkrabová J., Čajka T., Jarkovský J. (2006). Biomarkers Detected in Chub (*Leuciscus cephalus* L.) to Evaluate Contamination of the Elbe and Vltava Rivers, Czech Republic. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology* 233-241.

Randák T., Žlábek V., Kolářová J., Svobodová Z., Hajšlová J., Šířoká Z., Jánřká M., Pulkrabová J., Čajka T., Jarkovský J. (2006). Biomarkers Detected in Chub (*Leuciscus cephalus* L.) to Evaluate Contamination of the Elbe and Vltava Rivers, Czech Republic. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology* 233-241.

- Randák T., Žlábek V., Pulkrabová J., Kolářová J., Kroupová H., Šíroká Z., Velíšek J., Svobodová Z., Hajšlová J., (2009). Effects of pollution on chub in the River Elbe, Czech Republic. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72: 737–746.
- Ravindra K., Sokhi R., Van Grieken R. (2008). Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment* 2895-2921.
- Reynolds C. S., & Davies P. S. (2001). Sources and bioavailability of phosphorous fractions in freshwaters: a British perspective. *Biological Reviews* 27-44.
- Rosendorf P., Vyskoč P., Prchalová H., Fiala D. (2016). Estimated Contribution of Selected Non-point Pollution Sources to the Phosphorus and Nitrogen Loads in Water Bodies of the Vltava River Basin. *Soil & Water Research* 196-204.
- Sapolsky R. M., Romero M. L., Munck A. U. (2000). How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions\*. *Endocrine Reviews* 55-89.
- Sedláčková L., Kružíková K., Svobodová Z. (2014). Mercury speciation in fish muscles from major Czech rivers and assessment of health risks. *Food Chemistry* 360-365.
- Sehonova P., Svobodova Z., Dolezalova P., Vosmerova P., Faggio C. (2018). Effects of waterborne antidepressants on non-target animals living in the aquatic environment: A review. *Science of the Total Environment* 789-794.
- Selye, H. (1950). Stress and the general adaptation syndrome. *Br. Med. J.* 1383–1392.
- Shafiei Sabet S., Neo Y.Y., Slabbekoorn H. (2015) The effect of temporal variation in sound exposure on swimming and foraging behaviour of captive zebrafish. *Animal Behaviour* 49-60.
- Shyam M. T., Melles S. J., Bhavsar S. P. (2018). Spatiotemporal Variations in Mercury Bioaccumulation at Fine and Broad Scales for Two Freshwater Sport Fishes. *Water* 1625-1625.
- Schreck C. B. (2010). Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis. *Fish Reproduction* 549-556.
- Schultz M. M., Furlong E. T. (2008) Trace Analysis of Antidepressant Pharmaceuticals and Their Select Degradates in Aquatic Matrixes by LC/ESI/MS/MS. *Analytical Chemistry* 1756-1762.
- Schultz, M.M., Furlong, E.T., Kolpin, D.W., Werner, S.L., Schoenfuss, H.L., Barber, L.B., Blazer, V.S., Norris, D.O., Vajda, A.M. (2010). Antidepressant pharmaceuticals in two U.S. effluent-impacted streams: occurrence and fate in water and sediment, and selective uptake in fish neural tissue. *Environmental Science & Technology* 1918-1925.

Silkina N. I., Mikryakov V. R., Mykryakov D. V. (2016). Ecologo-immunophysiological characteristic of chub *Leuciscus cephalus* (L.) living in river ecosystems of the Caucasus. *Inland water biology* 87-90.

Silkina N., Mikryakov V. R., Mykryakov D. V. (2012). Effect of Anthropogenic Pollution on Oxidative Processes in the Liver of Fish from the Rybinsk Reservoir. *Russian Journal of Ecology* 386-389.

Silva C., Ribeiro C., Maia A. S., Gonçalves V., Tiritan M. E., Afonso C. (2017). Enantiomeric Separation of Tramadol and Its Metabolites: Method Validation and Application to Environmental Samples 170.

Sugg D. W., Chesser R. K., Brooks J. A., Grasman B.T. (1995). The association of DNA damage to concentrations of mercury and radiocesium in largemouth bass. *Environmental Toxicology and Chemistry* 661-8.

Suchopár J., Prokeš M., Suchopár O. (2016). Spotřeba antidepresiv v České republice ve srovnání s ostatními vyspělými zeměmi. *REMEDIA*.

Svobodová J., Vlach P., Fischer D. (2013). Stone crayfish in the Czech Republic: how does its population density depend on basic chemical and physical properties of water? *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 407.

Tanoue R., Margiotta- Casaluci L., Huerta B., Runnalls T., Eguchi A., Nomiya K., Kunisue T., Tanabe S., Sumpter J. P. (2019). Protecting the environment from psychoactive drugs: Problems for regulators illustrated by the possible effects of tramadol on fish behaviour. *Science of the Total Environment* 915-926.

Thomas o., Théraulaz F., Cerdá V., Constant D., Quevauviller P. (1997). Wastewater quality monitoring. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 419-424.

Trang N. T. D., Brix H. (2014). Use of planted biofilters in integrated recirculating aquaculture-hydroponics systems in the Mekong Delta, Vietnam. *Aquaculture research* 460-469.

Tyrrell D. Ch. (2015) The utility of growth form for predicting and evaluating aquatic plant nutrient relations. University of New Brunswick.

Ünver B., Erk'akan F. (2011). Diet composition of chub, *Squalius cephalus* (Teleostei: Cyprinidae), in Lake Tödürge, Sivas, Turkey. *Journal of Applied Ichthyology* 1350-1355.

Van der Valk A. G. (2012). *The Biology of Freshwater Wetlands*. Oxford scholarship.

WHO- World Health Organization, Dětský fond Organizace spojených národů, UNICEF- United Nations Children's Fund. (2012). *Management of substance abuse: Psychoactive substances*. WHO Library.

WHO- World Health Organization, Dětský fond Organizace spojených národů, UNICEF- United Nations Children's Fund. (2012). Progress on drinking water and sanitation. WHO Library.

Wood K., Hayes R., England J., Grey J. (2017). Invasive crayfish impacts on native fish diet and growth vary with fish life stage. *Aquatic Sciences* 113-125.

Wu, H., Zhang, J., Ngo, H.H., Guo, W.S., Hu, Z., Liang, S., Fan, J.J., Liu, H. (2015). A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: design and operation. *Bioresource Technology* 594–601.

Xie Z., Lu G., Li S., Nie Y., Ma B., Liu J. (2015). Behavioral and biochemical responses in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to sertraline. *Chemosphere* 146-155.

Zeidler M. (2005). Heavy metals in two herb species (river morava, czech republic). *Polish journal of ecology* 185-195.