

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

KATEDRA EKOLOGIE



**JE SRST BOBRA EVROPSKÉHO (*CASTOR FIBER*)
VHODNÝM INDIKÁTOREM INTOXIKACE
RIZIKOVÝMI PRVKY?**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí práce: Ing. Aleš Vorel, Ph.D.

Diplomantka: Bc. Karolína Faltová

2016

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Karolína Faltová

Aplikovaná ekologie

Název práce

Název práce: Je srst bobra evropského (*Castor fiber*) vhodným indikátorem intoxikace rizikovými prvky?

Název anglicky

Is the fur good predictor of intoxication of European beaver populations?

Cíle práce

Bobr evropský je semiakvatický hlodavec, který osidluje břehy pomalu tekoucích řek a vodních ploch. Hlavním zdrojem potravy jsou, kromě trávy a vodních rostlin, zejména dřeviny rostoucí na březích. Nejčastěji preferovanými dřevinami jsou vrba (*Salix* spp.) a topol (*Populus* spp.) které jsou zároveň známými akumulátory kadmia (Cd). V dolních úsecích vodních toků dochází ke kumulaci toxických kovů v sedimentech ukládaných na březích a na dně řek, na nichž vyrůstá vegetace, která je potravou bobra. Zde často žijící bobr je tak vystavován vysokým koncentracím Cd.

Středoevropská krajina je výrazně negativně ovlivňována člověkem, mezi důležité vlivy patří perzistence toxických prvků (např. Cd) v živých systémech. Vliv Cd má mnohé negativní účinky na organismy a prostupuje napříč trofickými úrovněmi. Bobr evropský v Evropě postupně osidluje stanoviště s výrazně odlišnými koncentracemi Cd. Kadmium je akumulováno převážně v játrech a v ledvinách, může však negativně ovlivňovat i reprodukční zdatnost. Nízká reprodukční zdatnost populací na dolním Labi na území ČR a v Německu může být způsobena právě zatížením Cd. Aby bylo možné tuto hypotézu potvrdit, je nezbytné mít k dispozici jednoduchou neinvazivní metodu pro posouzení míry zatížení jedinců Cd. Volně žijící živočichové jsou často využíváni jako indikátor dostupnosti frakcí rizikových prvků z kontaminovaného prostředí. Pro zjištění kontaminace živočichů těmito prvky je stále více preferováno používání neinvazivních metod. Analýza koncentrace škodlivých prvků a jejich sloučenin v srsti splňuje tyto požadavky. Aby bylo možné používat tento indikátor pro stanovení kontaminace organismu bobra evropského Cd, je nutné vytvořit teoretický prediktivní model pro odhad míry zatížení jedince Cd na základě analýzy koncentrace prvků v jednotlivých orgánech bobra evropského a vyhodnocení vztahu s koncentrací prvků v chlupcích. Tento model bude vycházet z komplexní znalosti distribuce Cd v organismu bobra evropského.

Metodika

Pro stanovení míry expozice bobrů Cd bude analyzováno několik středoevropských populací bobra žijících v prostředí s různou úrovní kontaminace Cd. Bude se jednat o populace z oblastí Dyje, Moravy, Šumavy a Labe. Pro stanovení základního vstupu Cd do organismu bude ve všech studovaných oblastech proveden sběr vzorků vegetace. Vzorkovány budou frakce potravní báze bobrů (dřeviny, byliny, vodní rostliny) s cílem stanovit koncentrace a izotopové složení Cd v jeho potravě. Ve vzorcích budou zastoupeny bobrem preferované druhy dřevin a rostlin příslušné pro každou lokalitu.

Analýzy koncentrací Cd budou prováděny na vzorcích odebraných z nalezených uhynulých jedinců, depovanými na katedře ekologie FŽP. Vzorky jsou skladovány v 96%-ním lihu zmrazené při teplotě -21 °C. Analyzovány budou následující orgány: ledviny, játra, srdce, plíce a dale svalovina, trus a srst.

Vzorky budou analyzovány v laboratoři environmentální geochemie na FŽP. Obsah Cd (a dalších sledovaných prvků) bude stanoven pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (i-CAP-Q ICP MS, Thermo, Německo). Izotopové složení Cd bude analyzováno pomocí termálně ionizační hmotové spektrometrie (TIMS).

Cílem práce tak bude odpověď na několik otázek:

1. jaké jsou rozdíly v koncentraci Cd mezi modelovými oblastmi?
2. Který ze vzorků odebraných bobrům nejlépe odráží koncentrace Cd v prostředí?
3. Je srst dobrým prediktorem znečištění různě kontaminovaného prostředí bobrů?
4. Koresponduje koncentrace Cd v srsti s koncentrací v jiných vzorcích odebraných bobrům?

Předcházející otázky budou formulovány do jedn. výzkumných hypotéz a ty následně patřičně statisticky vyhodnoceny.

Doporučený rozsah práce

40-60

Klíčová slova

bobr, Cd, intoxikace

Doporučené zdroje informací

- Barták, V., Vorel, A., Šimová, P., & Puš, V. (2013). Spatial spread of Eurasian beavers in river networks: a comparison of range expansion rates. *Journal of Animal Ecology*, 82(3), 587–597.
- Fimreite, N., Parker, H., Rosell, F., Hosen, D. A., Hovden, A., & Solheim, A. (2001). Cadmium, Copper, and Zinc in Eurasian Beaver (*Castor fiber*) From Bø, Telemark, Norway. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67(4), 0503–0509.
- Gizejewska, A., Spodniewska, A., Barski, D., & Fattebert, J. (2015). Beavers indicate metal pollution away from industrial centers in northeastern Poland. *Environmental Science and Pollution Research International*, 22(5), 3969–75.
- Krojerová-Prokešová, J., Barančeková, M., Hamšíková, L., & Vorel, A. (2010). Feeding habits of reintroduced Eurasian beaver: spatial and seasonal variation in the use of food resources. *Journal of Zoology*, 281, 183–193.
- Nolet, B. A., Dijkstra, V. A. A., & Heidecke, D. (1994). Cadmium in beavers translocated from the Elbe River to the Rhine/Meuse estuary, and the possible effect on population growth rate. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 27(2), 154–161.
- Parker, G. H. (2004). Tissue metal levels in Muskrat (*Ondatra zibethica*) collected near the Sudbury (Ontario) ore-smelters; prospects for biomonitoring marsh pollution. *Environmental Pollution*, 129(1), 23–30.
- Vorel, A., Šafář, J., & Šimůnková, K. (2012). Recentní rozšíření bobra evropského (*Castor fiber*) v České republice v letech 2002 – 2012 (Rodentia : Castoridae). *Lynx*, 43, 149–179.
- Vorel, A., Váľková, L., Hamšíková, L., Maloň, J., & Korbelová, J. (2015). Beaver foraging behaviour: Seasonal foraging specialization by a choosy generalist herbivore. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 69(7), 1221–1235.
- Zalewski, K., Falandysz, J., Jadacka, M., Martysiak-Żurowska, D., Nitkiewicz, B., & Gizejewski, Z. (2012). Concentrations of heavy metals and PCBs in the tissues of European beavers (*Castor fiber*) captured in northeastern Poland. *European Journal of Wildlife Research*, 58(4), 655–660.
-

Předběžný termín obhajoby

2015/16 LS – FŽP

Vedoucí práce

Ing. Aleš Vorel, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Elektronicky schváleno dne 5. 4. 2016

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 5. 4. 2016

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 19. 04. 2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Je srst bobra evropského (*Castor fiber*) vhodným indikátorem intoxikace rizikovými prvky?“ vypracovala samostatně, a že jsem uvedla všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpala.

V Praze dne: 19.4.2016

.....
Karolína Faltová

Poděkování

V první řadě bych ráda poděkovala vedoucímu své diplomové práce Aleši Vorlovi za jeho odborné rady, ochotu a vstřícnost a také za jeho neúprosné termíny dokončení různých částí práce, které mě vyburcovaly k aktivitě.

Dále bych chtěla poděkovat Janě Kortanové za její přispění při práci v laboratoři, její pozitivní přístup a pomoc kdykoli jsem o ni zažádala.

Velmi ráda bych také poděkovala všem lidem, kteří se podíleli na analýze vzorků, jmenovitě děkuji Marii Králové, Sylvě Číhalové, Janě Tremlové, Daniele Miholové a Vladimíru Pivcovi.

Abstrakt

Práce se zabývá problematikou zatížení populací bobra evropského (*Castor fiber*) rizikovými prvky ve třech oblastech České republiky a jedné na Slovensku. U 19 nalezených uhynulých bobřích jedinců byla zkoumána koncentrace těžkých kovů (Cd, Zn, Fe, Cu, Pb a As) v ledvinách, játrech, plicích, srdci, svalech a srsti. Dále byla analyzována jejich potrava pro získání přehledu o kontaminaci oblastí jejich původu a zjištění, který orgán nejlépe odráží zaznamenané koncentrace Cd. Hlavním cílem práce bylo zjistit, zda by analýza srsti mohla být do budoucna využita jako neinvazivní metoda determinace zatížení populací bobra těžkými kovy. Výsledky byly průkazné pouze pro As, jehož koncentrace v srsti byla druhá nejvyšší a korelovala s obsahem As v plicích, kde byla naměřena nejvyšší koncentrace arsenu. Kadmium v srsti vykazovalo opačnou strukturu oproti obsahu Cd v ledvinách a játrech. Mezi populacemi a prostředími jejich výskytu byly zjištěny významné rozdíly v jejich kontaminaci těžkými kovy. Zkoumání srsti se pro většinu prvků nejvíce průkazně a je potřeba vyšetřovat další neinvazivní metody pro zjištění zatížení populací bobra evropského toxickými prvky.

Klíčová slova: bobr, Cd, intoxikace, srst, těžké kovy, vrba (*Salix*)

Abstract

This thesis deals with the burden of European beaver (*Castor fiber*) populations with risk elements in three areas of the Czech Republic and one area in Slovakia. There were investigated concentrations of heavy metals (Cd, Zn, Fe, Cu, Pb and As) in the kidneys, livers, lungs, hearts, muscles and fur of 19 found dead beaver individuals. Furthermore, their food was analysed to determine the contamination of their areas of origin and discover, which organ reflects the observed concentrations of Cd the best. The main aim of the study was to determine whether the analysis of hair could be used as a non-invasive method to reflect the concentrations of heavy metals in beaver populations in future. The results were conclusive only for As, whose concentrations in the hair was the second highest and correlated with the content of As in the lungs, which contained the highest concentrations of arsenic. Cadmium in the fur showed a reverse structure compared to the content of Cd in kidney and liver. There were found significant differences in the contamination with heavy metals between beaver populations and their environments. Analysis of the fur is not proved for most of the elements and it is necessary to investigate further non-invasive methods to determine the load of toxic elements on beaver populations.

Keywords: beaver, Cd, intoxication, hair, heavy metals, willow (*Salix*)

Obsah

Prohlášení.....	5
Poděkování.....	6
Abstract.....	8
Obsah	9
1. ÚVOD.....	11
2. CÍLE PRÁCE.....	12
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE	13
3.1 Kadmium a jeho účinky na lidský organismus	13
3.2 Reakce kadmia, zinku a železa v organismech	15
3.3 Kadmium v přírodě	17
3.4 Kadmium v potravě bobra.....	19
3.5 Dostupné informace o kadmiu v organismu bobra evropského	20
3.6 Vztah mezi těžkými kovy v orgánech a v srsti zvířat.....	23
3.7 Rozšíření bobra evropského v České republice.....	26
3.8 Znečištění řek Labe, Vltavy a Dyje.....	28
3.8.1 Labe.....	29
3.8.2 Dyje a Morava.....	31
3.8.3 Horní Vltava.....	33
3.9 Potravní ekologie bobra evropského	34
3.10 Těžké kovy ve vegetaci a rozložení v jejích částech.....	37
4. METODIKA	40
4.1 Sběr materiálu.....	40
4.1.1 Bobří.....	40
4.1.2 Vegetace	41
4.2 Příprava vzorků k analýze	43
4.2.1 Orgány a svaly.....	43
4.2.2 Srst	44
4.2.3 Vegetace	45
4.3 Analýza vzorků.....	46
4.4 Statistické zpracování dat	46
5. VÝSLEDKY	47
5.1 Informace o analyzovaných bobřích jedincích.....	47

5.2	Jaké jsou rozdíly v koncentraci Cd a dalších kovů ve vegetaci mezi modelovými oblastmi?	48
5.3	Který ze vzorků odebraných bobrům nejlépe odráží koncentrace Cd v prostředí? Jak je to u ostatních těžkých kovů?	50
5.4	Je srst vhodným indikátorem intoxikace rizikovými prvky? Existují vztahy mezi jednotlivými vzorky?	52
5.4.1	Kadmium.....	52
5.4.2	Zinek, železo a měď	53
5.4.3	Arsen	54
5.4.4	Olovo.....	54
5.5	Jaké hodnoty těžkých kovů byly ve vzorcích průměrně naměřeny?.....	55
5.6	Koreluje koncentrace Cd v organismu s jinými prvky?	55
5.7	Je množství kadmia a dalších těžkých kovů v organismu závislé na pohlaví a věku jedince?	56
6.	DISKUSE.....	58
7.	ZÁVĚR	66
8.	ZDROJE.....	67
8.1	Literární zdroje	67
8.2	Internetové zdroje.....	73
8.3	Software.....	74

1. ÚVOD

Bobr evropský (*Castor fiber*) je semiakvatický hlodavec, který osidluje břehy pomalu tekoucích řek a vodních ploch. Je schopen se přizpůsobit poměrně široké škále biotopů a celkem dobře se mu daří v člověkem ovlivněné krajině (AOPK, MŽP & ČZU, 2013). Významnou část jeho potravy tvoří vrby a topoly, dřeviny známé svou schopností čerpat těžké kovy z půdy (Wani et al., 2011). Z těchto důvodů je bobr vhodným kandidátem ke zkoumání kvality životního prostředí jako bioindikátor. Z etických důvodů, a v případě bobra také kvůli jeho ochraně, je snaha o vyvíjení neinvazivních metod výzkumu. Tyto metody jsou mimo jiné výhodné v možnosti opakování experimentů na jedné populaci a sledování změn v čase. Má práce se zabývá výzkumem vhodnosti použití analýzy chlupů jako neinvazivní metody pro studium zatížení bobří populace kadmíem a některými dalšími těžkými kovy. V literární části se věnuji především kontaminaci prostředí a populací bobra kadmíem, protože je to prvek, o který mi šlo nejvíce. Při analýze jsem ale zohlednila další těžké kovy (Zn, Fe, Cu, Pb a As), u kterých jsem rovněž zkoumala potenciál srsti jako indikátoru intoxikace organismu.

Použití analýzy chlupů k odhalení těžkých kovů v organismu bylo zkoumáno u některých živočišných druhů a u člověka s rozdílným úspěchem (Pereira et al., 2006; Beernaert et al., 2007; Hernández-Moreno et al., 2013). Výsledky napovídají, že jsou zde velmi vysoké mezidruhové odpovědi organismů na tuto aplikaci. Mezi vlastnosti, které mohou využití metody znemožnit, patří například línání chlupů a metabolismus esenciálních kovů, které jsou v organismu fyziologicky regulovány (Beernaert et al., 2007; Tête et al., 2014). Z teoretického hlediska se jedná o velmi zajímavou metodu, protože chlup je v neustálém kontaktu s krevním oběhem a jeho základní stavební složka, keratin, velmi dobře váže kovy (Burger et al., 1994; Wiig et al., 1999). Nejvíce kadmia se ukládá v ledvinách a játrech (Nolet et al., 1994; Fimreite et al., 2001) a je proto důležité stanovit, zda existuje korelace mezi těmito orgány a chlupy.

2. CÍLE PRÁCE

Cílem práce je výzkum 19 nalezených uhynulých jedinců bobrů a změření obsahu kadmia v jejich játrech, ledvinách, plicích, srdci a svalech a porovnat je s hodnotami naměřenými v jejich srsti. Díky tomu bude možné zjistit, jestli je metoda analýzy chlupů slibná pro budoucí neinvazivní stanovování obsahu těžkých kovů v bobří populaci. Dalším cílem je určit množství přijímaných těžkých kovů organismem pomocí detekce potravy. Na místech, kde byly bobří kadávery objeveny, se bude odebírat bobry nejvíce preferovaná vegetace. Na základě této skutečnosti bude možné vyhodnotit, zda se vyskytuje korelace mezi kadmiiem přijatým v potravě a množstvím tohoto kovu obsaženého v organismu. Zároveň můžeme analýzou vegetace zjistit, ve kterých vzorcích odebraných bobrům se okolní prostředí nejvíce odráží a jaké jsou rozdíly v odlišných oblastech výskytu bobřích populací v České republice. Posledním z výstupů bude vyhodnocení vlivu věku a pohlaví na množství kadmia v organismu.

Očekávané výstupy jsem rozčlenila do následujících výzkumných otázek:

1. Jaké jsou rozdíly v koncentraci Cd a dalších kovů ve vegetaci mezi modelovými oblastmi?
2. Který ze vzorků odebraných bobrům nejlépe odráží koncentrace Cd v prostředí? Jak je to u ostatních těžkých kovů?
3. Je srst vhodným indikátorem intoxikace rizikovými prvky? Existují vztahy mezi jednotlivými vzorky?
4. Jaké hodnoty těžkých kovů byly ve vzorcích průměrně naměřeny?
5. Koreluje koncentrace Cd v organismu s jinými prvky?
6. Je množství kadmia a dalších těžkých kovů v organismu závislé na pohlaví a věku jedince?

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1 Kadmium a jeho účinky na lidský organismus

Kadmium je karcinogenní a teratogenní prvek (Burger, 2008), který patří mezi skupinu těžkých kovů, nejčastěji definovaných hustotou vyšší než 4500 kg/m^3 ($4,5 \text{ g/cm}^3$). Rozlišujeme těžké kovy esenciální, které jsou v malých koncentracích nezbytné pro správnou funkci organismu (Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Ni, Se, V) a těžké kovy toxické (Raudenská et al., 2012), ohrožující zdraví všech forem života, od mikroorganismů, přes rostliny a živočichy až po člověka (Eisler, 1985). Při určitém množství jsou však organismu toxické všechny těžké kovy (Sharma et al., 2014). Kromě kadmia patří k toxickým kovům také Hg, As a Pb. Jejich základním společným rysem je, že se vážou na $-\text{SH}$, $-\text{COOH}$ a $-\text{NH}_2$ skupiny biomolekul, mění jejich strukturu a funkci a tím působí jako enzymatické jedy. V některých případech dochází také ke kompetici těžkých kovů s esenciálními látkami (např. olovo nahrazuje vápník v kostech a kadmium zinek v některých enzymech) (Raudenská et al., 2012). Kadmium se akumuluje převážně v játrech a ledvinách, kde se váže na metalothionein (MT) (Waakells, 2000), nízkomolekulární protein, který se účastní mnoha buněčných funkcí, především transportu, skladování a detoxikace kovů, metabolismu esenciálních kovů a zachytávání volných radikálů. Komplexy MT-kov chrání organismus především před akutními toxickými účinky kovů (Raudenská et al., 2012). Efektivní léčba na chronickou intoxikaci kadmiiem není doposud známá (Waakells, 2000). MT jsou rovněž homeostatickými regulátory a mají na starost zachování volných iontů Zn^{2+} a Cu^{2+} v buňkách a jejich zásobování. MT také slouží jako dárce zinku pro biologické procesy, které jsou na tomto kovu závislé. Když je v těle zinku příliš, MT je schopen ho odbourávat a naopak při jeho nedostatku ho může ze svých zásob uvolňovat a poskytovat pro různé buněčné procesy. Spousta toxických účinků kadmia se uskutečňuje přerušением zinkem zprostředkovaných procesů nebo na zinku závislých metabolických procesech zahrnujících buněčnou produkci DNA, RNA a bílkovin. Dlouhodobá expozice kadmii navíc prokázala poškození kostí způsobující osteoporózu a osteomalacii u pokusných zvířat, ale i u lidí. Tento následek je vyvolán jednak přímými účinky (ovlivňování kostních buněk) kadmia ale i nepřímými, ovlivňováním ledvin a gastrointestinálního traktu (Brzóska

& Moniuszko-Jakoniuk, 2001). Vázané těžké kovy jsou posléze vyloučeny organismem v podobě moči a stolice, ty které se nepodaří vyloučit, jsou dále kumulovány v tkáních (Raudenská et al., 2012). Podle Sharma et al. (2014) z těla odejde pouze malé procento kadmia a životnost tohoto prvku v lidském organismu byla stanovena na 17 až 30 let (Sharma et al., 2014, Burger; 2008). K jeho značné akumulaci dochází i v životním prostředí a tím v potravních řetězcích, přesné hodnoty doby setrvání v přírodě však nejsou známy (Waakells, 2000).

Těžké kovy jsou součástí zemské kůry a vyskytují se tak přirozeně například v podzemních vodách a železných rudách (Sharma et al., 2014). Přirozené šíření kadmia spočívá ve vulkanické činnosti, oceánské vodní tříšti, lesních požárech a úniku kovově obohacených částecí ze suchozemské vegetace (Burger 2008). Průmyslově vzniká jako vedlejší produkt při výrobě zinku, mědi a olova. Dále se využívá při výrobě barviva, plastových stabilizátorů a baterií. Největší zdroje znečištění v přírodě jsou huťové výpary a prach, popel vzniklý spálením materiálů obsahujících kadmium, fosilní paliva, hnojiva, komunální odpadní vody a vypouštění kalů (Eisler, 1985; McBride, 2014). Člověk tak může být kadmium vystaven různými způsoby, nejčastější jsou však zaměstnání v kovoprůmyslu a užívání tabáku. Jeho účinky jsou u lidí spojeny s rakovinou plic, impotencí a občas je mu přisuzován i vliv na rakovinu prostaty. Role kadmia při rakovině jiných orgánů u lidí, jako jsou játra, ledviny a plíce, je zatím nejasná (Waakells, 2000). Metabolismus kadmia je doposud neznámý a velmi se různí, např. pouze 5 % podané dávky kadmia je absorbováno z gastrointestinálního traktu, zatímco procento kadmia absorbované z plic je velmi vysoké, činí až 90 %. Na funkci jeho metabolismu však existují různé hypotézy. Při předpokladu, že kadmium nemá mutační potenciál, může fungovat jako epigenetický ne-genotoxický nebo nepřímo genotoxický mechanismus, který zahrnuje abnormální expresi genu, což vede k nadměrnému rozmnožování buněk nebo k zablokování přirozeného odumírání buněk a tím vzniku rakoviny (Waakells, 2000). Případně může zabránit opravě DNA a nepřímo tak způsobit vznik mutací (Hartwig, 1998). Bylo zjištěno, že karcinogenní účinky kadmia mohou být podáním některých látek pozměněny, jednou z nich je požití selenu (Ferrarello et al., 2002; Burger, 2008) a zinku (Zn), který předchází kadmium způsobené tvorbě nádorů varlat, na druhou stranu ale podporuje tvorbu nádorů na prostatě (Hartwig, 1998).

3.2 Reakce kadmia, zinku a železa v organismech

Zinek, který má s kadmiem některé fyzicko-chemické podobnosti, může potlačit velký počet jeho jedovatých účinků (Elinder & Piscator, 1978). Parizek (1957) zjistil, že současné podávání zinku a kadmia krysám je ochránilo před vážným poškozením varlat ve srovnání s variantou, kdy jim kadmium bylo podáváno samotné. Bylo také zdokumentováno, že kadmiem způsobenému nádoru varlat se dá rovněž předejít podáváním zinku. Vysoký krevní tlak u krys vyvolaný kadmiem je možné snížit injekcí chelátu zinku a nadbytek zinku vede k nižší absorpci a zadržování kadmia v organismu, ve srovnání s tím, když je zvířatům podáváno nedostatečné množství Zn (Elinder & Piscator, 1978). Poškození metabolismu zinku může mít závažné důsledky na zdraví lidí i zvířat, hraje totiž významnou roli při růstu, vývoji a funkci všech živých buněk. Hlavní mechanismus fungování tohoto prvku spočívá v modulaci aktivity enzymů, které se účastní na replikaci, transkripci, a translaci DNA a RNA. Ovlivňováním aktivity velkého množství enzymů se zinek podílí na celkovém metabolismu organismu. Za fyziologických podmínek jsou MT nejprve nasyceny zinkem nebo zinkem a mědí, pokud je však v organismu dostupné kadmium, začne tyto vazby narušovat. Náhrada Zn kadmiem v existujících molekulách s následnou syntézou nového proteinu vede ke změnám v distribuci zinku v organismu. Jak již bylo zmíněno výše v textu, kadmium může poškozovat kosti, způsob jakým k tomu dochází, není prozatím přesně znám. Nepřímý efekt jeho účinků je ovšem do jisté míry spojován rovněž s metabolismem zinku v organismu. Cd se hromadí v kostní tkáni a způsobuje pokles Zn a tím sníženou aktivitu alkalické fosfatázy, což může mít závažné důsledky pro kostní kalcifikaci (vápnění kostí), neboť tento enzym se podílí na tvorbě kostní matrice. Zinek se osvědčil také jako ochranný prvek proti formaci nádorů indukovaných kadmiem. U organismů s nedostatečným množstvím zinku se formoval více než dvojnásobek nádorů (10,1 %) po injekci kadmia než u těch, kteří měli zinku dostatek (3,9 %) (Brzóska & Moniuszko-Jakonuiik, 2001). Pokusy s podáváním zinku a kadmia probíhají především na laboratorních zvířatech (myších a krysách), jejich výsledky však nemohou být přímo aplikovány na člověka a větší živočichy, protože se u různých druhů liší. Některé studie prokázaly téměř ekvimolární zvyšování obsahu zinku s obsahem kadmia v ledvinách při dlouhodobém podávání malých dávek kadmia.

Tento vztah fungoval až do koncentrace 50–70 mg.kg⁻¹ Cd, při které se zvyšování obsahu zinku zpomalilo a byl pozorován u člověka, koně, prasete a ovce. U menších druhů jako jsou králíci, morčata, krysy, myši a kuřata však koncentrace zinku v ledvinách se zvyšujícím obsahem kadmia korelovala jen omezeně. V játrech se tato relace zdá být opačná, neboť množství zinku roste s kadmíem výrazněji u laboratorních zvířat než u vyšších savců (Elinder & Piscator, 1978). Vzhledem k vysokému množství studií na mechanismus kadmia a zinku lze shrnout, že interakce těchto dvou prvků hraje významnou roli v intoxikaci organismu kadmíem (Brzóska & Moniuszko-Jakonuik, 2001).

Kromě Zn soupeří kadmium i s potřebným železem v těle živočichů. Kadmium a železo se vstřebávají ve stejné části střeva a konkurují si ve snaze zabudovat se do bílkovin feritinu a transferinu. Tyto dva proteiny jsou zodpovědné za příjem a přenos železa po těle. Kadmium skrz vázání na feritin ve střevní sliznici snižuje příjem železa a vede k jeho nižším hodnotám ve tkáních, zejména v játrech. Transferin, který přenáší železo k syntéze hemoglobinu je na sebe schopen navazovat i jiné ionty, včetně kadmia. Ve studii Świergosz-Kowalewska & Holewa (2007) byl pozorován negativní efekt kadmia na koncentraci železa v játrech, ačkoli bylo podáváno injekčně a nemohlo tak snižovat střevní absorpci železa. Nabízí se vysvětlení, že Fe bylo nahrazeno v železo-vázajících molekulách a vyloučeno z organismu. Železo v ledvinách nebylo obsahem kadmia ovlivněno. Nepřímý efekt toxicity kadmia tedy způsobuje snižování koncentrace železa především v játrech, což vede k anemii (chudokrevnosti) a k navození degradace lipidů (stavební, ochranné a izolační složky organismu) (Świergosz-Kowalewska & Holewa, 2007). Naproti tomu dostatečná zásoba železa ve formě Fe²⁺ v těle má do jisté míry ochranné účinky proti příjmu kadmia jak z organických (MT), tak inorganických sloučenin (Brzóska & Moniuszko-Jakonuik, 2001).

3.3 Kadmium v přírodě

Kadmium je stopový prvek, který se vyskytuje v nepatrných koncentracích ve většině suchozemských materiálů. Má osm stabilních izotopů, které nesou číslo atomové hmotnosti mezi 106 a 116. Koncentrace kadmia byly měřeny v meteoritech a suchozemských vzorcích, za účelem zkoumání úrovně kadmia v životním prostředí. S příchodem techniky pro separaci kadmia a izotopické analýzy se použití této metody během posledních desetiletí velmi zvýšilo a ukázalo se jako užitečné pro studium hmotnostně závislých frakcí. Během několika posledních let, nové nástroje a analytický rozvoj umožnily přesné izotopické měření koncentrace kadmia v životním prostředí (Gao et al., 2008).

Kadmium může být transportováno na velké vzdálenosti ať už větrem nebo skrz vodní prostředí a nachází se i ve velmi vzdálených regionech od průmyslových center (Jerez et al., 2013). Pouze 4–6 % kadmia je z půdy přeneseno do vody, ale když se tomu tak stane, je velice rychle absorbováno do sedimentů (Huckabee, 1973). Antropogenní znečištění říčních systémů těžkými kovy je většinou vázáno na jemnozrnné jílové minerály a organické látky, které se akumulují vertikálním přirůstáním v záchytných „pastech“ sedimentů podél říčních toků, jako jsou jezera, přehrady a záplavová území. Tento trend je považován za užitečný archiv historických změn znečištění prostředí. Méně pozornosti je však věnováno nánosům v říčních korytech, která jsou přenosným zdrojem znečištění a zároveň ho ukládají sama v sobě (Famera et al., 2013).

Mobilita a dostupnost kadmia živočichům ve volné přírodě se liší v závislosti na jeho fyzikálně-chemické formě v půdě, dalšími faktory určujícími jeho toxicitu jsou věk jedince, pohlaví, výživa, trofická úroveň, sezónní a roční proměnlivost a geografická proměnlivost. Fyzikální faktory, jako jsou teplota a pH mohou rovněž ovlivnit efekt kadmia na biotu. S rostoucím pH roste náchylnost bezobratlých a larev obojživelníků k toxicitě kadmiem, zatímco akumulace v rostlinách se zvyšuje při nižším pH (Burger, 2008). Parker (1989) dokumentoval, že nárůst koncentrace kadmia v topolu osika (*Populus tremuloides*), významné potravní složky bobra, značně koreluje se snižujícím se pH v půdě. Hillis & Parker (1993) ve své studii rovněž zaznamenali vyšší dostupnost kadmia v potravních řetězcích na zeminách s

nižším pH. Rozdíly množství kadmia v organismu závislé na věku (vyšší věk odpovídá vyšší koncentraci kadmia) byly objeveny u srnců (*Capreolus capreolus*), krtků (*Talpa europaea*) a ptačím druhu, ústřičníku velkém (*Haematopus ostralegus*) (Burger, 2008). Stejně tak byla závislost koncentrace kadmia na věku potvrzena u bobra (*Castor fiber*) ve studiích Fimrete et al. (2001) a Giżejewska et al. (2015). Mezi jiné, již zmíněné faktory, prokazatelně ovlivňující množství kadmia u některých druhů, patří například roční období a pohlaví jedince. U zajíce obecného (*Lepus europaeus*) byly potvrzeny vyšší hodnoty kadmia v zimě, dále u starších jedinců ve srovnání s juvenilími a u samic na rozdíl od samců. Stejně výsledky, co se týče věku a pohlaví, byly zaznamenány ve studii Hernández-Moreno (2013) u vlka iberského (*Canis lupus signatus*). Burger et al. (2008) rovněž zaznamenali vyšší hodnoty kadmia u samic nežli u samců myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*). U krtka obecného (*Talpa europaea*) byly naopak vyšší hodnoty kadmia nalezeny v samcích oproti samicím. Ve studii Nolet et al. (1994) a Fimrete et al. (2001) nebyla závislost koncentrace kadmia na pohlaví průkazná.

Významnou roli v toxikaci organismu kadmiem hraje také výživa. Dostatek zinku v potravě může zmírnit rakovinotvornost způsobenou kadmiem na určitých místech, stejně tak dostatek železa v potravě může potlačovat efekt kadmia. Nedostatek železa zvyšuje toxicitu kadmia, částečně podporou absorpce, a částečně přerušením růstu a vývoje (Burger, 2008). Existují jednoznačné rozdíly mezi jednotlivými druhy, co se týče citlivosti ke kadmiu. Například po inhalaci kadmia se vytvoří plicní nádor u krys (*Rattus* spp.), zatímco myši (*Mus* spp.) a křečci (*Cricetus* spp.) se zdají být tomuto způsobu příjmu kadmia odolní (Waalkes, 2000). Jak již bylo řečeno výše, mechanismus rakovinotvornosti kadmia zůstává neznámý, ačkoli ve zmíněném případě se hypotéza přiklání k odlišnému množství tvorby MT v plicích (Waalkes, 2000). Henson & Chedrese (2004) objevili, že kadmium může negativně působit také na morfologii reprodukčního orgánu, vaječnicků a stimulaci progesteronu. Kvůli velkým rozdílům v příjmu kadmia, vzhledem k výše zmíněným faktorům a dokonce velké mezidruhové variabilitě, je těžké extrapolovat dokonce úzce příbuzné živočišné druhy (Burger et al., 2008). Hansen et al. (2002) objevil, že siven velkohlavý (*Salvelinus confluentus*) je dvakrát odolnější vůči kadmiu než pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*). Některé živočišné druhy se pohybují na rozmezí

terestrických a akvatických biotopů, např. bobr (*Castor* spp.). Jeho hlavní potravu tvoří rostliny rostoucí na okraji řek, akumulující velké množství kadmia z vodního substrátu a může tak být vystaven koncentraci převyšující maximální toleranci, která byla vypočítána pro velké býložravce (Burger et al., 2008). Nežádoucí účinky kadmia na volně žijící živočichy a ryby se vyskytují, pokud obsah kadmia přesáhne 3 mg.kg⁻¹ ve sladké vodě, 4,5 mg.kg⁻¹ ve slané vodě nebo 0,1 mg.m⁻³ ve vzduchu (Burger et al., 2008, Eisler 1985).

3.4 Kadmium v potravě bobra

Detailnější potravní ekologie bobra evropského je popsána v kapitole 2.9. Mezi nejvýznamnější složky jeho jídelníčku však patří vrby (*Salix* spp.) a topoly (*Populus* spp.), které jsou důležité z hlediska koncentrace kadmia, protože mají vysokou schopnost jej čerpat z půdy (Wani et al., 2011). V některých státech (např. Švédsko) jsou vrby používány k odstranění kadmia z půdy jejich rozsáhlým vysazováním a následně používány jako biopalivo v tepelném průmyslu (Klang-Westin & Perttu, 2002). Fytoremediace neboli očištění půdy od těžkých kovů rostlinami je v současné době zkoumána ve spoustě států Evropy a v Severní Americe. Kromě topolů a vrb jsou vyšetřovány také fytoremediační schopnosti javoru a břízy, jelikož jsou schopné růst na půdách zatížených kovy. Rod *Salix* se skládá zhruba ze 450 druhů a všechny z nich jsou rychle rostoucími a snadno se prosazujícími dřevinami, které jsou tolerantní vůči velké škále půdních typů. Navíc jejich schopnost zmlazení po vykácení a produkce značného množství biomasy je dělá atraktivní skupinou rostlin pro fytoremediační účely. Různé druhy vrb a stejně tak jejich klony se výrazně liší v odolnosti vůči těžkým kovům a také rozmístění kovů po těle rostliny (Wani et al., 2011). *Salix nigra* je, například, považována za slibný druh pro čištění půd, protože přijímá velké množství těžkých kovů a ukládá je především do kmenů a listů, což je výhodné z hlediska sklizení a následného odstraňování jejich biomasy. Z pohledu ochrany bobra, ale i jiných herbivorů, je umístění těžkých kovů v těle rostliny rovněž zásadní, jelikož se živí především kůrou a větvičkami s listy těchto rostlin. Mimo lidská osídlení by proto měly být pro vegetační účely vysazovány rostliny s akumulací v kořenech a nikoli ve stoncích (kmenech). K takovýmto druhům patří například *Salix phyllicifolia* (Kuzovkina, 2004), v České republice se však pod tento

taxon řadí pouze vrba dvoubarvá *Salix bicolor*, která na našem území vyskytuje jen ve vysokohorských oblastech (Nývtová, 2010). Přesun kadmia do listů se mezi *Saliciae* velmi liší, obecně je však vyšší u vrb než u topolů. Příkladem může být experiment od Pietrini (2010), kde byla měřena koncentrace kadmia v listech u dvou druhů topolu a vrby bílé (*Salix alba*). Koncentrace v listech byla detekována průměrně na 22,5 mg.kg⁻¹ pro topol černý *Populus nigra*, 173,3 mg.kg⁻¹ pro topol kanadský (*Populus x canadensis*) a 373,5 mg.kg⁻¹ pro *Salix alba*.

3.5 Dostupné informace o kadmiu v organismu bobra evropského

Volně žijící živočichové, například bobr evropský/kanadský (*Castor fiber/canadensis*), srnec obecný (*Capreolus capreolus*), prase divoké (*Sus scrofa*) a vydra říční (*Lutra lutra*) jsou dobrými bioindikátory kontaminace životního prostředí nebezpečnými prvky zahrnujícími také těžké kovy (Giżejewska et al., 2013). Bobr evropský je největší evropský hlodavec (a druhý největší na světě po kapybaře americké), a jeho působení v přírodě tak vyvolává velký tlak na životní prostředí. Výhody zkoumání bobra jako bioindikátoru spočívají také v jeho částečném životě ve vodě a na souši, kdy je ve styku s oběma složkami životního prostředí a může nést informaci o jejich kontaminaci. Z těchto důvodů byla na populacích bobra provedena řada studií ať už v industriálních oblastech nebo v územích s nízkou pravděpodobností znečištění.

V práci (Giżejewska et al., 2013) bylo odchyceno 6 jedinců, obývajících typicky zemědělskou oblast s hospodářskými lesy a velkým počtem jezer. Průměrná naměřená koncentrace kadmia dosáhla 0,88 mg.kg⁻¹ mokré váhy v játrech a 7,93 mg.kg⁻¹ v ledvinách. Koncentrace kadmia v ledvinách přesahovala ve všech případech maximální povolené hodnoty stanovené nařízením Evropské komise pro člověkem konzumované vnitřnosti, které byly pro ledviny stanoveny na 1 mg.kg⁻¹ mokré váhy (Nařízení komise (ES) č. 1881/2006). Limit byl v tomto případě převyšován nejméně třikrát a nejvíce čtrnáctkrát. V játrech byla povolená koncentrace (0,5 mg.kg⁻¹ mokré váhy) převyšována ve dvou případech, jednonásobně a dvojnásobně. Koncentrace kadmia ve svalu se ve všech případech pohybovala pod hranicí 0,05 mg.kg⁻¹ mokré váhy a nepřevyšovala tak hodnoty stanovené Evropskou komisí (Giżejewska et al., 2013). K podobným výsledkům dospěl Zalewski et al.

(2012), při výzkumu jedinců, pocházejících ze dvou odlišných biotopů. První skupina bobrů žila v lese Srokowo v Polsku a druhá část bobří populace se nacházela v blízkosti kontaminovaného území bývalého armádního letiště. Stejně jako ve studii (Giżejewska et al., 2013) bylo nejvíce kadmia nalezeno v ledvinách (v rozmezí 0,47-12,43 mg.kg⁻¹ mokré váhy), menší hodnoty byly naměřeny v játrech, a ve svalech se jednalo pouze o zanedbatelné množství. Zvířata pocházející z oblasti bývalého armádního letiště byla podstatně více kontaminována než ta, žijící v lese Srokowo, obsahem kadmia v ledvinách až třikrát vyšším. Navzdory odlišným koncentracím kadmia v jednotlivých orgánech, neměl tento prvek žádný prokazatelný efekt na zdravotní stav jedinců. O něco vyšší hodnoty kadmia byly naměřeny ve studii Nolet et al. (1994), v oblasti Biesbosch v Holandsku, kam byli bobří reintrodukováni z kadmíem mírně znečištěné oblasti středního Labe z Německa. Biesbosch se nachází na soutoku Rýna s řekou Meuse a oba toky byly v době výzkumu silně kontaminované. Během experimentu bylo zaznamenáno, že biesboschská populace se oproti ostatním introdukovaným populacím rozrůstá pomaleji. Koncentrace kadmia se v srsti vypuštěných bobrů navýšila po reintrodukci průměrně třikrát, a průměrná koncentrace v ledvinách byla 55 mg.kg⁻¹ suché váhy. Do budoucna byla předpovězena koncentrace v ledvinách větší než 100 mg.kg⁻¹ suché váhy, což je hodnota způsobující poškození ledvin u jiných savců. Nicméně u bobra obývajícího řeku Muldu (levý přítok Labe v Německu) byla naměřena hodnota dokonce 467 mg.kg⁻¹ suché váhy, což odpovídalo 93 mg.kg⁻¹ mokré váhy (nejvyšší dosud naměřená v býložravci), a u zkoumaných jedinců nebyly potvrzeny negativní následky na fyziologické funkce, ani na rozmnožování.

Studie Fimreite et al. (2001) se zabývala výzkumem bobří populace v okolí města Bø v okrese Telemark v Norsku. Jedná se o typicky venkovskou oblast jižního Norska s převážným zastoupením boreálních lesů, malým množstvím zemědělství a velice zřídka také průmyslu. V práci bylo zkoumáno 92 odchycených jedinců. Průměrná hodnota koncentrace kadmia v ledvinách činila 10,25 mg.kg⁻¹ mokré váhy, a jednalo se tak o jednu z nejvyšších naměřených hodnot v Evropě (po výše zmíněné koncentraci u řeky Muldy). V játrech a ledvinách byla objevena pozitivní korelace mezi obsaženým množstvím kadmia a zinku (v chlupech se naopak ukázala jako negativní). Ačkoli nalezené hodnoty kadmia byly vysoké, stále jsou značně pod

hranicí spojenou se známými škodlivými účinky na savce. U lidí musí koncentrace kadmia v ledvinách dosáhnout 200 mg.kg^{-1} mokré váhy, aby způsobila selhání ledvin. Na základě experimentálních výzkumů byla tato hranice stanovena pro savce na 100 mg.kg^{-1} Cd mokré váhy v ledvinách. Nejvyšší naměřená hodnota v oblasti Bø byla $27,26 \text{ mg.kg}^{-1}$ mokré váhy, takže populace nebyla vystavena nebezpečné dávce. Jiné studie se ovšem zastávají daleko nižší hranice bezpečné dávky Cd pro organismus, které se pohybují mezi $100\text{-}150 \text{ mg.kg}^{-1}$ suché váhy (Nolet et al., 1994), přibližně $40\text{-}50 \text{ mg.kg}^{-1}$ mokré váhy. Zjištěné hodnoty navíc zdaleka přesahují doporučené maximální dávky pro potraviny v již zmíněném nařízení Evropské Komise, které činí $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ a bobří ledviny by tudíž neměly být požívány. Játra by neměla být konzumována ve velkém měřítku, zatímco svaly byly ohodnoceny jako bezpečné pro lidskou potravu (Fimreite et al., 2001).

Ve studii (Giżejewska et al., 2015) bylo u bobra evropského naměřeno v ledvinách průměrně $2,81 \text{ mg.kg}^{-1}$ mokré váhy a průměrný obsah kadmia v játrech činil $0,21 \text{ mg.kg}^{-1}$ mokré váhy, což jsou sice o poznání nižší hodnoty než v předešlých studiích, nicméně zkoumaná zvířata pocházela z oblasti s dominujícím lesním porostem, zemědělskými plochami a ve velké vzdálenosti od průmyslových center. Autoři se domnívají, že je potřeba zajistit pravidelný monitoring v přirozených biotopech a jen tak lze určit skutečný stav životního prostředí. Množství zinku pozitivně korelovalo s množstvím kadmia v ledvinách a játrech, stejně jako v práci Fimreite et al. (2001).

Ve studii Parker (2004), probíhající v blízkosti kovohutě (Sudbury, Ontario) a kontrolnímu místu vzdálenému 160 km od továrny, byly zkoumány koncentrace kadmia v játrech a ledvinách ondatry pižmové (*Ondatra Zibethica*), která je stejně jako bobr považována za vhodného indikátora znečištění prostředí. Bylo zjištěno, že v blízkém okolí hutě obsahovala zvířata 1,8krát a 2,5krát více kadmia v játrech a ledvinách než jedinci žijící ve vzdálenějším okolí. Průměrná naměřená hodnota kadmia byla $1,78 \text{ mg.kg}^{-1}$ suché váhy v ledvinách a $0,43 \text{ mg.kg}^{-1}$ suché váhy v játrech nedaleko továrny a $0,76$ a $0,25 \text{ mg.kg}^{-1}$ suché váhy v ledvinách a játrech na kontrolním místě. Naměřené hodnoty kadmia byly o poznání nižší než v předchozích studiích, což může být přisouzeno nízké délce života ondatry (max. 5 let) a mládí obou zkoumaných populací. Výzkum byl zaměřen rovněž na bohatě se vyskytující

orobince (*Typha latifolia*), které jsou součástí potravy ondatry. Z výsledků bylo patrné, že orobinec může být jednou z hlavních příčin obsahu kadmia v populaci a dále zkonsumované říční sedimenty (při okusování kořenů vodních rostlin), které obsahují vysoké množství těžkých kovů.

3.6 Vztah mezi těžkými kovy v orgánech a v srsti zvířat

Volně žijící živočichové jsou často používáni ke zkoumání výskytu těžkých kovů v přírodě a pozorování negativních účinků těchto kovů na organismy (Beernaert et al., 2007). Mezi časté metody patří obětování jedince a měření těžkých kovů v jeho orgánech, ale z etických důvodů je snaha o využívání neinvazivních metod (Filistowicz et al., 2011). Tyto metody vystavují zvířata minimálnímu stresu a jsou adekvátní pro zkoumání populací ohrožených druhů. Umožňují po sobě následující pozorování hodnot kontaminace u stejné populace během dlouhodobějšího časového horizontu. Jsou výhodné rovněž z hlediska průkaznosti výzkumu, kdy je možné obdržet statisticky významnou velikost vzorku (Hernández-Moreno et al., 2013). Jednou z těchto metod může být rozbor obsahu těžkých kovů v srsti živočichů. V současné době je metoda úspěšně používána u mořských savců (Medvedev et al., 1997), ale u suchozemských živočichů nebyla dosud příliš využívána. Mezi další neinvazivní metody patří například zkoumání mateřského mléka, krevního séra, výkalů a vnitřních parazitů (Filistowicz et al., 2011).

Hlavní stavební kámen vlasu (chlupu) je keratin, který obsahuje velké množství sulfanylových skupin (-SH), umožňující vázání různých kovů (Burger et al., 1994; Wiig et al., 1999). Každý chlup je v neustálém kontaktu s krevním oběhem na vlasovém folikulu a při růstu do sebe zabudovává kovy obsažené v krvi (Burger et al., 1994), navíc pot a mazové žlázy přispívají k detekci kovu ve vlasu (chlupu) (Hernández-Moreno et al., 2013). Výsledkem analýz chlupu může být odraz obsahu těžkých kovů v orgánech živočicha (Burger et al., 1994). Některé vlastnosti chlupů však mohou tuto hypotézu zmařit. Jedním z problémů pro výzkum je línání srsti, které může mít významný vliv na množství akumulovaných kovů v chlupech. Další úskalí je možné pozorovat v příjmu a distribuci esenciálních kovů jako je měď a zinek, které jsou v savcích fyziologicky regulovány a tím drženy na určité úrovni, narozdíl od kadmia a olova, které jsou tím pádem pro použití této metody

potenciálně vhodnější (Beernaert et al., 2007). Ve studii Beernaert et al. (2007) bylo potvrzeno, že analýza chlupů, co se týče mědi a kadmia, může být u myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*) užitečná jako neinvazivní metoda bioindikace životního prostředí, výsledky zinku byly v této studii neprůkazné. Naproti tomu Filistowicz et al. (2011) potvrdil vhodné využití metody pro zkoumání zinku v organismu, ale zároveň ji vyhodnotil jako neprůkaznou u ostatních zkoumaných prvků (Cu, Pb, Ni), lépe se osvědčila invazivní metoda zkoumání kůže. Hernández-Moreno et al. (2013) označil za průkaznou pozitivní korelaci mezi obsahem kadmia v ledvinách a srsti vlka iberského (*Canis lupus signatus*) a také mezi obsahem olova v játrech a chlupech. Nolet et al. (1994) také objevil korelaci mezi obsahem kadmia v ledvinách a srsti u bobra evropského (*Castor fiber*), ačkoli jeho množství v ledvinách bylo o dva řády vyšší. Tato korelace nebyla potvrzena u myši a potkanů ve studii Pereira et al. (2006), metoda zkoumání koncentrace prvků v chlupech byla statisticky signifikantní pouze pro chrom a arsen. Pro vyloučení arsenu z těla organismu představují chlupy (vlasy) významnou cestu (Pereira et al., 2006). Dalším takovým prvkem je měď, jejíž koncentrace byla v těle vydry říční (*Lutra lutra*) díky efektu línání držena v únosných mezích (Hyvärinen et al., 2003). Metoda zkoumání srsti pro srovnání s kumulací těžkých kovů v orgánech byla zkoumána i u domácích zvířat. Ve studii Patra et al. (2007) bylo výzkumu podrobena 317 krav, z toho třicet pocházelo z oblastí nezatížených těžkými kovy a zbytek se vyskytoval v okolí různých industriálních oblastí. Zvířatům byla odebrána krev a ocasní chlupy a zjišťovala se korelace mezi kadmii a olovem v srsti a krvi. Koncentrace Cd se ukázala jako neprůkazná pro odraz prvku v krvi, zatímco olovo se zdá být vhodnějším prvkem pro tuto metodu. Ve studii Tête et al. (2014) byl zkoumán vztah mezi obsahem kadmia a olova v ledvinách, játrech a v půdě vzhledem k obsahu těchto prvků v srsti myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*). Myšice křovinná je po Evropě velice rozšířený a početný druh a proto je často zkoumána jako bioindikátor znečištění prostředí. Autoři zahrnuli do výzkumu také individuální charakteristiky jako věk a pohlaví jedinců s úmyslem vysvětlit co nejvyšší možnou variabilitu modelu, protože kadmium se v orgánech kumuluje s věkem. Myšice se chytaly během dvou po sobě následujících období, na podzim roku 2010 a na jaře 2011. Myšice línají mezi podzimem a jarem a věková struktura populace, metabolismus, potravní zdroje a tím pádem i potravní návyky se mohou mezi těmito obdobími lišit.

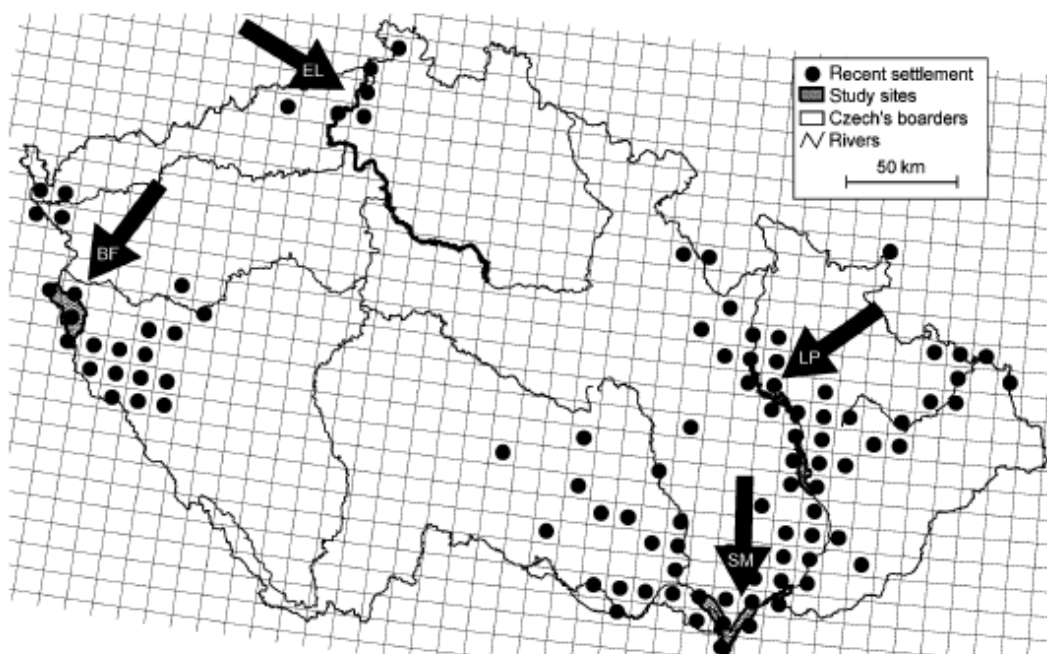
Vzhledem k tomu, že vyjmenované faktory mohou ovlivnit dostupnost těžkých kovů v prostředí, jejich přenos mezi potravními řetězci a následně kumulaci v orgánech, variance mezi ročními obdobími by měla být rovněž zahrnuta do modelů určujících vztah mezi koncentracemi prvků v orgánech a chlupech. Pozitivní korelace byla shledána pro kadmium i olovo mezi obsahem těchto prvků v játrech a ledvinách. Pro kadmium byla určena slabá, ale průkazná korelace mezi ledvinami a játry ve vztahu k srsti za období 2010, nikoli však pro jaro 2011. Pozitivní korelace pro obě období byla pozorována mezi chlupy a obsahem Cd v půdě. Vztah olova v obou orgánech v porovnání se srstí byl průkazný během obou období s relativně vysoce vysvětlenou variabilitou a stejný trend byl pozorován i pro srst s půdou. Pohlaví a věk pomohly vysvětlit velkou část variability dat pro Cd, což neplatilo u Pb, kde individuální charakteristiky osvětlily pouze obsah olova v játrech a chlupech na podzim 2010. Variabilita mezi podzimním a jarním obdobím může být potenciálně vysvětlena periodou línání a odlišnými zdroji potravy. Tato studie ve svém závěru doporučuje další zkoumání metody pro obsah olova v chlupech a orgánech, nikoli však pro obsah kadmia, které v roce 2010 pouze slabě predikovalo koncentraci v chlupech, a v roce 2011 nebyly koncentrace signifikantní vůbec. Tento výsledek se velice liší od zmíněné studie Beernaert et al. (2007), kde byla metoda měření koncentrací kadmia v chlupech u myšice křovinné označena za slibnou. Autoři Tête et al. (2014) si tento rozdíl vysvětlují jednak odlišnými obdobími, ve kterých výzkumy probíhaly, protože studie Beernaert et al. (2007) se odehrávala na konci zimního období a jednak mezi místně-specifickými diferenciacemi, například dostupností těžkých kovů v prostředí, typem vegetace, dostupností potravy a jídelníčkem. Zmíněné rozdíly dělají zkoumání neinvazivní metody měření koncentrace těžkých kovů v srsti ve srovnání se zatížením orgánů ještě těžší, speciálně pro kadmium. Vhodnost použití metody, jak vyplývá z přehledu literatury, se tak může velice lišit u odlišných živočišných druhů, ale může být variabilní i mezi různými podmínkami prostředí pro jeden druh a jiným obdobím výzkumu.

3.7 Rozšíření bobra evropského v České republice

Bobr evropský historicky osidloval téměř celé území Evropy a Asie, většina populací však byla během 16. - 19. století vybita a na začátku 20. století zbylo pouze 1200 jedinců v osmi izolovaných populacích. Hlavním důvodem jejich úbytku byl nadměrný lov, především pro srst, kastoreum (výměšek análních pachových žláz používaný jako lék nebo substance do parfémů) a maso, díky své šupinaté struktuře ocasu připomínal rybu a byl konzumován i v době půstu (Nolet & Rosell, 1998; Kostkan & Laciná, 2008). Dalšími významnými faktory přispívajícími k jeho vyhynutí byl úbytek přirozených biotopů a v České republice například i obavy z porušování rybníčních hrází, vzhledem k tomu, že zde bylo velmi vyvinuté rybníční hospodářství, které sebou přinášely regulaci bobří populace lovem (AOPK, ČZU & MŽP, 2013). Právní ochrana a početné reintrodukční programy napomohly k zotavení bobří populace ve velké části původního areálového rozšíření (Nolet & Rosell, 1998; Kostkan & Laciná, 2008). Návrat bobrů společně s jejich potravními návyky přispívají k rostoucím konfliktům orgánů ochrany přírody se správami vodních toků, lesním hospodářstvím, rybníkářstvím a zemědělstvím (Nolet & Rosell, 1998). V některých státech byl lov dokonce znovu povolen (Lotyšsko, Litva, Estonsko, Bělorusko, Norsko Švédsko, Rusko a Kanada (Gizejewska et al., 2015) a v jiných umožněn s regulacemi. V Polsku je například částečně chráněn a jeho populace se těší stálému nárůstu, počet jedinců byl v roce 2014 odhadován na 78 000. Velká populační hustota je připisována jednak přijetí plánu aktivní ochrany bobra, schopnosti druhu se rychle adaptovat na různé podmínky prostředí, absenci přirozených nepřátel a mimo jiné i vylepšení kvality vodních zdrojů.

Návrat bobra evropského na území České republiky byl zaznamenán v druhé polovině 70. let 20. století na jižní Moravě v oblasti soutoku Moravy a Dyje. Jeho rozšíření závisí zejména na třech provázaných faktorech. Prvním z nich je dostupnost preferované potravní nabídky (zejména vrb (*Saliceae*) a topolů (*Populus*)) v okolí řek a dále nadmořská výška a podélný sklon vodních toků. Nadmořská výška ve Středoevropské krajině přímo souvisí s potravní nabídkou, neboť co se týče klimatu, bobr zde není vzhledem k jeho výskytu i v arktických oblastech nijak omezován. V České republice s přibývajícím nadmořskou výškou klesá úživnost prostředí a v

oblastech s 850 - 900 m. n. m. je pro výskyt bobra již málokde vhodné prostředí. Bobří osídlení je také ovlivňováno charakterem vodních toků, prudké bystřiny jsou pro bobra z hlediska stálého osídlení nevhodné, i když je jimi schopen migrovat a po nějakou dobu v nich setrvat. K trvalému obydlí si vybírá oblasti s klidnou hladinou a stálým průtokem. Na území České republiky jsou v současné době rozmístěny čtyři hlavní izolované populace, tři z toho byly formovány přirozenou migrací z okolních států a jedna byla úspěšně introdukována. Nejstarší populace se nachází na Jižní Moravě (imigrace z Rakouska) v pořadí druhé osídlení vzniklo v Českém lese (původ z Německa, oblasti Bavorska), odkud se bobří rozšířili na Šumavu a dále bobří osídlili okolí řeky Labe (příchod ze severovýchodního Německa, oblasti Saska-Anhaltska). V Litovelském Pomoraví se uchytila jediná uměle vysazená populace, která byla reintrodukována z Polska a Litvy. V poslední době dochází k šíření bobrů z oblasti Orlických hor, dále po proudu řeky Orlice, kam se bobří přesunuli okolo roku 2000 díky repatriacím zahájených v Polsku a nejnovější přísun jedinců byl zaznamenán ve Slezsku, rovněž původem z Polska.



Obr. 1, Rozmístění čtyřech hlavních populací Bobra evropského v ČR (Krojerová-Prokešová et al., 2010)

3.8 Znečištění řek Labe, Vltavy a Dyje

Ve svém výzkumu se budu zabývat čtyřmi populacemi bobra evropského, pobývajících v okolí tří významných toků. Jedna pochází z oblasti řeky Labe, druhá se nachází na řece Vltavě a poslední dvě sídlí v okolí řeky Dyje a částečně Moravy, proto se budu zabývat celým povodím řeky Moravy. Jak už jsem předeslala v úvodu své diplomové práce, budu se zajímat o obsah těžkých kovů v jejich srsti, orgánech a také potravě, která by měla poskytnout informace o kontaminaci prostředí jejich výskytu. Jako pozadí bych proto chtěla uvést hydrologické informace o znečištění na těchto tocích a jeho příčinách. Kvalita povrchových vod je pro obecnou informaci vyjadřována v třídách jakosti vody. Tyto třídy jsou definovány v ČSN 75 7221 „Klasifikaci jakosti povrchových vod“ (s účinností od října 1998) pro řadu ukazatelů. Roztřídění se provádí tak, že zvláště se klasifikují jednotlivé ukazatele příslušné skupiny a výsledná třída skupiny se určí podle nejnepříznivějšího ukazatele jakosti vod ve skupině (VeJVodová et al., 2014).

Třídy jakosti podle normy ČSN 75 7221:

třída I. ... velmi čistá voda,

třída II. ... čistá voda,

třída III. ... znečištěná voda,

třída IV. ... silně znečištěná voda,

třída V. ... velmi silně znečištěná voda.

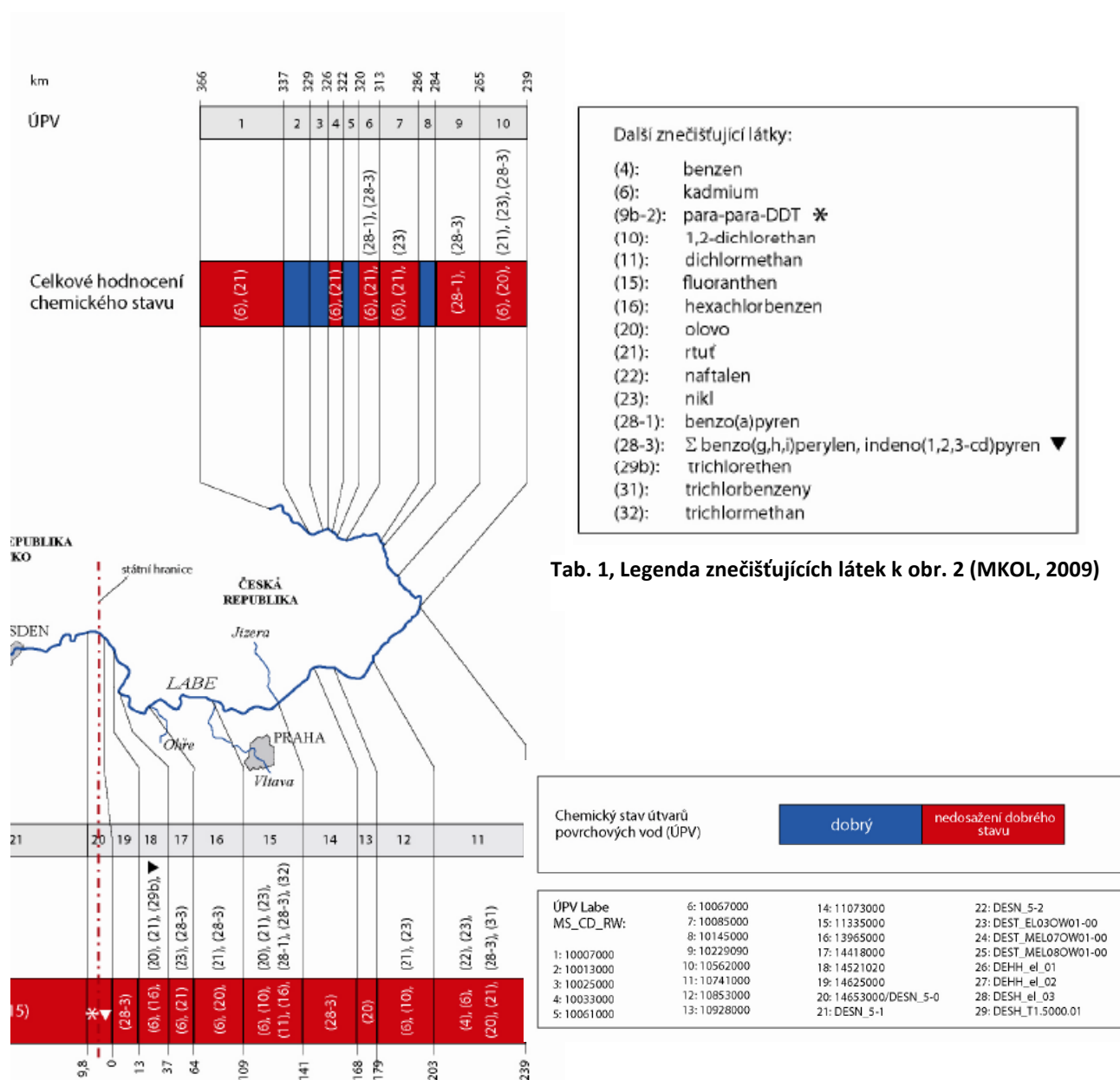
Jednotlivé ukazatele jsou rozděleny do skupin podle charakteru. V normě jsou definovány následující skupiny:

- Obecné, fyzikální a chemické ukazatele: např. konduktivita, rozpuštěný kyslík, BSK₅, CHSKMn, chloridy, vápník atd.,
- Specifické organické látky: např. chlorbenzen, tetrachlorethen, trichlorethen, atd.,
- Kovy a metaloidy: chrom, rtuť, mangan, železo, kadmium atd.,
- Mikrobiologické a biologické ukazatele: termotolerantní koliformní bakterie, enterokoky, chlorofyl atd.,
- Radiologické ukazatele: celková objemová aktivita, uran, tritium atd.

3.8.1 Labe

Na konci 80. let 20. století patřilo Labe k nejvíce znečištěným tokům v Evropě, navzdory tomu bylo řekou velmi bohatou na ryby. Průběžný komerční rybolov však nebyl možný kvůli látkovému znečištění. Hlavní příčinou bylo nedostačující čištění městských odpadních vod a vypouštění takřka nečištěných průmyslových odpadních vod, zejména z výroby celulózy a papíru, farmaceutického, chemického a kovozpracujícího průmyslu. Kromě toho přinášely výrazné znečištění velkochovy dobytka a plošné zdroje z nadměrného hnojení zemědělských půd (MKOL, 2009). Tento problém bylo nezbytné řešit. V návaznosti na Směrnici Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES ze dne 23. října 2000, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky, a která mimo jiné podporuje mezinárodní spolupráci v oblasti vod, dohodly se státy zasahující svým územím do povodí Labe (Česká republika, Německo, Polsko a Rakousko) na zpracování Mezinárodního plánu oblasti povodí Labe. Tento plán se skládá ze společně zpracované části A se souhrnnými informacemi na mezinárodní úrovni a z částí B, tj. plánů, které zpracovaly jednotlivé státy na národní úrovni. Obsahem je navrhnout environmentální cíle a opatření k jejich dosažení na základě zjištěného stavu vod. Státy se dohodly, že budou požadavky směrnice naplňovat v rámci Mezinárodní komise pro ochranu Labe (MKOL) prostřednictvím mezinárodní koordinační skupiny ICG (International coordinating group). Díky této spolupráci se podařilo dosáhnout výrazného poklesu zatížení vod průmyslovými a městskými odpadními vodami a zlepšení ekologických podmínek pro život vodních společenstev. Na základě Mezinárodního plánu oblasti povodí Labe byl určen zátěžový vliv jako významný tehdy, když vodní útvar nedosáhne „dobrého stavu“ a z této skutečnosti vzejde požadavek na realizaci adresných opatření. Nynějšími hlavními zátěžovými vlivy jsou následky hydro-morfologických úprav, regulace odtoku a znečištění z plošných zdrojů. Stěžejní význam mají také bodové zdroje znečištění a odběry vody, další zdroje zátěžových vlivů mají druhořadý význam. Normy environmentální kvality jsou považovány za dodržené, pokud roční průměry naměřených koncentrací znečišťujících látek nepřekročí na měrných profilech hodnoty norem environmentální kvality (MKOL, 2009). Stav se znázorňuje ve dvou třídách „dobrý“ (kartografické znázornění modrou barvou) a „nedosažení dobrého stavu“

(kartografické znázornění červenou barvou). Informaci o hlavních místech znečištění můžete vidět na obrázku 2.



Tab. 1, Legenda znečišťujících látek k obr. 2 (MKOL, 2009)

Obr. 2, Hodnocení chemického stavu toku Labe (MKOL 2009)

Normy enviromentální kvality byly nejčastěji překročeny pro hodnoty pesticidů a polyaromatických uhlovodíků, dále pak u těžkých kovů, dusičnanů a průmyslových chemikálií. Ze 29 vodních útvarů zkoumaných po celé délce Labe (v ČR i Německu) byly normy enviromentální kvality překročeny v 19 útvarech šestnácti znečišťujícími látkami (z toho 13 se objevilo v ČR). Jedná se o následující látky

(čísla látek – viz. tab. 1): **4** (1), **6** (11), **9b-2** (1), **10** (2), **11** (1), **15** (2), **16** (1), **20** (6), **21** (10), **22** (1), **23** (6), **28-1** (4), **28-3** (11), **29b** (1), **31**(1) a **32** (1), počet dotčených vodních útvarů toku Labe je uveden v závorce. K překročení stanovených koncentrací dochází se zvlášť velkou četností u znečišťující látky č. 6 (kadmium) v 11 vodních útvarech a u látky č. 21 (rtuť) v 10 vodních útvarech, přičemž všechny tyto vodní útvary se nacházejí na českém úseku Labe. Zvlášť silně postižen je vodní útvar č. 15, kde jsou normy environmentální kvality překročeny pro 10 znečišťujících látek (MKOL, 2009).

Významné průmyslové oblasti na Labi, které přispívají k jeho znečišťování na území České republiky, jsou v:

- chemickém průmyslu: Pardubice-Semtín, Ústí nad Labem, Neratovice, Litvínov a Lovosice
- papírenském průmyslu: Štětí
- kovo zpracující průmysl: Mladá Boleslav

Uhynulí jedinci byli nalezeni v úseku Labe 18 a 19, znázorněných na obr. 2, oblast tudíž vykazuje zvýšené koncentrace kadmia. Z přílohy hydrologické ročenky České republiky (Černý et al., 2015) jsem ale vyčetla, že ačkoli jsou na některých úsecích Labe zvýšené koncentrace kadmia, po celé délce se řadí v jeho obsahu do jakostní třídy II podle Normy ČSN 75 7221.

3.8.2 Dyje a Morava

Řeka Dyje spadá svou správou pod Státní podnik Povodí Moravy závod Dyje a je pravostranným přítokem řeky Moravy čerpala jsem proto z informací hodnotících celé povodí řeky Moravy. Koncentrace těžkých kovů mají v povodí řeky Moravy spíše lokální charakter a celková kvalita toku se dá považovat za dobrou. Téměř 95 % hodnocených obsahů kovů odpovídá I. a II. třídě jakosti. Zvýšená koncentrace v některých místech je spojena převážně s vypouštěním odpadních vod nebo je způsobena geologickými podmínkami oblastí. Při některých, zejména nárazových znečištěních, je obtížné zjistit jejich příčinu. Dlouhodobě jsou v povodí řeky Moravy z hlediska kvality vody nejhůře hodnoceny toky Trkmanka, Litava (Cézava), Spálený

potok a Daniž, a to prakticky po celé jejich délce. Jedná se o málo vodné, silně regulované toky, výrazně zatížené komunálním, průmyslovým a plošným znečištěním, s povodím postiženým erozí a minimálním zastoupením lesních ploch. Lokální problémy jsou ale zaznamenávány i na jiných tocích. Je nezbytné uvést, že v České republice, ohledně obsahu kovů v povrchových vodách, není doposud dořešena otázka stanovení přirozených pozadí a nelze proto v řadě případů určit příčiny zvýšených koncentrací, což přináší řadu problémů, zejména při plánování v oblasti vod. Co se týče těžkých kovů, obsah olova, kadmia, chromu a zinku je vyhovující ve všech profilech. U kadmia byl v roce 2014 nejhůře hodnocen Jedlovský přivaděč – Ústí, který byl zařazen do III. třídy jakosti. Příčinou jsou čistírenské kaly, které byly okolo 90. let 20. století aplikovány na přilehlá pole jako hnojivo. Srážky a tání sněhové pokrývky spolu přinášejí vyplavování kadmia z půdního horizontu a tím zatěžování povrchových vod. Ostatní profily jsou ale řazeny do I. a II. třídy jakosti. Nejvyšší koncentrace olova byla zaznamenána na řece Svratce a Trkmance, které se dostaly na III. třídu jakosti. V Litavě (Cézavě), kde je zatížení olovem dlouhodobý problém, došlo ke snížení jakosti povrchové vody za II. na III. třídu. Na řadě profilů jsou naměřené koncentrace vysoce rozkolísané, z čehož je možné usoudit, že znečištění buď pochází z bodových zdrojů (které však nejsou známy) nebo proběhla nějaká srážková epizoda, při které došlo k vyplavení z povodí (proto by bylo vhodné zvážit i přirozené pozadí). Co se týče koncentrace arsenu, 78 % profilů se řadí do II. třídy jakosti a 22 % dokonce do I. třídy jakosti, výjimku tvoří pouze silně zatížený Široký potok, u něhož je zdrojem znečištění odkaliště popílku z teplárny Otrokovice. Tento tok ústí do Moravy, kde se díky zředění dostává As na vyhovující úroveň. Zinek je na 99 % profilů v I. a II. třídě jakosti (Procházková et al., 2014). Tabulka 2 zobrazuje zařazení měřených těžkých kovů do tříd jakosti mezi roky 2012 – 2013 a 2013 – 2014.

	Počet hodnocených profilů		I. třída		II. třída		III. třída		IV. třída		V. třída	
	2012-13	2013-14	2012-13	2013-14	2012-13	2013-14	2012-13	2013-14	2012-13	2013-14	2012-13	2013-14
Cd - kadmium	279	285	241	251	37	33	1	1	0	0	0	0
Pb - olovo	280	286	241	249	37	35	2	2	0	0	0	0
Cu - měď	277	282	82	66	194	215	1	1	0	0	0	0
Ni - nikl	281	286	193	226	85	59	2	0	1	0	0	1
Cr celk – celkový chrom	280	286	274	282	6	4	0	0	0	0	0	0
Hg - rtuť	103	68	72	39	29	26	2	3	0	0	0	0
As - arsen	280	285	37	63	241	221	1	0	1	1	0	0
Zn - zinek	275	280	184	209	83	68	8	3	0	0	0	0

Tab. 2, Kovy hodnocené dle ČSN 75 7221 ve dvouletí 2012–2013 a 2013–2014, porovnání – počet profilů (Procházková et al., 2014)

3.8.3 Horní Vltava

Zkoumaní bobří pocházeli z oblasti horního toku Vltavy, který je vymezen od pramenů až po vodní nádrž Orlík, z toho důvodu jsem čerpala informace pouze o znečištění tohoto úseku, nikoli o kontaminaci dolního toku Vltavy (od Orlíku k soutoku s Labem). Koncentrace znečišťujících látek byly měřeny na 14 profilech. Po délce toku lze u jednotlivých ukazatelů jakosti vody sledovat dílčí odlišnosti, převažuje však průběh s mírným nárůstem znečištění pod Českými Budějovicemi a výraznějším za soutokem Vltavy a Lužnice. Zjištěná jakost horní Vltavy se řadila ve 40 % k I. třídě, ve 39 % k II. třídě, ve 20 % k III. třídě a 1 % k IV. třídě jakosti, V. třída jakosti povrchových vod nebyla zjištěna. Nejnižší znečištění vykazují ukazatelé dusičnanový a amoniakální dusík (průměrná třída jakosti ve všech sledovaných profilech je 1,1), nejvyšší pak CHSKCr (průměrná třída 2,8). Normy environmentálních kvalit jsou dodrženy u všech profilů v ukazatelích BSK5, dusičnanový a amoniakální dusík a celkový fosfor, z 93 % u CHSKCr. Průměrná třída jakosti vody horní Vltavy v pěti základních ukazatelích je 1,8 a jejich Normy environmentálních kvalit jsou splněny v 99 % případů (Balejová & Soukupová, 2015). Co se týče těžkých kovů, kadmium se nachází mezi I. a II. třídou jakosti, takže výrazné znečištění nebylo zaznamenáno. Měď je řazena na většině úseků toku k II. třídě jakosti, stejně jako olovo a zinek (Černý et al., 2015). Vltava slouží rovněž jako recipient odpadních vod z jaderné elektrárny Temelín, proto je nezbytné

monitorovat ve vodním toku ukazatele radioaktivity, jedná se zejména o tritium. Odpadní látky z elektrárny jsou vypouštěny do vodní nádrže Kořensko, tudíž zvýšené koncentrace tritia jsou zaznamenávány v úseku toku za touto nádrží, jedná se průměrně o $60,25 \text{ Bq.l}^{-1}$ a maximálně 748 Bq.l^{-1} . V dalších úsecích vodního toku až po ústí do Labe koncentrace tritia výrazně klesají (průměry $25,0$ až $10,7 \text{ Bq.l}^{-1}$, maxima $59,4$ až $29,2 \text{ Bq.l}^{-1}$). Hodnoty jsou v obou případech pod limitní hranicí nařízení vlády č. 61/2003 Sb., která stanovuje jako průměrné znečištění 700 Bq.l^{-1} a maximum 3500 Bq.l^{-1} . Hodnoty naměřené na Vltavě tedy vesměs odpovídají II. třídě jakosti vody (Balejová & Soukupová, 2015).

Vysvětlivky ke zkoumaným parametrům (Volaufová, 2008):

BSK5 – biochemická spotřeba kyslíku za pět dní – parametr kvality vody, který určuje míru organického (biologicky odbouratelného) znečištění. Stanovení BSK slouží k nepřímému stanovení organických látek, které podléhají biochemickému rozkladu, při aerobních podmínkách.

CHSKcr – chemická spotřeba kyslíku – parametr kvality vody určující míru organického (chemicky oxidovatelného) znečištění.

3.9 Potravní ekologie bobra evropského

Co se týče potravních návyků, řadí se bobr evropský k výhradním herbivorům (Dvorak, 2013), které je možné rozdělit na dvě základní skupiny, generalisty a specialisty, podle prostředí ve kterém žijí a potravní nabídky v jejich okolí. Generalisté konzumují neoptimálněji dostupné potravinové zdroje v závislosti na rovnici výdej energie/příjem energie a složení jejich jídelníčku se významně liší mezi jednotlivým geografickými oblastmi. Specialisté jsou naopak zaměřeni na jeden druh potravy, který zůstává stejný i v odlišných prostředích (Vorel et al., 2015). Popsány byly i případy, kdy generalisté přešli na jeden druh potravy, pokud byla v jejich okolí zastoupena v hojné početnosti a poskytovala jim dostatečné množství energie. S rostoucím tlakem na tento zdroj ovšem začalo být opět výhodnější rozšířit příjem potravy na více druhů. Tento jev byl popsán u některých druhů jako sezónní záležitost (Green & Flinders, 1980) a u jiných také jako individualita některých jedinců (Woo et al., 2008). Na základě tohoto rozdělení je bobr zařazován do skupiny s generalistickými nároky na potravu. Co se týče jeho jídelníčku, bylo zaznamenáno 149 druhů bylin a 86 druhů dřevin, které mu slouží jako potrava, tento výběr je však zúžen na 35 hlavních rostlin. Nejvíce preferovanými druhy jsou pro

bobra vrby a topoly (Dvorak, 2013; Vorel et al., 2015), mezi další často konzumované dřeviny patří druhy měkkých a tvrdých luhů - olše, jasany, javory, břízy, duby (AOPK, ČZU & MŽP, 2013). V některých pracech bylo dokumentováno, že největší druhová rozmanitost v potravě je na přelomu září a října. Během roku se kromě dřevin bobr živí také řadou bylin a vodních rostlin. Nejvíce stromů je káceno na koci vegetačního období, od října do prosince, kdy si bobr dělá zásoby na zimu (AOPK, ČZU & MŽP, 2013). Mezi méně konzumované druhy patří například jeřáb (*Sorbus* spp.), hloh (*Crataegus* spp.) a *Prunus*, které jsou ale bobry pozitivně selektivně vybírány a tak naznačují, že rozšiřuje svůj jídelníček kvůli potřebě specifických živin a stopových prvků (Vorel et al., 2015). Velmi zřídka byla dokonce zaznamenána konzumace kůry jehličnatých stromů (AOPK, ČZU & MŽP, 2013).

Ačkoli existuje řada prací, zabývajících se potravou bobra během roku, roční změny v konzumaci dřevní a bylinné stravy, stejně tak jako její množství, nejsou doposud velmi dobře zmapovány. Ve srovnání s ostatními býložravci je obtížné získat data o potravní ekologii bobrů vzhledem k převážně noční aktivitě (problém s přímým pozorováním), rozsáhlé ochraně (není možné získat dostatečný počet žaludečních vzorků) a kálení do vody (nemožnost zachytit trus). Krojerová–Prokešová et al. (2010) zkoumali velmi podrobně kvalitativní a kvantitativní zastoupení bobří potravy během roku, vyjma zimního období, aby zvířata zachycená v pasti netrpěla mrazem. K determinaci potravních složek byl využit trus polapených jedinců, získaný vytlačení z análního otvoru, který byl následně podroben mikro- a makro-histologickému rozboru. Makro-frakce byla charakterizována rozměrem částic, které nepropadly sítem o velikosti ok 0,3 mm, zbytek byl určen jako mikro-frakce. Obě skupiny byly diferenciovány na osm složek potravy (listnaté stromy, byliny, trávy, cereálie, ovoce, kapradiny, mechy a nerozeznatelný materiál) a vzájemně porovnávány. Největší zastoupení potravy tvořily listnaté stromy, byliny a trávy. Ovoce, kapradiny, mechy a kukuřice tvořily pouze malé množství jídelníčku. Složení potravy se prokazatelně lišilo mezi ročními obdobími v množství zkonsumovaných listnatých stromů a bylin (v obou frakcích), v objemu mechů (u mikro-frakce) a trav (u makro-frakce). Na jaře byly hlavní složkou potravy listnaté stromy bez ohledu na prostředí nebo typ frakce, množství zkonsumovaných trav se

lišilo v průběhu roku pouze u makro-částek a nejvyšší bylo během léta, i když stále zanedbatelné oproti ostatním složkám. Ačkoli v trusu nebylo zaznamenáno podstatné množství vodních rostlin, v jiných studiích formovaly společně se suchozemskými bylinami až 90 % objemu zkonsumované stravy během letního období (Simonsen, 1973), tento trend byl pozorován i u bobra kanadského (*Castor canadensis*) geneticky příbuzného bobru evropskému (Svendsen, 1980). Bobří jídelníček se tedy liší zejména na základě potravní nabídky, pokud výzkum probíhá ve stojatých vodách, složení vegetace se velmi liší od tekoucích řek a zastoupení vodních rostlin v potravě stoupá (Breck et al., 2003).

Některé práce uvádějí, že bobří mohou způsobit škody na zemědělských pozemcích v okolí vodních toků, nicméně bobří za potravou zřídka kdy cestují na vzdálenosti delší než 460 m od vody (Donkor & Fryxell, 1999). Podle Nolet & Rosell (1998), pás o šířce 20 m s přirozenou vegetací podél břehů, by měl stačit jako prevence konzumace zemědělských plodin za tímto pásmem. Data ze studie od Krojerové-Prokešové et al. (2010) tento předpoklad potvrzují s absolutním minimem nalezených zbytků kukuřice v bobřích výkalech, ačkoli kukuřičná pole byla často v blízkosti bobřího osídlení (10 – 150 m od břehu řeky).

Vorel et al. (2015) zkoumal výběr potravy bobra evropského v rozdílných biotopech s rozmanitým druhovým zastoupením během zimního období. Vzhledem k zanedbatelnému množství konzumovaných bylin a vodních rostlin během zimy, byl výzkum prováděn pouze na dřevní vegetaci. Předpokládalo se, že bobří patří mezi oportunistické býložravce a živí se nejpočetněji zastoupenými rostlinnými druhy ve svém prostředí. Tato hypotéza však nebyla potvrzena, neboť ve všech zkoumaných oblastech dominovaly v konzumované potravě pouze dva druhy dřevin, a sice vrby (*Salix*) a topoly (*Populus*). Studie tedy potvrzuje dříve zmíněnou domněnku, že bobří se mohou během přezimování soustředit na omezený druh potravy.

3.10 Těžké kovy ve vegetaci a rozložení v jejích částech

Jak již bylo nastíněno výše, fakt, že se bobří zaměřují na rod *Saliceae* (topoly a vrby), může mít významný vliv na příjem těžkých kovů bobřími populacemi. V některých studiích bylo zjištěno, že se koncentrace Cd a Zn v listech během roku mění. Obecně je relativně vysoká na začátku vegetačního období, kdy rostlina potřebuje pro svůj vývoj načerpat z půdy velké množství živin. Minimální hodnoty pro většinu prvků byly zaznamenány během následujícího období intenzivního růstu, které ředí jejich koncentraci až do období kvetení. V konečné fázi sezóny, kdy listy začínají pomalu opadávat, koncentrace kovů v listech opět roste kvůli ztrátě tekutin a je nejvyšší za celé vegetační období. Okolní prostředí v podobě prachu ve vzduchu a atmosférické depozice taktéž ovlivňuje koncentraci těžkých kovů v listech stromů, akumulace u starších listů pak probíhá déle a tím pádem přispívá k vyšším koncentracím Cd (Migeon et al., 2009). Perioda defoliace je ovšem čas, kdy si bobr začíná dělat zásoby na zimu a může tak být vystaven relativně vysokým hodnotám kadmia. Ve studii Laureysens et al. (2004) bylo zjištěno, že stejně vysoký obsah kadmia jako je ve stárnoucích listech topolů, je také v kůře stromů, kterou bobr sloupává a slouží mu rovněž jako potrava. Naproti tomu koncentrace kadmia ve dřevě topolů byla průměrně třikrát nižší než koncentrace v kůře a obsah zinku byl ve dřevě nižší až šestkrát, ve srovnání s borkou a listy. Laureysens et al. (2004) rovněž ukázali, že schopnost různých klonů vrb se v kumulaci kadmia v kůře a ve dřevě velice liší. Ve studii Robinson et al. (2006) byl zaznamenán 12-ti násobný rozdíl v nejnižší a nejvyšší koncentraci kadmia v listech u příbuzných dřevin rostoucích v identickém prostředí. Bylo však dokázáno, že koncentrace Zn v kůře během vegetační sezóny roste a je vyšší během listopadu oproti srpnu. Jeho obsah dokonce dosáhl toxických hodnot v listech, ale korelace mezi množstvím zinku a ubýváním biomasy nebyla zjištěna, což znamená, že topoly buď mohou akumulovat velké množství zinku, aniž by to vyvolalo negativní efekt na produkci biomasy nebo, že je přichycen především k listovému povrchu (Laureysens et al., 2004). Zinek a kadmium jak již bylo zmíněno dříve v textu, mají některé podobné vlastnosti a při akumulaci v rostlinách spolu korelují. Výhodou je, že zinek částečně zabraňuje příjmu Cd rostlinou, pokud je půda o tento kov dostatečně obohacena. Jinými slovy, čím je v půdě Zn méně, tím více rostlina čerpá Cd. Někteří autoři také doporučují

jako ochranný efekt proti příjmu kadmia dostatek hořčíku (Mg) v substrátu. Zinek i hořčík jsou navíc prvky esenciální, které živé organismy potřebují pro svou výživu (Stoycho et al., 2003).

Ve studii Robinson et al. (2005) jsou vrby a topoly považovány za slibný zdroj potravy pro domácí zvířata v období sucha, právě díky schopnosti čerpat z půdy vysoké obsahy Zn. Vzhledem ke svému hlubokému kořenovému systému mohou proniknout do spodních vrstev půdy a vytáhnout potřebné prvky z míst, kam by se jiné dřeviny nedostaly. V oblasti Severního ostrova na Novém Zélandu, kde je na většině pastvin kromě nedostatku zinku také nouze o potřebný kobalt, mohou vrby a topoly pomoci přivést tyto prvky do potravních řetězců. Obsahují rovněž velké množství bílkovin a zjistil se u nich blahodárny vliv na plodnost hospodářských zvířat. Díky velkému množství genotypů těchto dřevin existuje předpoklad, že bude v budoucnu možné vyšlechtit klony s vysokým příjmem Zn a např. Co z půdy, ale omezeným příjmem Cd. Migeon et al. (2009) zkoumali 25 druhů dřevin v jejich schopnosti přijímat kadmium z půdy. Patřilo k nim velké množství dřevin preferovaných bobry. Kromě vrb (*Salix alba*, *Salix caprea* a *Salix purpurea*) a topolů (*P. deltoides* × *Populus nigra*, *Populus tremula* × *Populus alba*, *P. tremula* × *Populus tremuloides*, *P. trichocarpa* × *P. deltoides*) byly zkoumány také *Acer campestre*, *Acer pseudoplatanu*, *Alnus glutinosa*, *Betula pendula*, *Fraxinus excelsior*, *Prunus avium*, *Quercus robur* a další. Práce byla unikátní v tom, že porovnávala najednou velké množství druhů, co se týče jejich vztahu ke kadmium a jiným prvkům. Stejně jako v předchozích studiích i v této byla nejvyšší akumulace Cd a Zn zaznamenána ve dřevinách rodu *Salicaceae* s až 950 mg.kg⁻¹ Zn suché váhy a 44 mg.kg⁻¹ Cd suché váhy v listech hybridního topolu osiky *Populus tremula* × *Populus tremuloides*. Ve studii Laureysens et al. (2004) byla porovnáována dostupnost některých kovů v půdě a jejich koncentrace v topolech. Na základě těchto dat se ukázalo, že Cd, Zn a Cu jsou velice snadno tímto druhem absorbovány. Dostupnost prvků v substrátu pro rostliny měla tuto podobu: Fe > Al > Cd > Cu > Ni > Mn > As > Zn > Co > Cr > Pb, když však byla koncentrace prvků v rostlinách podělena dostupností prvků, došlo se k následující rovnici: Cd > Zn > Cu > Mn > Co > Ni > Pb > Cr > Fe > Al. Pořadí se drobně lišilo mezi listy, kůrou a dřevem, ale ne nijak významně a klonové rozdíly nebyly v tomto případě zaznamenány. Po shromáždění informací z dostupné

literatury by se dalo shrnout, že ačkoli topoly i vrby, druhy vysoce preferované bobřími populacemi, mají rozdílné vlastnosti mezi jednotlivými klony, jejich schopnost čerpat kadmium a jiné těžké kovy z půdy je obecně velmi vysoká. Bobři a jiní herbivoři jsou tak potenciálně ohroženi vysokými dávkami kadmia z potravy. Negativní účinky na jejich populace je nezbytné nadále zkoumat, aby mohla být stanovena nebezpečná hranice koncentrace způsobující zdravotní nebo i jiné problémy. Je rovněž nezbytné odhalit jednoduchou neinvazivní metodu, která by zpřístupnila větší množství informací o kontaminaci populací a oblastí, ve kterých se vyskytují.

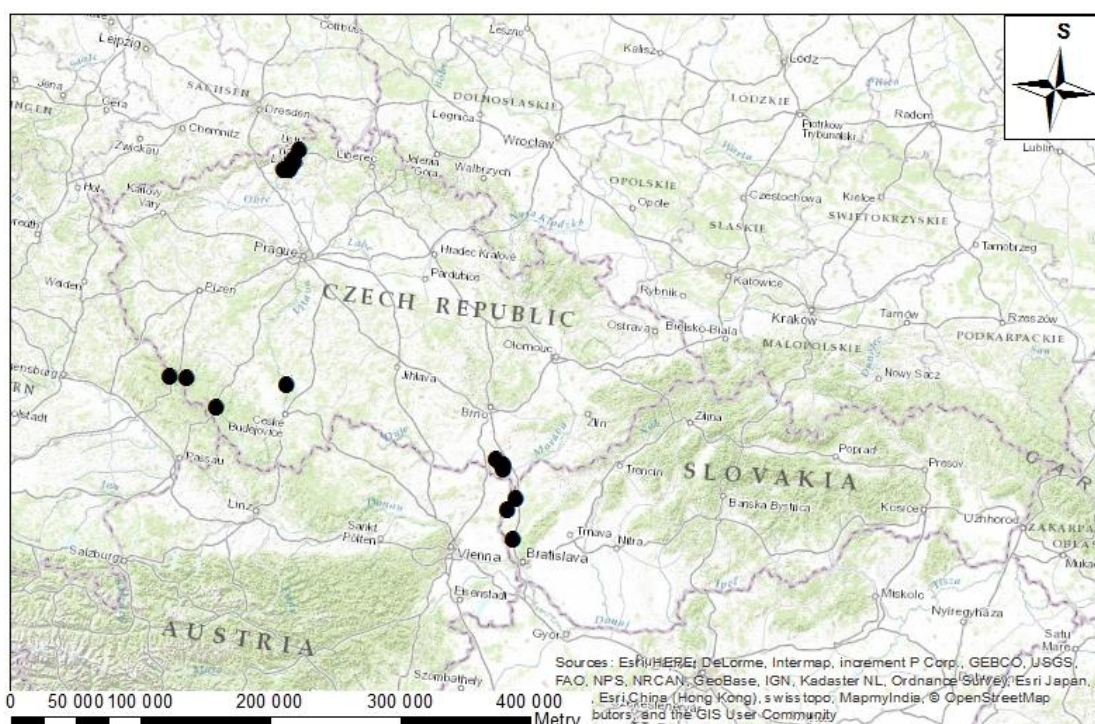
4. METODIKA

Cílem mé práce bylo zjistit obsah kadmia v orgánech, svalech a chlupech 19 nalezených uhynulých bobřích jedinců mezi léty 2008 – 2015 ve třech oblastech na území České republiky a jedné oblasti zasahující na Slovensko. Obsah kadmia v orgánech, tkáních a chlupech bobřů byl sledován ve vazbě na kontaminaci jejich potravy kadmiiem. Laboratorní práce jsem prováděla s pomocí paní Ing. Jany Kortanové a se sběrem vegetace nám pomáhal pan Ing. Aleš Vorel, CSc.

4.1 Sběr materiálu

4.1.1 Bobři

Uhynulí bobří jedinci byli nalezeni u Labe (Svádov, Malé Březno, Nebočady, Bílina, Malšovice), na Šumavě (Lenora – elektrárna, Lenora, Křemelná, Račí potok, Železná Ruda, Hněvkovice), na jižní Moravě v nivě řeky Dyje (okolí Lednice – zahradnictví Lednice, lednický park, Křivé jezero, autokemp Apollo u Břeclavi, Pastvisko u Lednice) a Slovensku (Moravský Svätý Ján, Zohor, Velké Leváre). Z oblasti Labe bylo analyzováno sedm uhynulých bobřů, ze Šumavy čtyři, z nivy řeky Dyje pět a z oblasti Slovenska tři. Přesné souřadnice nalezených jedinců v souřadnicovém systému WGS84 jsou uvedeny tab. č. 5 v kapitole výsledků 4.1 a zobrazeny na mapě (Obr. 3; černé tečky).



Obr. 3, Mapa nalezených uhynulých bobřích jedinců (vlastní)

Uhynulí bobří byli nejčastěji nalezeni při práci v terénu zaměstnanci České zemědělské univerzity (ČZU) nebo orgány ochrany přírody (Národní park Šumava, obecní úřad v Týnu nad Vltavou), dále pracovníky CHKO České Středohoří, CHKO Labské pískovce, ZOO ústí nad Labem a také s přispěním veřejnosti. Kadávery byly ihned po převozu na Českou zemědělskou univerzitu v Praze pitvány (popřípadě zmrazeny a posléze pitvány) a všem jedincům byla odebrána játra, ledviny, plíce, srdce, svalovina a srst. Vzorky byly do provedení analýzy uskladněny v 96 % lihu, zmrazené při teplotě -21 °C na Fakultě životního prostředí (FŽP), katedře ekologie ČZU.

4.1.2 Vegetace

Sběr vegetace probíhal v místech nalezení uhynulých jedinců. Rostliny se vybíraly na základě monitoringu potravních zvyklostí, typických pro oblast a procentuálního zastoupení různých dřevin a bylin na lokalitě (Vlachová, 2001; Krojerová-Prokešová et al., 2010; Vorel et al., 2015). Přibližné složení jednoho vzorku znázorňuje tabulka č. 3.

ZASTOUPENÍ DŘEVIN A BYLIN VE VZORKU (%)					průměr dřeviny	konečné podíly složek (%)
sběr	67	dřeviny	33,5	kůra	do 5 cm	16,75
					nad 5cm	16,75
			33,5	listy	do 5 cm	16,75
					nad 5cm	16,75
	33	byliny				33
kontrola						100

Tab. 3, Zastoupení dřevin a bylin ve vzorku (%) (vlastní)

V každé oblasti bylo sebráno 4 až 5 na sobě nezávislých vzorků vegetace a celkový sběr vážil přibližně 1 kg. Na závěr se všechny vzorky z jedné oblasti promíchaly a tvořily tak jeden směsný materiál.

4.1.2.1 Druhy dřevin

Pro každý preferovaný druh stromu bylo určeno minimální množství v procentech, které musí být ve vzorku obsaženo (viz. Tab. 4).

Zastoupení druhu ve vzorku dřevin (%)			
Druh dřeviny	Jižní Morava a Slovensko	Šumava	Labe
<i>Betula</i> spp.		13,07	
<i>Fraxinus</i> spp.	7,1		
<i>Populus</i> spp.	32,33	57,05	16,27
<i>Salix</i> spp.	46,8	26,25	78,14
součet	86,23	96,37	94,41

Tab. 4, Zastoupení druhu ve vzorku dřevin (%)

Zbývající druhy dřevin do 100 %, jejichž zastoupení v potravě bobra tvoří přibližně 5 %, jsou:

Jižní Morava a Slovensko: *Acer* spp., *Prunus* spp., *Ulmus* spp., *Quercus* spp., *Crataegus* spp., *Carpinus* spp., *Alnus* spp., *Tilia* spp., *Prunus* spp. a další

Labe: *Corylus* spp., *Ulmus* spp., *Acer* spp., *Alnus* spp. a *Prunus* spp.

Šumava: *Alnus* spp., *Acer* spp., *Picea* spp., *Pinus* spp., *Sorbus* spp., *Prunus* spp.

Odběr vzorků se prováděl podél břehové linie, v případech, kdy to bylo možné, se dřeviny odebíraly v nejbližší vzdálenosti od břehu.

4.1.2.2 Druhy a složení bylin

Byliny se vybíraly rovněž na základě potravní preference a druhového složení na lokalitě, jejich zastoupení tvořilo v každém vzorku přibližně 33 %. Druhové složení jednotlivých oblastí jsou:

Jižní Morava a Slovensko: *Phragmites australis*, *Rubus* spp., *Carex* spp., *Litrum Salicaria*, *Poa* spp., *Lysimachia* spp., *Convolvulus* spp., *Typha* spp.

Labe: *Butomus umbellatus*, *Rorippa amphibia*, *Helianthus tuberosus*, *Impatiens glandulifera*, *Juncus* spp., *Phragmites australis*, *Typha latifolia*, *Reynutria japonica*, *Bidens tripartita*, *Lysimachia vulgaris*, *Lythrum salicaria*,

Šumava: : *Butomus umbellatus*, *Juncus efusus*, *Filipendula ulmaria*, *Carex* spp, *Rubus* spp.

4.1.2.3 Mechanický odběr a skladování materiálu

Byliny se uřízly srpem na co nejspodnějším místě rostliny a kůra stromů se sloupala pomocí nože v místech, kde by bobři nejspíše hlodali. Ze stromů se ořezávaly také větvičky s listy. Mezi odebranou vegetací se nezařadily juvenilní topoly, kterým se na dlouhodobě osídlených lokalitách bobři vyhýbají kvůli tvorbě sekundárních metabolitů. Na tento trend bylo poukázáno např. ve člancích Basey et al. (1988) a (1990), ve kterých bylo zjištěno, že topol osika (*Populus tremuloides*) se pravděpodobně brání okusu, tím, že mladé stromky na dlouho obývaných lokalitách a nové výhonky rostoucí z kořenů starých stromů, obsahují v kůře vyšší procento sekundárních metabolitů, které jsou pro bobry nevábnivé. Sebrané vzorky se musely ihned převézt na místo, kde se sušily a obracely, aby nezplesnivěly. Materiál byl po usušení rozlámán na částice o délce 2 – 3 cm a po té bylo z každé oblasti náhodně vybráno pět vzorků ve třech opakováních o hmotnostech kolem 500 mg.

4.2 Příprava vzorků k analýze

4.2.1 Orgány a svaly

Nejprve bylo potřeba materiál lyofilizovat, k čemuž byl použit přístroj LYOVAC GT 2/GT 2-E, v němž se vzorky sušily po dobu 100 hodin. Lyofilizaci provedl pan Ing. Vladimír Pivec, CSc. na katedře chemie, Fakultě agrobiologie a potravinářských zdrojů ČZU. Takto zpracované vzorky se ručně homogenizovaly nejprve nasekáním keramickým nožem na drobnější kousky a dále se rozměnily pomocí porcelánové třecí misky s tloučkem. Materiál se dále odvažoval na laboratorních vahách na

přibližnou hmotnost 100 mg. Každý vzorek byl připraven ve třech opakováních, aby se předešlo možným chybám při měření. Dalším krokem k analýze těžkých kovů byl mikrovlnný rozklad materiálu za použití 65 % kyseliny dusičné (HNO_3), čistoty suprapur. Do vialek s naváženými vzorky se přidalo pipetou 5 ml zmíněné kyseliny. Vialky se uzavřely tlakovými víčky a umístily do přístroje CEM SP-D Plus Discovery, kde byly při teplotě 180 °C a tlaku 27,6 barů (2 760 kPa) rozkládány. Součástí pokusu byly také slepé vzorky (zkumavky naplněné deionizovanou vodou), ze kterých se posléze zjišťuje obsah nečistot, jež se následně odečte od naměřených hodnot ostatních vzorků. Jako referenční materiál pro kontrolu dat získaných analýzou byla použita hovězí játra BCR-185R. Rozklad byl prováděn v laboratoři environmentální chemie na Fakultě životního prostředí ČZU a přístroj obsluhovala paní Ing. Jana Tremlová.

Po ukončení mikrovlnného rozkladu se do vialek s rozloženými vzorky přidal 1 ml peroxidu (H_2O_2) po dobu přibližně osmi hodin, do ukončení reakce směsi. V další fázi se vzorek naředil deionizovanou vodou na objem 25 ml.

4.2.2 Srst

Vzorky chlupů bylo nejprve potřeba zbavit všech nežádoucích nečistot, zbytků tkání, popřípadě krve. V první fázi byl materiál promyt v petroletheru, kdy se do každé nádoby se vzorkem nalilo 15 ml, a umístily se do laboratorní třepačky, kde se promývaly po dobu 20 minut při rychlosti 250 otáček za minutu. Postup se pro důkladné pročištění opakoval celkem třikrát za sebou. V dalším kroku se chlupy umístily do laboratorní sušárny, kde při teplotě 60 °C vysychaly po dobu 100 minut. Bylo žádoucí, aby byly chlupy absolutně suché a petrolether ve vzorcích nezůstal. Další promývání probíhalo opět třikrát za sebou, ve 20 ml deionizované vody, stejným postupem jako v případě čištění petroletherem. Výjimku tvořily chlupy, u kterých ani po třetím promytí ve třepačce nezůstala voda čirá. Takové vzorky se protřepaly celkem 6krát, dokud nebylo medium úplně čisté. Po promytí se vzorky vložily opět do sušárny, kde schly po dobu 110 minut při teplotě 130 °C. Pokud byly některé vzorky stále vlhké, nechaly se v sušárně déle.

Takto připravený materiál byl nastříhán nůžkami z nerezové oceli na kousky o velikosti 2 – 3 mm pro snadnější rozklad. Chlupy byly dále váženy na hmotnost 200 mg ve třech opakováních. Vzorky srsti na rozdíl od orgánů a svaloviny nebyly podrobeny mikrovlnnému rozkladu, ale byly po napipetování 5 ml kyseliny dusičné (čistoty suprapur) položeny na topnou desku HARRY GESTIGKEIT řada HD, kde se rozkládaly během 12 hodin při teplotě 180 °C. Když byl materiál zcela rozložen (většinou se ponechal k rozkladu přes noc), chladi a po té se do něho napipetoval 1 ml peroxidu. Stejně jako v případě orgánů a svaloviny se směs nechala reagovat a přibližně po dalších osmi hodinách byla připravena k ředění na 25 ml deionizovanou vodou.

Veškeré práce ohledně přípravy vzorků, kromě jejich rozkladu, byly prováděny v laboratoři environmentální geochemie na Fakultě životního prostředí ČZU, za využití zdejších laboratorních pomůcek a přístrojů. Vedoucí laboratoře paní Ing. Marie Králová nám byla velice nápomocná, co se týkalo správného použití přístrojů a poskytování odborných rad.

4.2.3 Vegetace

Vybrané vzorky se rozmělnily pomocí nožového mlýnu GRINDOMIX GM 200 na homogenní materiál a navázily na hmotnost 350 – 400 mg do teflonových mineralizačních nádobek DAP-60S. Byly k nim přidány 2 ml kyseliny dusičné 65 %, p.a. ISO (Merck) a 3 ml H₂O₂ 30 %, TraceSelect (Fluka). Směs se pečlivě promíchala a nádoby byly po 24 hodinách uzavřeny a ohřívány v mikrovlnné peci MWS-3+ (Berghof Products + Instruments, Německo). Rozklad probíhal 45 minut v rozmezí teplot 100 – 190 °C. Získané mineralizáty byly převedeny do 50 ml kádinek a odpařeny na topné desce (Altec, ČR) do vlhkého zbytku, ke kterému byl poté přidáno cca 5 ml 1,5 % kyseliny dusičné a obsah se rozpouštěl v ultrazvukové lázni. Poté byly mineralizáty kvantitativně převedeny do zkumavek a doplněny 1,5 % HNO₃ na objem 18 ml.

Kvalita analytických dat byla prověřena souběžnou analýzou certifikovaného referenčního materiálu CRM Wheat Flour 1567a ve 4 % ze všech vzorků. Výsledky získané pro referenční materiál byly v intervalu spolehlivosti udaném pro CRM.

Úroveň pozadí laboratoře byla monitorována zařazením slepých vzorků (8 % z celkového počtu). S rozkladem rostlinného materiálu, který byl uskutečněn v laboratoři chemie na Fakultě agrobiologie, přírodních a potravinových zdrojů, nám pomohla paní Ing. Daniela Miholová, CSc.

4.3 Analýza vzorků

Vzorky byly analyzovány metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-OES (720 Series, Agilent Technologies, USA) v laboratoři environmentální geochemie na FŽP ČZU. Jako referenční materiál byl použit NIST 1640A. Přístroj pro analýzu materiálu obsluhovala paní Mgr. Sylva Číhalová. Naměřené hodnoty byly posléze přepočítány na přesné hmotnosti vzorků a převedeny na $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

4.4 Statistické zpracování dat

Ke zpracování dat byl použit statistický program R (R Core Team, 2015) a Microsoft Excel. Data se většinou upravila logaritmováním, aby nesla normální rozdělení a následně se zkoumala pomocí analýzy variance (ANOVA). Pokud logaritmování nepomohlo, byl k určení signifikance rozdílů mezi vzorky využit ne-parametrický Kruskal-Wallisův test. Dále byl k analýze dat využit Pearsonův korelační koeficient pro zjištění vztahu mezi jednotlivými vzorky. Výsledky byly u všech testů označeny za signifikantní, pokud hodnota spolehlivosti p vyšla menší než 0,05. Pokud byla data testována na základě korelace, vyskytuje se u výsledků kromě hodnoty p také hodnota r , která značí Pearsonův korelační koeficient, který je tím průkaznější, čím více se hodnota blíží -1 nebo 1.

Mapa nesoucí informace o místech nálezů zkoumaných bobříků byla vytvořena v prostředí programu ArcGis.

5. VÝSLEDKY

5.1 Informace o analyzovaných bobřích jedincích

Lokalita (označení)	Datum nálezu	Oblast	ŘEKA	Pohlaví	Věk	Váha (kg)	LC(cm) délka	LC(cm) délka	L/TP(cm) délka	LA (cm) ucho	Šupinatá část	Šířka ocasu	Příčina smrti	Souřadnice
Lednický park	18.2.2008	MO	Dyje	F	sub	16,00	69	35	17	3,4	30,5	13,5	Utracená samice	48.8083283N, 16.8106931E
Zahradnictví Lednice	23.7.2008	MO	Dyje	M	sub	13,20	63	32,5	16	3	28,5	10,5	Zranění v bederní části	48.7997922N, 16.8147272E
Křivé jezero	duben 2011	MO	Dyje	F	sub	14,45	70	37,5	15,5	3,5	27,5	10,5	Zasířelen	48.8479378N, 16.7284675E
kemp Apollo (Břeclav)	duben 2012	MO	Dyje	M	sub	16,00	68	38	15,5	2,5	30	12,5	Sražen autem	48.7875789N, 16.8233961E
Pastvisko	21.7.2013	MO	Dyje	F	ad	21,40	-	-	-	-	-	-	Neznámá, zakrvácená plíce	48.8143764N, 16.8002219E
Račí potok	9.3.2015	SUM	Teplá Vltava	M	sub	8,50	54	28	14	3	21	17,5	Přeražený vaz	48.9595339N, 13.7435764E
Křemelhá	1.8.2014	SUM	Křemelhá	M	sub	15,70	72,3	35	17	3	27,6	10,7	Rozbitá hlava	49.1353908N, 13.3851475E
Železná ruda	4.6.2015	SUM	Řezná	F	sub	15,15	68	33	15	3	26	10	Sražen autem	49.1259558N, 13.2138294E
Hněvkovice	4.6.2015	SUM	Vltava	M	sub	12,10	65	32	14,5	3	27	11	Sražen autem	49.1818669N, 14.4460147E
Svatý Jan	únor 2011	SK	Morava	F	ad	17,20	70,5	40	17	3,5	30	11	Sřelen do hlavy	48.5858011N, 16.9792647E
Velké Leváre	25.3.2012	SK	Morava	M	sub	13,50	75,5	36	17,5	2,5	29	11	4 hluboké kousance, naražený	48.5014739N, 16.9150633E
Zohor	11.3.2015	SK	Malina	M	sub	11,30	63	30	15	2,5	23,5	10,5	Sražen autem	48.3055725N, 17.0046706E
Nebočady (Labe 2011)	24.11.2010	LA	Labe	F	as	22,40	78	40	17	3	31	13	Sražen autem	50.7242811N, 14.1889947E
Bezpatěrák	květen 2012	LA	Labe	F	sub	10,80	62	32	15,5	2,5	24,5	10	Neznámá, zlomená páteř, stýdká kost	50.8109742N, 14.2286914E
Děčín (LA 102)	18.9.2012	LA	Labe	M	ad	24,80	80	40	18	3	31	15,5	Neznámá, bez vnějších známek zranění	50.7391394N, 14.1816992E
Nebočady (LA 103)	27.9.2012	LA	Labe	M	ad	29,80	87	41,5	18,5	3	33,5	15	Tupý silný náraz	50.7191733N, 14.1939300E
Svádov I	9.7.2013	LA	Labe	F	ad	27,50	85	45	19	3	34	15	Neznámá, léze v žaludku	50.6638756N, 14.0990014E
Malé Březno	7.4.2014	LA	Labe	M	ad	23,00	86	40	18,5	3	33	14,5	Neznámá, špatný výživový stav	50.6831856N, 14.1751761E
Malé Březno 2	6.8.2015	LA	Labe	M	sub	15,15	70	31	17	2,7	29	13	Podezření na intoxikaci, následně umláčen	50.6677108N, 14.1612714E

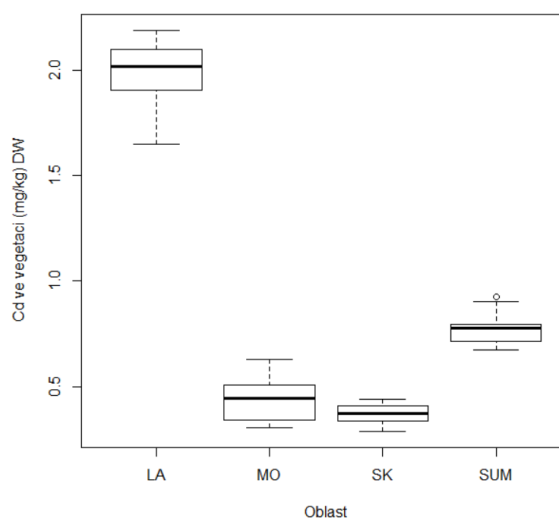
Tab. 5, Informace o analyzovaných bobřích jedincích (vlastní)

Jak lze vyčíst z tab. 5, srážka bobrů s autem je významnou příčinou jejich úmrtí (oranžově zvýrazněná políčka v tabulce), minimálně tři další jedinci byli úmyslně zabiti (zastřelení, otrava; růžově zbarvená pole v tabulce). U některých živočichů nebyla příčina smrti objasněna, ačkoli část z nich byla pravděpodobně usmrcena násilím a část zemřela kvůli špatnému zdravotnímu stavu.

Jak jsem uvedla v cílech práce, budu se pro větší přehlednost držet základních otázek, jež jsem si kladla. Tyto otázky formují jednotlivé kapitoly výsledků.

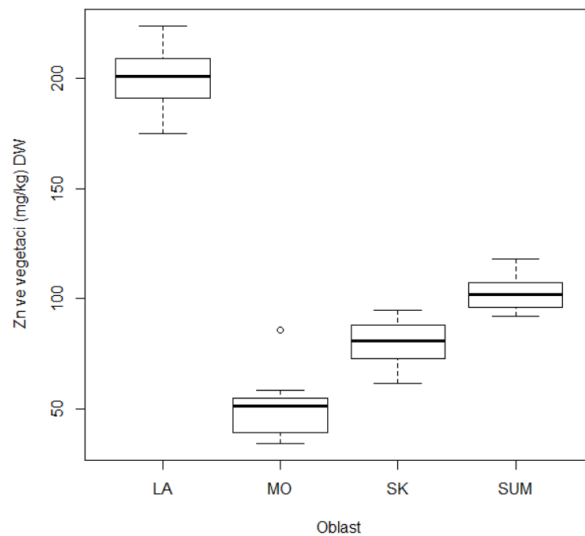
5.2 Jaké jsou rozdíly v koncentraci Cd a dalších kovů ve vegetaci mezi modelovými oblastmi?

Rozbor vegetace přinesl následující výsledky. Kadmiem je nejvíce zatížena oblast Labe, s průměrem $1,98 \text{ mg.kg}^{-1}$ suché váhy, za ním následuje horní tok Vltavy, kde bylo v průměru detekováno $0,78 \text{ mg.kg}^{-1}$ Cd. U oblastí na Moravě a na Slovensku byly zjištěny přibližně čtyřikrát nižší hodnoty kadmia, než se naměřily na Labi a tyto oblasti jsou si navzájem podobné s průměry $0,44$ (MO) a $0,37$ (SK) mg.kg^{-1} . Kruskal-Wallisovým testem bylo zjištěno, že se od sebe oblasti signifikantně liší v závislosti na koncentraci Cd ve vegetaci ($p = 5.778e-11$). Graf koncentrace Cd v rostlinném materiálu je zobrazen na obr. 5.



Obr. 4, Koncentrace Cd ve vegetaci v jednotlivých oblastech (vlastní)

Obsah kadmia ve vegetaci silně koreloval s koncentrací zinku ($r = 0,96$; $p < 2.2e-16$) a pro zinek byl rovněž zjištěn signifikantní rozdíl mezi oblastmi, co se týče jeho obsahu ve vegetaci, použitím Kruskal-Wallisova testu ($p = 1.183e-11$). Vizualně je rozložení Zn ve vegetaci v jednotlivých oblastech zobrazeno na obr. 6.



Obr. 5, Koncentrace Zn ve vegetaci v jednotlivých oblastech (vlastní)

Hodnoty ostatních naměřených kovů tvořily ve většině případů odlišnou strukturu od Cd a Zn, pouze měď signifikantně korelovala jak s Cd ($r = 0,75$; $p = 4.663e-12$), tak se Zn ($r = 0,80$; $p = 1.155e-14$). Analýzou variance bylo zjištěno, že koncentrace mědi, arsenu a olova ve vegetaci je rovněž signifikantně závislá na místě, odkud rostlina pochází. Stejný výsledek byl zjištěn také pro Fe pomocí Kruskal-Wallisova testu pro data bez normálního rozdělení ($p = 1.361e-10$).

Nejvyšší obsah As byl zaznamenán na Labi s průměrem $0,31 \text{ mg.kg}^{-1}$, ale jen o kousek nižší hodnoty byly změřeny na Slovensku (průměr $0,27 \text{ mg.kg}^{-1}$). Koncentrace As na Moravě a na Šumavě byla přibližně stejná, průměrně $0,19 \text{ mg.kg}^{-1}$ Morava a $0,22 \text{ mg.kg}^{-1}$ Šumava. Koncentrace železa se ukázala být nejvyšší v oblasti Slovenska s průměrnou hodnotou $206,17 \text{ mg.kg}^{-1}$, následovala oblast Labe (průměr $133,34 \text{ mg.kg}^{-1}$) a o více než polovinu nižší hodnoty na Šumavě a Moravě. Podobný vzor byl pozorován u koncentrace olova a korelace obou prvků se ukázala jako pozitivní Pearsonovým korelačním testem ($r = 0,29$; $p = 0,02$). Hodnoty olova se průměrně pohybovaly mezi $0,37 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Labe) a $0,67 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Slovensko).

Kov	LA	MO	SK	SUM	Legenda	
Cd	1,98	0,44	0,37	0,78		nejvyšší koncentrace
Zn	200,72	49,56	79,91	102,55		nejnižší koncentrace
Fe	133,34	77,35	206,17	62,76		
Cu	5,77	4,27	4,82	5,20		
Pb	0,37	0,61	0,67	0,52		
As	0,31	0,19	0,27	0,22		

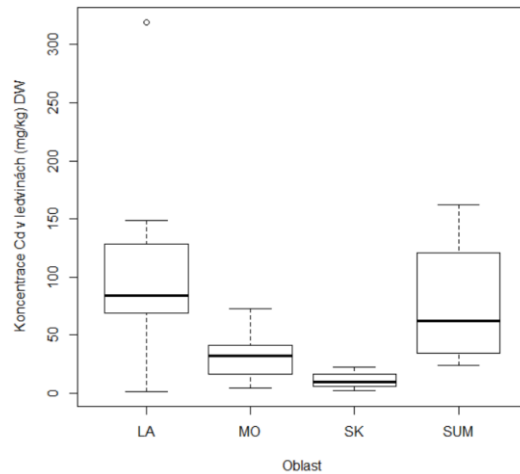
Tab. 6, Průměrné koncentrace kovů v jednotlivých oblastech (vlastní)

Pokud se uspořádají změřené kovy z vegetace do tabulky (tab. 6), je možné vidět, že oblast u řeky Labe je oproti ostatním oblastem relativně hodně znečištěná, jako další následuje Slovensko, pro které byla zjištěna nejvyšší koncentrace olova a železa ve vegetaci. Nejčistší se zdá být oblast monitorovaná na jižní Moravě, a podobné hodnoty vykazuje i oblast, ze které pochází šumavská bobří populace.

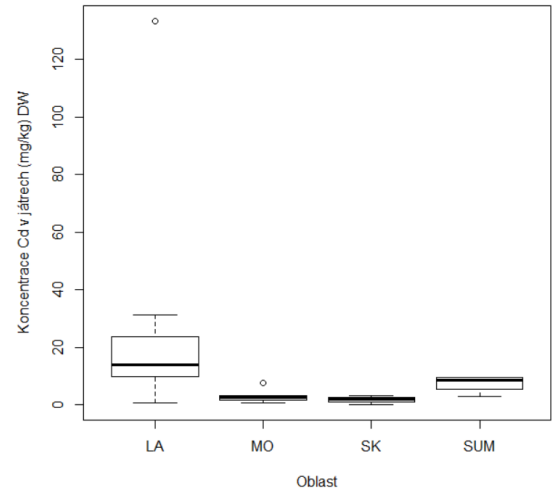
5.3 Který ze vzorků odebraných bobrům nejlépe odráží koncentrace Cd v prostředí? Jak je to u ostatních těžkých kovů?

Analýzou bylo zjištěno, že nejvíce se koncentrace Cd pozorovaná ve vegetaci odráží v ledvinách bobrů ($r = 0,49$; $p = 0,03$), ačkoli rozdíly mezi oblastmi nejsou u koncentrace Cd v ledvinách tak markantní jako je tomu v případě vegetace, což lze pozorovat na obr. 7. Kadmium v ledvinách bobrů z okolí Labe vykazuje hodně odlehých hodnot a data z Šumavy mají velký rozptyl. Průměr naměřených koncentrací na Labi činí $114,21 \text{ mg.kg}^{-1}$ a na Šumavě $77,65 \text{ mg.kg}^{-1}$. Tento významný rozdíl je způsoben hlavně vysoce odlehlou hodnotou, která byla zjištěna u jedince pocházejícího z oblasti Labe, jehož ledviny obsahovaly celých $318,99 \text{ mg.kg}^{-1}$. Pokud by se tato hodnota nechala stranou a stejně tak by se uvažovala data bez druhé výrazně odlehlé hodnoty ($1,76 \text{ mg.kg}^{-1}$), tvořil by celkový průměr koncentrace Cd v ledvinách labské populace $95,75 \text{ mg.kg}^{-1}$, což se na grafu vizuálně projeví v menších rozdílech mezi koncentrací Cd v ledvinách oproti koncentraci změřené ve vegetaci. Rozdíly mezi oblastmi pomocí ANOVY v tomto případě vyšly

neprůkazné. Signifikantní byl ovšem zjištěn rozdíl v koncentraci Cd v játrech mezi oblastmi, ze kterých bobři pocházeli ($p = 0,0392$) a mezi koncentrací Cd v játrech a ledvinách byla zjištěna pozitivní korelace ($r = 0,89$; $p = 3.928e-07$). Dá se tedy předpokládat, stejně jako u vegetace, že existuje určitá závislost koncentrace Cd v orgánech na tom, z jaké bobr pocházel oblasti. Koncentrace Cd v játrech u odlišných oblastí je zobrazena na obr. 8.



Obr. 7, Koncentrace Cd v ledvinách bobřů (vlatní)



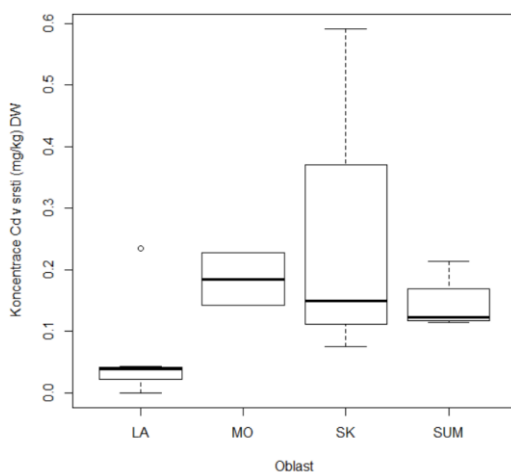
Obr. 8, Koncentrace Cd v játrech bobřů (vlastní)

Dále byla zjištěna vysoká korelace mezi koncentrací Cu ve vegetaci a v ledvinách ($r = 0,75$; $p = 0,00021$). U ostatních prvků nebyla korelace orgánu, svalů či srsti s rostlinným materiálem signifikantní pro žádný vzorek. Podle struktury grafu lze však formulovat určitý předpoklad podobnosti pro obsah zinku ve vegetaci s jeho koncentrací v ledvinách.

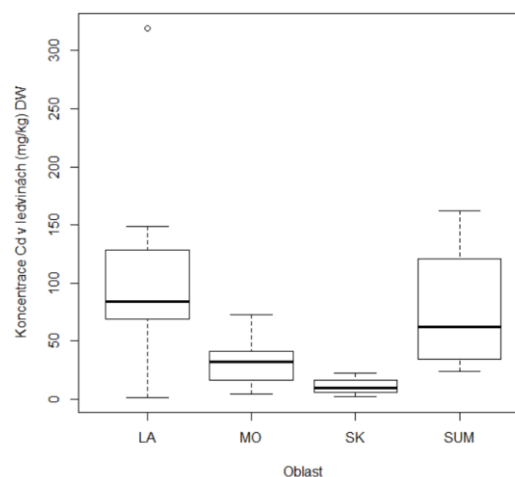
5.4 Je srst vhodným indikátorem intoxikace rizikovými prvky? Existují vztahy mezi jednotlivými vzorky?

5.4.1 Kadmium

Z předchozí kapitoly je patrné, že koncentrace kadmia zjištěná v ledvinách a játrech jedinců celkem dobře odráží koncentraci kadmia v okolní vegetaci. Naprosto odlišný vzor byl ovšem pozorován pro srst, jejíž hodnoty vykazovaly velmi rozdílné výsledky. Nejnížší hodnoty byly detekovány v srsti jedinců pocházejících z okolí řeky Labe a nejvyšší byly pozorovány u bobrů na Slovensku. Tento trend byl velmi překvapivý a naprosto vyvrací předpoklad, že zatížení organismu kadmiiem je možné vyčíst ze srsti. Korelační koeficient mezi obsahem kadmia v ledvinách a chlupech vykazuje hodnotu -0,038 a korelační koeficient mezi obsahem kovu v játrech a v srsti je 0,085. Z toho vyplývá, že mezi obsahem kadmia v chlupech a ledvinách, ani mezi chlupy a játry není pozitivní vztah. Na obr. 9 a obr. 10 jsou vizuálně zobrazeny rozdíly.



Obr. 6, Koncentrace Cd v srsti bobrů (vlastní)



Obr.10, Koncentrace Cd v ledvinách bobrů (vlastní)

Pro úplný přehled, jsou v tab. 7 vypsány korelační koeficienty mezi jednotlivými vzorky podle Pearsona. Zelená pole zvýrazňují vysoce signifikantní hodnoty a růžová pole naopak hodnoty neprůkazné. Z tabulky lze vyčíst, že ani jeden ze vzorků se srstí nekoreluje, což ji vylučuje jako potenciální indikátor intoxikace jedince.

KORELACE	kid	liv	lun	hrt	mus
liv	0,89				
lun	0,78	0,53			
hrt	0,69	0,50	0,81		
mus	0,51	0,37	0,41	0,45	
fur	-0,04	0,09	-0,03	-0,09	0,17

Tab. 7, Korelace koncentrace Cd mezi vzorky (vlastní)

LEGENDA:	
	neprůkazné
	signifikantní, velmi pozitivní
	signifikantní

5.4.2 Zinek, železo a měď

U těchto třech prvků nebyl zaznamenán téměř žádný signifikantní vztah mezi jednotlivými vzorky. Pro zinek byl zjištěn jediný průkazný vztah a to mezi srdcem a srstí ($r = 0,54$; $p = 0,033$). Tento vztah ještě nedokládá, že by srst mohla být vhodným prediktorem intoxikace organismu, protože ani koncentrace naměřená v srsti, ani ta v srdci nekoreluje s jinými vzorky. Hodnoty naměřené v srdci jsou navíc druhými nejnižšími zjištěnými hodnotami.

U železa byla slabá korelace zaznamenána pro játra a srdce a pro játra a svaly, oboje s korelačním koeficientem 0,47, jiný vztah nebyl odhalen.

Měď nenesla vztahy žádné pozitivní korelace, mezi srdcem a svaly však byl zaznamenán slabý negativní vztah ($r = -0,51$; $p = 0,024$).

5.4.3 Arsen

Pro arsen vyšla nejprůkaznější pozitivní korelace mezi plícemi a játry, ale značně vysoká korelace byla zjištěna rovněž mezi plícemi a srstí a dokonce vyšel pozitivně také vztah mezi srstí a játry. Největší koncentrace kadmia byly zaznamenány právě v plicích, což poukazuje na fakt, že srst by v tomto případě mohla fungovat jako vhodný prediktor intoxikace organismu arsenem. Korelace mezi jednotlivými vzorky je zobrazena v tab. 8.

KORELACE	kid	liv	lun	hrt	mus
liv	0,58				
lun	0,62	0,83			
hrt	0,38	0,51	0,50		
mus	0,71	0,54	0,60	0,27	
fur	0,33	0,56	0,66	0,25	0,49

Tab. 8, korelace koncentrace As mezi vzorky (vlastní)

5.4.4 Olovo

V případě olova byl opět neprůkazný jakýkoli pozitivní vztah mezi koncentracemi naměřenými v chlupcích a těmi v orgánech či svalech (Tab. 9). Nelze tedy předpokládat, že srst nese pravdivou informaci o rozmístění olova po těle bobrů. Nejvyšší korelace byla zaznamenána mezi srdcem a svalem a dále mezi ledvinami a játry.

KORELACE	kid	liv	lun	hrt	mus
liv	0,95				
lun	0,79	0,770			
hrt	0,69	0,580	0,500		
mus	0,66	0,520	0,510	0,970	
fur	0,230	0,190	0,080	0,300	0,280

Tab. 9, Korelace koncentrace mědi mezi vzorky (vlastní)

5.5 Jaké hodnoty těžkých kovů byly ve vzorcích průměrně naměřeny?

Průměry naměřených prvků (mg.kg-1) DW						
kovy	srst	játra	ledviny	plíce	srdce	svaly
Cd	0,135	13,881	69,059	1,305	0,480	0,323
Zn	139,824	166,959	157,296	81,024	107,346	189,441
Fe	223,278	753,555	384,581	1373,706	619,279	316,752
Cu	7,802	15,344	14,314	9,097	13,848	5,200
Pb	1,285	2,400	1,690	1,946	1,536	1,320
As	0,490	0,472	0,393	0,524	0,367	0,333

Tab. 10, Průměrné koncentrace prvků naměřené ve vzorcích (vlastní)

Červeně jsou v tabulce (tab. 10) označeny nejvyšší naměřené hodnoty pro jednotlivé prvky a zeleně druhé nejvyšší naměřené hodnoty. Je patrné, že játra významně kumulují velké množství prvků a poměrně velké zastoupení tvoří i plíce. Ledviny jsou hlavním cílem Cd a dále Cu, zinek se v nich vyskytuje poměrně ve velké míře také, ale předčí je jeho koncentrace ve svalech, což je ojedinělý případ. Arsen se vymyká ostatním prvků v tom, že jeho druhé nejvyšší zastoupení je v srsti.

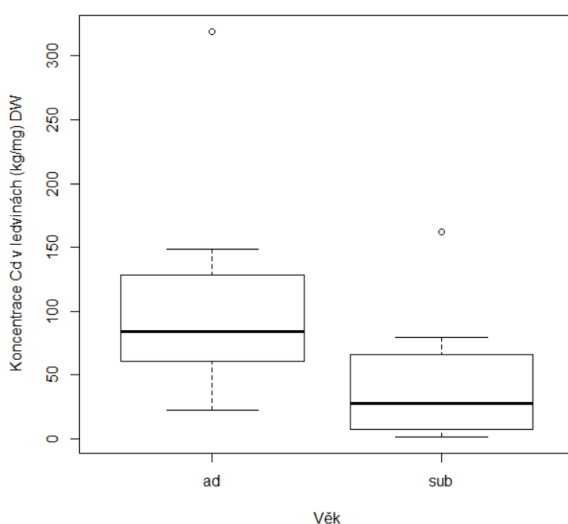
5.6 Koreluje koncentrace Cd v organismu s jinými prvky?

Koncentrace Cd v organismu korelovala velmi pozitivně s obsahem zinku, ale pouze v ledvinách ($r = 0,86$; $p = 2.637e-06$). Další pozitivní korelace byla zaznamenána mezi koncentrací kadmia a mědi v ledvinách ($r = 0,59$; $p = 0,0076$) a zároveň byl zjištěn pozitivní vztah mezi koncentrací Cd a Cu v játrech ($r = 0,57$; $p = 0,0015$). Co se týče korelace koncentrace kadmia s jinými kovy, nebyl žádný vztah potvrzen ani v jednom ze zkoumaných vzorků.

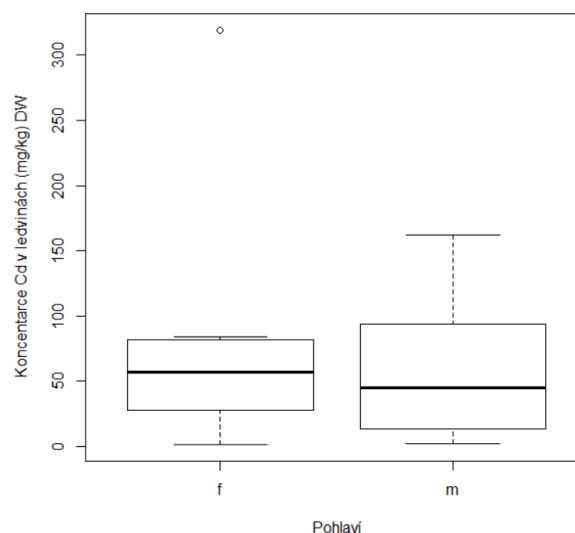
5.7 Je množství kadmia a dalších těžkých kovů v organismu závislé na pohlaví a věku jedince?

Věk se ukázal být důležitým faktorem koncentrace kadmia v těle bobrů. Data obsahovala pouze dvě věkové skupiny, dospělé (adulty) a dospívající jedince (subadulty), nejmladší generace (juvenilové) v tomto výzkumu nebyla zastoupena. Mezi subadulty byli zařazeni bobři, kteří vážili 8 - 16 kg a k adultům se řadili jedinci vážící přes 16 kg. K juvenilní skupině by tak přirozeně patřili bobři mající méně než 8 kg. Vzhledem k tomu, že ledviny jsou orgánem, který akumuluje největší množství kadmia, což bylo potvrzeno i v této práci, byla zkoumána závislost koncentrace Cd v ledvinách na stáří bobrů. K analýze byla použita ANOVA, která potvrdila, že koncentrace Cd v ledvinách je závislá na stáří jedinců ($p = 0,03$), tudíž se dá předpokládat, že s věkem se kadmium v ledvinách kumuluje. Graf koncentrace Cd v ledvinách pro obě věkové skupiny je zobrazen na obr. 11.

Co se týče koncentrace kadmia v závislosti na pohlaví, žádný průkazný rozdíl nebyl v našich datech objeven. Na obr. 12 lze vidět, že jsou si výsledky velmi podobné. Rozdělení do skupin bylo poměrně vyrovnané, data obsahují informaci o 11 samcích a 8 samicích.



Obr. 7, Koncentrace Cd v ledvinách v závislosti na věku jedinců (vlastní)



Obr. 8, Koncentrace Cd v ledvinách v závislosti na pohlaví jedinců (vlastní)

U ostatních prvků byla závislost prověřována v orgánech či tkáních, ve kterých byl zjištěn nejvyšší obsah kovu, posléze se u každého prvku zkontroloval tento vztah i pro ledviny a játra. Zinek nevykazoval závislost ani na věku ani na pohlaví, ačkoli graf koncentrace Zn ve svalech zobrazoval poměrně velké rozdíly v závislosti na věku. Obsah zinku byl přibližně jeden a půlkrát vyšší u adultů než u subadultů, výsledky ovšem průkazné nebyly a rozdíl se výrazně snížil u jater a ledvin. U železa rovněž nebyla potvrzena závislost ani na věku ani na pohlaví a stejně se choval i arsen. Měď nevykazovala výrazné rozdíly mezi pohlavími, ale rozdíl u odlišných věkových skupin byl signifikantní pro koncentraci Cu v ledvinách ($p = 0,03$) použitím ANOVY. Olovo jako jediné vykazovalo značné rozdíly u odlišných pohlaví. Samice měly v plicích průměrně šestkrát vyšší obsah olova než samci ($p = 0,000122$). Tento trend byl potvrzen i u ledvin.

6. DISKUSE

Analýzou rostlinného materiálu bylo zjištěno, že oblasti, ze kterých zkoumaní bobři pocházeli, se mezi sebou signifikantně liší v koncentraci těžkých kovů ve vegetaci. Nejvíce je zatížena oblast v okolí řeky Labe, která vykazovala nejvyšší hodnoty Cd, Zn, Cu a As. Jako druhou nejvíce zatíženou oblastí se jeví okolí řeky Moravy na Slovensku, kde byly detekovány největší koncentrace Fe a Pb. Nejčistší se zdá být naopak povodí řeky Dyje na jižní Moravě, která vykazovala u většiny prvků nejnižší naměřené koncentrace. Řeka Vltava je považována za druhou nejčistší, co se týče obsahu zkoumaných těžkých kovů v mém výzkumu. Výsledky odpovídají rozboru kvality vodních toků. Ačkoli většina řek České republiky ve své kvalitě dosáhla na jakostní třídu I. a II., které označují čistý stav vody, jsou monitorovány některé plošné a bodové zdroje zvyšující na úsecích toků koncentrace znečišťujících látek. To, že na Labi byl zjištěn nejvyšší obsah Cd, se shoduje se zprávou MKOL (2009), která označila některé úseky Labe se zvýšeným obsahem tohoto prvku. Část toku, poblíž kterého byli bobři nalezeni, se řadí k místům, ve kterých nebyl dosažen „dobrý stav“ podle rozboru vody (MKOL, 2009). V Ústeckém kraji se vyskytuje celá řada chemických podniků, jedná se například o Spolchemie Ústí nad Labem, Setuza Ústí nad Labem, chemopetrol Litvínov, Lovochemie Lovosice, papírny Štětí atd., které přispívají k bodovému znečištění řeky Labe. Ačkoli jsou v dnešní době ve všech podnicích zavedeny environmentální limity a únik znečišťujících látek do životního prostředí je monitorován a minimalizován, některé chemické látky mají perzistentní vlastnosti a tak se drží v životním prostředí i dlouhou dobu po ukončení jejich expozice. Jako druhá nejvíce zatížená oblast byl úsek řeky Moravy na Slovensku. Zajímavé je, že okolí řeky Dyje bylo naopak zjištěno jako nejčistší, ačkoli většina toků označených v „Souhrnné zprávě o vývoji jakosti povrchových vod v povodí Moravy 2012-2013“ (Procházková et al., 2014) jako dlouhodobě nejhůře hodnocené z hlediska kvality vody, vtékají do řeky Dyje a ne přímo do Moravy, takže nemůžou být příčinou hlavního znečištění řeky Moravy. Jedná se o toky Trkmanka, Litava (Cézava), Spálený potok a Daníž, které jsou málo vodné, silně regulované a výrazně zatížené komunálním, průmyslovým a plošným znečištěním. Výjimku tvoří Široký potok, který je recipientem odkaliště popílku

z teplárny Otrokovice a obsahuje vysoké koncentrace As, a který vtéká přímo do řeky Moravy. Ačkoli je v ní zředěný na vyhovující úroveň, mohl přispět ke druhým nejvyšším naměřeným hodnotám As ve vegetaci právě na řece Moravě na Slovensku. Kvalita vody v povodí řeky Moravy je hodnocena v 95 % procentech profilů jako „vyhovující“ a zvýšená koncentrace na některých úsecích řeky je spojena převážně s vypouštěním odpadních vod nebo je způsobena geologickými podmínkami oblasti. Při některých, zejména nárazových znečištěních, je obtížné zjistit jejich příčinu. Hodnoty naměřené ve vegetaci okolo řeky Vltavy odpovídaly rozboru jejího horního toku (od pramenů po vodní nádrž Orlík), kadmium se nachází mezi I. a II. třídou jakosti, takže výrazné znečištění nebylo zaznamenáno. Měď je řazena na většině úseků toku k II. třídě jakosti, stejně jako olovo a zinek (Černý et al., 2015).

V rostlinném materiálu byla zároveň zjištěna velmi pozitivní korelace mezi Cd a Zn, což souhlasí s řadou studií zabývajících se rozbořem vegetace rodu *Saliceae* (Stoycho et al., 2003; Robinson et al., 2005; Migeon et al., 2009), k níž většina zkoumaného materiálu patřila. Hodnoty zinku v této studii průměrně o dva řády převýšily koncentraci kadmia ve všech oblastech, z čehož vyplývá, že zinku je v půdě pravděpodobně dostatečné množství a tím pádem může přispívat k nižší absorpci kadmia rostlinou. Data byla ovšem sbírána během letního období (druhá půlka července), uprostřed vegetačního období, takže koncentrace kadmia mohla být zředěna v listech. V práci Migeon et al. (2009) byl dokumentován nárůst zinku a kadmia na konci vegetačního období, při opadávání listů, lze tedy předpokládat, že hodnoty Cd a Zn ve vegetaci během podzimního a zimního období porostou. Ve studii byl rovněž objeven pozitivní vztah mezi koncentrací Cu a Cd ve vegetaci a koncentrací Cu a Zn, který nebyl zjištěn v Migeon et al. (2009). Nicméně hlavním cílem této práce bylo zachycení proporcí rozdílů v koncentraci těžkých kovů mezi jednotlivými oblastmi, takže je důležité, že všechny vzorky byly sbírány ve stejnou dobu.

Kadmium detekované v rostlinném materiálu se nejlépe odráží v ledvinách a játrech bobrů. Ledviny jsou zároveň orgánem, který obsahuje nejvyšší koncentrace tohoto prvku, což souhlasí s informacemi z jiných studií (Waakells, 2000; Zalewski et al., 2012; Giżejewska et al., 2013). Průměrně bylo v ledvinách naměřeno 69,059 mg.kg⁻¹ kadmia a jeho největší koncentrace byla zjištěna u samice z labské populace

bobrů, nalezené u obce Svádov s koncentrací Cd v ledvinách $318,99 \text{ mg.kg}^{-1}$. Tato hodnota více než třikrát převyšuje 100 mg.kg^{-1} suché váhy experimentálně stanovené jako kritické pro zdravotní stav volně žijících živočichů (Nolet et al., 1994), ačkoli někteří autoři publikovali jako koncentraci poškozující ledviny až koncentraci dosahující 1000 mg.kg^{-1} suché váhy (Friberg et al., 1986). Samice vážila 27 kg, byla gravidní a nalezena byla ve špatném výživovém stavu. Přes noc uhynula v ZOO Ústí nad Labem, kam byla převezena. Příčina její smrti je neznámá, ale pitvou se zjistilo, že měla léze v žaludku. Lze předpokládat, že vysoká koncentrace Cd v jejím organismu zdravotnímu stavu neprospívala, ale za příčinu úmrtí považována není. Vysoká koncentrace kadmia je pravděpodobně způsobena i věkem samice, protože v tomto výzkumu byla druhá nejstarší. Další bobr, jehož příčina smrti nebyla známá a který byl nalezen ve špatném výživovém stavu (chyběl podkožní tuk i tuk obalující vnitřnosti) měl v ledvinách třetí nejvyšší naměřenou koncentraci kadmia (148 mg.kg^{-1}). Pitva zjistila, že měl v žaludku motolici a nad měchýřem tukovitý výběžek. Stejně jako u předchozího případu ovšem není možné označit kadmium za příčinu špatného zdravotního stavu, ačkoli negativní vliv není možné vyloučit. Naměřené hodnoty kadmia převýšily koncentrace zjištěné ve studii Nolet et al. (1994), zkoumající bobří populaci z oblasti Biesbosch v Holandsku, ve které byla průměrná koncentrace v ledvinách 55 mg.kg^{-1} suché váhy a která byla považována za jednu z hodně intoxikovaných populací. Negativní efekt kadmia na zdraví živočichů ovšem v této studii zjištěn nebyl. Doposud nejvyšší známá naměřená koncentrace Cd volně žijícího živočicha byla změřena u bobra odchyceného na řece Muldě v Německu, s obsahem v ledvinách 467 mg.kg^{-1} suché váhy. Ani u tohoto jedince nebyly zjištěny negativní důsledky na jeho zdraví (Nolet et al., 1994). Živočišné druhy, ale i jedinci patřící k jednomu druhu se mezi sebou významně liší svou citlivostí k intoxikaci. Je proto nezbytné nadále monitorovat koncentrace nebezpečných prvků v prostředí a jejich vliv na zdravotní stav živočichů. U laboratorních zvířat lze lépe zjistit následky zkoumaných látek, protože je k dispozici zpravidla velký populační vzorek a referenční populace. Reakce těchto zvířat se ale mohou výrazně lišit od větších savců. U volně žijících živočichů je větší problém se zkoumáním následků těžkých kovů způsoben také individuálními rozdíly mezi jedinci, které nelze v malém vzorku populace odlišit od zákonů platných pro celou populaci. Tento fakt je jedním z hlavních důvodů hledání neinvazivní metody

monitorující koncentraci kovů v tělech živočichů, která by umožnila vzít v úvahu větší vzorek populace. Do budoucna je rovněž potřeba stanovit přesnější hranici ohrožení volně žijících živočichů těžkými kovy.

Co se týče korelace obsahu kadmia mezi tkáněmi a chlupy, bylo zjištěno, že srst pravděpodobně není vhodným indikátorem zatížení organismu bobra evropského kadmiiem. Hodnoty získané z detekce srsti vykazovaly téměř opačné výsledky oproti koncentracím naměřeným v ledvinách a játrech, nejvyšší hodnoty byly zjištěny v oblasti na Slovensku a nejnižší naproti tomu na Labi. Změřené hodnoty byly navíc o 2 až 3 řády nižší než koncentrace získané v ledvinách a ve všech případech byl jejich detekovaný obsah menší než 1 mg.kg^{-1} . Výsledky jsou v rozporu se studií Nolet et al. (1994), ve které byl zjištěn pozitivní vztah mezi koncentrací Cd v ledvinách a chlupech u bobra evropského, ačkoli koncentrace v chlupech byly stejně jako v této studii o dva řády nižší. Má práce rovněž rozporuje výstup Hernández-Moreno et al. (2013) označující srst jako vhodný indikátor intoxikace ledvin vlka iberského (*Canis lupus signatus*) kadmiiem. Výsledky naopak korespondují s výstupy studie Pereira et al. (2006), která vyhodnotila srst jako nevhodný indikátor pro zjištění obsahu kadmia v ledvinách a játrech krysy obecné (*Rattus rattus*). Ke stejnému závěru dospěli i Patra et al. (2007), kteří zjišťovali, jestli je možné obsah kadmia v krvi rozpoznat ze srsti u krav (*Bos spp*). D'Havé et al. (2006) při studiu ježka západního (*Erinaceus europaeus*) zjistili, že kadmium v srsti nemělo průkazný vztah s koncentrací Cd v ledvinách, játrech či svalech. Tête et al. (2014) ve svém výzkumu rovněž dokumentoval neprůkazný vztah mezi koncentrací kadmia v ledvinách a srsti. Autoři prováděli výzkum na myšici křovinné (*Apodemus sylvaticus*), která se vyskytuje hojně po evropském kontinentu. Jejich výsledky byly v rozporu s informacemi zjištěnými v práci Beernaert et al. (2007), která potvrdila pozitivní korelaci mezi srstí a ledvinami myšice křovinné. Tête et al. (2014) přisuzují rozdíl odlišnému období provádění studie, jinému stádiu línání srsti, odlišnému prostředí a jídelníčku. Z toho vyplývá, že faktorů, které mohou koncentrace kovů v srsti ovlivnit je celá řada a u bobrů je tento fakt ztížen i jejich častou legislativní ochranou, takže je těžké obdržet statisticky signifikantní vzorek populace.

Opačný výsledek byl zjištěn pro intoxikaci organismu arsenem, jehož obsah v srsti pozitivně koreloval s koncentrací v plicích a játrech. Podobné výsledky byly

obdrženy ve studii D'Havé et al. (2006) u ježka západního (*Erinaceus europaeus*), jehož koncentrace As v chlupech pozitivně korelovala s obsahem v játrech a svalech. Předpoklad o zkoumání srsti jako vhodného ukazatele zatížení organismu As publikovali ve své studii Pereira et al. (2006) pro krysou obecnou (*Rattus rattus*) a myš střeozemní (*Mus spretus* Lataste). Je tedy pravděpodobné, že neinvazivní metoda zkoumání srsti by do budoucna mohla být využita pro detekci arsenu v těle živočichů.

Ostatní zkoumané prvky Zn, Fe, Cu a Pb nevykazovaly žádný pozitivní vztah mezi jejich koncentrací v srsti a orgánech, popřípadě svalech. Pro Zn a Fe byl tento vztah potvrzen ve studii D'Havé et al. (2006), ale vyvrácen byl pro případ mědi a olova, jejichž koncentrace v srsti signifikantně korelovala s ledvinami, játry a svaly u ježka západního. Korelace olova v srsti s koncentrací v játrech a ledvinách byla signifikantní i ve studii Tête et al. (2014). Rozdílné výsledky mohou být vysvětleny studiem odlišných druhů, různými obdobími sbírání materiálu a odlišným stadiem línání srsti. Všechny zmíněné faktory mohou ovlivnit koncentraci kovů v srsti. Podle výsledků této studie však není metoda detekce srsti s největší pravděpodobností vhodná pro informaci o zatížení organismu bobra evropského těžkými kovy. Jedinou výjimku tvoří As, jehož koncentrace v orgánech a chlupech spolu pozitivně koreluje.

Přikrylová (2006) ve své diplomové práci zkoumala rozdíly v kontaminaci dolního úseku řeky Labe (mezi Ústím nad Labem a Hřenskem) a úsekem na řece Dyji v oblasti Lednicko-Valtického areálu na jižní Moravě na základě analýzy srsti bobra evropského. Podle výsledků obdržených ze srsti byl průkazný rozdíl mezi oblastmi na základě zatížení Pb, Hg které ukazovaly na signifikantně vyšší kontaminaci okolí řeky Labe. Morava byla naopak více zatížena chromem. Mé výsledky potvrdily vyšší zastoupení Pb v srsti na Labi oproti řece Moravě, výsledek byl ovšem opačný v orgánech (játrech a ledvinách), kdy koncentrace Pb v okolí řeky Labe byla v průměru nižší než koncentrace na řece Dyji. V mé studii ovšem rozdíly v oblastech nebyly průkazné ani v srsti ani v orgánech, což je pravděpodobně způsobeno nízkým počtem vzorků. Z oblasti Labe jsem měla k dispozici 7 jedinců, ale z oblasti Moravy pouze čtyři, navíc v případě srsti byly z okolí řeky Dyje k dispozici pouze dva vzorky. Rtuť ani chrom bohužel v mé práci nebyly zkoumány a tak je nemohu porovnávat. V práci Přikrylová (2006) ovšem nebyly

zjištěny jiné průkazné rozdíly mezi jednotlivými oblastmi, např. v koncentraci Cd nebo Zn, které se na základě výzkumu orgánů v mé práci signifikantně lišily. Tento fakt opět dokazuje, že pro většinu těžkých kovů není analýza srsti dostačující metodou pro zjištění zatížení organismu kadmiiem.

Zkoumaným orgánem kumulujícím nejvyšší počet těžkých kovů jsou játra, která vykazovala největší koncentrace mědi a olova a druhé nejvyšší koncentrace Cd, Zn a Fe. Pouze As nevykazoval svůj nejvyšší ani druhý nejvyšší obsah v játrech. Ledviny obsahovaly největší koncentraci Cd a druhý největší obsah Cu. Zinek byl nejvíce zastoupen ve svalech a železo v plicích. Nejvyšší koncentrace arsenu byly rovněž zaznamenány v plicích, ale druhé nejvyšší byly detekovány v chlupech. Erry et al. (2005) zjistili, že nejvyšší obsah As v těle myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*) a norníka rudého (*Clethrionomys Glareolus*) se nachází v orgánech, které jsou zahrnuty ve vstřebávání, detoxifikaci a vylučování (v játrech a ledvinách) a pak v srsti. Koncentrace v plicích byly sice zvýšené, ale ne do takové míry jako koncentrace těchto vzorků. V této studii byly naopak naměřeny nejvyšší hodnoty As v plicích, které se nepodílejí přímo na jeho metabolismu a vylučování. Další vysoké hodnoty obsahovala srst, což je v souladu se zmíněnou studií. Játra byla až na třetím místě a za nimi ledviny (1,3 krát nižší koncentrace než v plicích).

Co se týče korelace kadmia s jinými prvky v organismu, byl pozitivní vztah zjištěn pro obsah kadmia a zinku v ledvinách a pro koncentraci Cd a Cu v ledvinách i játrech. Pozitivní korelace mezi koncentrací Zn a Cd v ledvinách, ale i v játrech byla rovněž zjištěna ve studii Fimreite et al. (2001). Tato studie ovšem naopak demonstrovala průkazný negativní vztah mezi Cd a Cu v játrech a ledvinách. Zinek má s kadmiiem podobné fyzicko-chemické vlastnosti a může potlačit některé jedovaté účinky Cd (Elinder & Piscator, 1978). Ve studii Jihen et al. (2010) bylo doloženo, že zinek může ochránit ledviny před poškozením i při relativně vysokých koncentracích kadmia v ledvinách, ačkoli zároveň zvyšuje jeho retenci v tomto orgánu. Zinek jednak chrání organismus po orálním příjmu kadmia tím, že snižuje jeho absorpci tenkým střevem a zabraňuje tak jeho kumulování v orgánech, nicméně byl doložen i jeho ochranný efekt při koncentraci značného množství kadmia ve tkáních. Jihen et al. (2010) provedli experiment s podáváním Cd a Zn krysám. Pokud bylo krysám podáváno samotné Cd, společně s ním rostla koncentrace Zn v ledvinách, což

poukazuje na narušení metabolismu zinku toxickým kovem. Když bylo podáváno Cd společně se zinkem, zvyšování Zn v ledvinách bylo na stejné úrovni, jako když bylo kadmium podáváno samotné. Vysoká koncentrace zinku ovšem navýšila tvorbu MT komplexů, které jsou kromě zinku schopny vázat také Cd a komplexy Cd-MT jsou více odolné proti degradaci než Zn-MT komplexy. Bylo rovněž demonstrováno, že volné Cd^{2+} jsou zodpovědné za poškození buněk a jeho vázaná forma v komplexech s proteiny jako je MT hraje klíčovou roli při ochraně ledvin. Tyto výsledky poukazují na složitost celého metabolismu zinku a kadmia v organismu, protože zinek může zabránit poškození struktury ledvin bez snížení obsahu Cd v ní. Dalším negativním účinkem kadmia je narušování rovnováhy mezi oxidanty a antioxidanty uvolňováním volných radikálů, poškozováním aktivity antioxidantních enzymů a tím způsobení oxidačního stresu. Jihen et al. (2011) zkoumali vliv kadmia na funkci jater u krys. Zjistili, že po vystavení Cd klesá glutathion (GSH), což je hlavní antioxidant v buňkách savců a roste jeho oxidovaná forma (GSSG) a dále byl zjištěn výrazný pokles v aktivitě CuZn SOD (superoxid dismutáza), rovněž významný antioxidant v těle. Snížení GSH může být vysvětleno důsledkem jeho spotřeby při vychytávání volných radikálů generovaných kadmíem, a pokles CuZn SOD interakcí zinku a kadmia. Při současném podávání Cd a Zn krysám, zinek nepřímo podporoval tvorbu GSH a byl pozorován jeho nárůst v CuZn SOD. Tím chránil játra před oxidačním stresem vyvolaným Cd. V některých studiích je považováno za kritickou hodnotu intoxikace organismu kadmíem poměr Cd:Zn. Anetor et al. (2008) navrhl bezpečnou hranici Cd:Zn 4,5:1, nad kterou může vzniknout rakovina prostaty u kuřáků. V mé studii byl nejvyšší zaznamenaný poměr 1,13:1, takže podle této hypotézy by neměl být zdravotní stav zkoumaných bobrů ohrožen. Jak bylo ale zmíněno dříve, vztahy mezi metabolismem Zn a Cd jsou velmi spletité a Zn může poskytovat efektivní ochranu i u rostoucího Cd v ledvinách. Świergosz-Kowalewska & Holewa (2007) pozorovaly negativní účinek kadmia na koncentraci železa v játrech, v této studii nebyl ale žádný vztah odhalen.

Koncentrace kadmia se významně liší v závislosti na věku. S rostoucím věkem se v organismu ukládá více kadmia. Tento fakt byl dokumentován v řadě studií (Nolet et al., 1994; Fimrete et al., 2001; Burger, 2008; Giżejewska et al., 2015). V této práci byly bohužel zastoupeny jen dvě věkové skupiny, dospívající jedinci

(subadulti) a dospělci (adulti). Mezi subadulty byli zařazeni bobři, kteří vážili 8 - 16 kg a k adultům se řadili jedinci vážící přes 16 kg. Juvenilní skupinu by tedy tvořili bobři vážící do 8 kg. Průměr koncentrace kadmia v ledvinách subadultů činil 63 mg.kg^{-1} a koncentrace v ledvinách adultů tvořila průměrně $75,8 \text{ mg.kg}^{-1}$. Průměrná koncentrace v játrech byla $8,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ u subadultů a $19,4 \text{ mg.kg}^{-1}$ u adultů. Průkazně vyšší koncentrace u starších jedinců v ledvinách byla zjištěná také pro měď. Výzkumu byla podrobena i koncentrace kadmia v závislosti na pohlaví, v datech nebyly objeveny žádné signifikantní rozdíly, stejně jako ve studii Nolet et al. (1994) a Fimreite et al. (2001). Jediný prvek, u kterého byly zjištěny průkazné rozdíly u odlišných pohlaví, bylo olovo, jehož koncentrace v plicích u samic šestkrát převyšovaly koncentrace zjištěné u samců. Koncentrace olova v ledvinách rovněž vykazovala signifikantně vyšší obsah u samic oproti samcům.

7. ZÁVĚR

Z výsledků práce je patrné, že neinvazivní metoda použití chlupů jako indikátoru stavu životního prostředí a zdraví bobrů není pro většinu těžkých kovů vhodná. Jediný prvek, u něhož koncentrace v srsti korelovala s koncentrací v orgánech (plicích a játrech) byl arsen, který je třeba do budoucna zkoumat a dále testovat jeho využití. Výstupy studie se shodují s informacemi řady autorů např., že nejvyšší kumulace Cd probíhala v ledvinách a jeho koncentrace se zvyšovala s narůstajícím věkem. V práci bylo dále zjištěno, že koncentrace kadmia v životním prostředí jsou na určitých místech České republiky poměrně vysoké, jedná se především o úseky na řece Labi. Pozitivní korelace mezi množstvím kadmia v potravě a ledvinách bobrů potvrzuje vysoký vliv stravy na zdravotní stav živočichů. Vzhledem k tomu, že významnou složku bobřího jídelníčku tvoří vrby a topoly, rostliny, které jsou schopny akumulovat vysoké dávky kadmia, je potřeba situaci kolem řeky Labe ale i jiných oblastí nadále monitorovat. Koncentrace zjištěné v ledvinách některých bobrů labské populace až třikrát převyšují experimentálně stanovené hranice v některých studiích, které označují bezpečnou dávku, bez poškození ledvin nebo jiných zdravotních obtíží. Ačkoli v posledních dvaceti letech byl stav vodních toků v České republice velice zlepšen a jejich kvalita se ve většině případů pohybuje mezi I. a II. stupněm jakosti, označujících čistou vodu, kadmium je prvek perzistentní, který je schopen přetrvat v životním prostředí a potravních řetězcích i desítky let. Z tohoto důvodu je potřeba vyšetřit další možnosti neinvazivních metod zkoumání zatížení organismu bobra kadmiem.

8. ZDROJE

8.1 Literární zdroje

ANETOR, J. I., AJOSE, F., ANETOR, G. O., IYANDA, A. A., BABALOLA, O. O. & ADENIYI, F. A., 2008: High cadmium/zinc ratio in cigarette smokers: potential implications as a biomarker of risk of prostate cancer. *Physiological Science* 23: 41 – 49.

BALEJOVÁ, M. & SOUKUPOVÁ, K., 2015: Zpráva o hodnocení jakosti povrchových vod v dílčím povodí horní Vltavy za období 2013 - 2014. Povodí Vltavy, státní podnik, Praha.

BASEY, J. M., JENKINS, S. H. & BUSER, P. E., 1988: Optimal central-place foraging by beavers: Tree-size selection in relation to defensive chemicals of quaking aspen. *Oecologia* 76: 278 - 282.

BASEY, J. M., JENKINS, S. H. & MILLER, G. C., 1990: Food selection by beavers in relation to inducible defenses of *Populus tremuloides*. *Oikos* 59: 57 - 62.

BEERNAERT, J., SCHEIRS, J., LEIRS, H., BLUST, R., & VERHAGEN, R., 2007. Non destructive pollution exposure assessment by means of wood mice hair. *Environmental Pollution* 145: 443 - 451.

BURGER, J., 2008: Assessment and management of risk to wildlife from cadmium. *Science of the total environment* 389: 37 - 45.

BURGER, J., MARQUEZ, M. & GOCHFELD, M., 1994: Heavy metals in the hair of Opossum from Palo Verde, Costa Rica. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 27: 472 - 476.

BRECK, S. W., WILSON, K. R. & ANDERSEN, D. C., 2003: Beaver herbivory and its effect on cottonwood trees: influence of flooding along matched regulated and unregulated rivers. *River Research and Application* 19: 43 – 58.

BRZÓSKA, M. M. & MONIUSZKO-JAKONUİK, J., 2001: Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food and Chemical toxicology* 39: 967 - 980.

D'HAVÉ, H., SHCEIRS, J., MUBIANA, V. K., VERHAGEN, R., BLUST, R. & COEN WIM, 2006: Non-destructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*): II. Hair and spines as indicators of endogenous metal and As concentrations. *Environmental pollution* 142: 438 - 448.

- DONKOR, N. T. & FRYXELL, J. M., 1999: Impact of beaver foraging on structure of lowland boreal forests of Algonquin Algonquin Provincial Park, Ontario. *Forest Ecology and Management* 118: 83 – 92.
- DVORAK, J., 2013: Diet preference of Eurasian beaver (*Castor fiber*) in the environment of Oderske Vrchy and its influence on the tree species composition of river bank stands. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 6: 1637 – 1643.
- EISLER, R., 1985: Cadmium hazards to fish, wildlife and invertebrates: A synoptic review. *Biological Report 85. Contaminant Hazard Reviews Report 2*.
- ELINDER, C. G. & PISCATOR, M., 1978: Cadmium and Zinc relationships. *Environmental Health Perspectives* 25: 129 - 132.
- FAMERA, M., BABEK, O., GRYGAR, M. T. & NOVAKOVA, T., 2013: Distribution of Heavy-Metal Contamination in Regulated River-Channel Deposits: a Magnetic Susceptibility and Grain-Size Approach; River Morava, Czech Republic. *Water, Air & Soil Pollution* 224.
- FERRARELLO, C. N., DEL ROSARIO FERNANDEZ DE LA CAMPA, M., CARRASCO, J. F. & SANZ-MEDEL, A., 2002: Speciation of metallothionein-like proteins of the mussel *Mytilus edulis* by orthogonal separation mechanisms with inductively coupled plasma-mass spectrometry detection: effect of selenium administration. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 57b: 439 – 449.
- FILISTOWICZ, A., DOBRZAŃSKI, Z., PRZYSIECKI, P., NOWICKI, S. & FILISTOWICZ, A., 2011: Concentration of heavy metals in hair and skin of silver and red foxes (*Vulpes vulpes*). *Environmental Monitoring and Assessment* 182: 477 - 484.
- FIMREITE, N., PARKER, H., ROSELL, F., HOSEN D. A., HOVDEN, A. & SOLHEIM, A., 2001: Cadmium, Copper, and Zinc in Eurasian Beaver (*Castor Fiber*) From Bø, Telemark, Norway. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 67: 503 – 509.
- FRIBERG, L., KJELLSTÖRM, T. & NORDBERG, G. F., 1986: Cadmium. In: Friberg, L., Nordberg, G. F. & Vouk, V. B. Handbook on the toxicology of metals. Volume II: Specific metals, 2nd ed. *Elsevier*, Amsterdam, The Netherlands: 130 – 184
- GIŻEJEWSKA, A., SPODNIIEWSKA, A., BARKSI, D. & FATTEBERT, J., 2015: Beavers indicate metal pollution away from industrial centers in northeastern Poland. *Environmental and Science Pollution Research* 22: 3969 – 3975.
- GIŻEJEWSKA, A., SPODNIIEWSKA, A. & BARKSI, D., 2014: Concentration of lead, cadmium, and mercury in tissues of European beaver (*Castor fiber*) from the north-eastern Poland. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 58: 77 – 80.

GAO, B., LIU, Y., SUN, K., LIANG, X., PENG, P., SHENG, G. & FU, J., 2008: Precise determination of cadmium and lead isotopic compositions in river sediments. *Analytica Chimica Acta* 612: 114 – 120.

GREEN, J. S. & FLINDERS, J. T., 1980: Habitat and dietary relationships of the pygmy rabbit. *J Range Management* 33: 136 – 142.

HANSEN, J. A., WELSH, P. G., LIPSON, J., CACELA, D. & DAILEY, A. D., 2002: Relative sensitivity of bull trout (*Salvelinus confluentus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to acute exposures of cadmium and zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21: 67 – 75.

HARTWIG, A., 1998: Carcinogenicity of metal compounds. *Toxicology Letters*. 235: 102–103.

HENSON, M. C. & CHEDRESE, P. J., 2004: Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction. *Experimental Biology and Medicine*: 383 – 392.

HERNÁNDEZ-MORENO, D., RESINO, I., FIDALGO, L. E., LLANEZA, L., RODRÍGUEZ, F. S., PÉREZ-LÓPEZ, M. & LÓPEZ-BECEIRO, A., 2013: Noninvasive heavy metal pollution assessment by means of Iberian wolf (*Canis lupus signatus*) hair from Galicia (NW Spain): a comparison with invasive samples. *Environmental Monitoring and Assessment* 185: 10421 - 10430.

HILLIS, T. L. & PARKER, G. H., 1993: Age and proximity to local ore-smelters as determinants of tissue metal levels in beaver (*Castor canadensis*) of the Sudbury (Ontario) area. *Environmental Pollution* 80: 67 - 72.

HUCKABEE, J. W. & BLAYLOCK, B. G., 1973: Transfer of mercury and cadmium from terrestrial to aquatic ecosystems. *Metal ions in biological systems*. New York: Plenum Press: 125 – 160.

HYVÄRINEN, H. & NIEMINEN, T. P., 2003: Effects of Moulting, Age, and Sex on the Accumulation of Heavy Metals in the Otter (*Lutra lutra*) in Finland. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 70: 278 - 284.

JEREZ, S., MOTAS, M., BENZAL, J., DIAZ, J., VIDAL, V., D'AMICO, V. & BARBOSA, A., 2013: Distribution of metals and trace elements in adult and juvenile penguins from the Antarctic Peninsula area. *Environmental and Science Pollution Research* 20: 3300 – 3331.

JIHEN, H. E., FATIMA, H., NOUHA, A., BAATI, T., IMED, M. & ABDELHAMID, K., 2010: Cadmium retention increase: A probable key mechanism of the protective effect of zinc on cadmium-induced toxicity in the kidney. *Toxicology Letters* 196: 104 - 109.

- JIHEN, H. E., SONIA, S., FATIMA, H., TAHAR, S. M. & ABDELHAMID, K., 2001: Interrelationships between cadmium, zinc and antioxidants in the liver of the rat exposed orally to relatively high doses of cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74: 2099 - 2104.
- KLANG-WESTIN, E. & PERTTU, K., 2002: Effects of nutrient supply and soil cadmium concentration on cadmium removal by willow. *Biomass and Bioenergy* 23: 415 - 426.
- KOSTKAN, V. & LACINÁ, 2008: J. Bobr evropský, náš noční dřevorubec. *Naše příroda* 2.
- KUZOVKINA, A. Y., KNEE, M. & QUIGLEY M. F., 2004: Cadmium and Copper Uptake and Translocation in Five Willow (*Salix* L.) Species. *International Journal of Phytoremediation* 6(3): 269 – 287.
- KROJEROVÁ-PROKEŠOVÁ, J. BARANČEKOVÁ, M., HAMŠÍKOVÁ, L. & VOREL, 2010: A. Feeding habits of reintroduced Eurasian beaver: spatial and seasonal variation in the use of food resources. *Journal of Zoology* 281: 183 - 193.
- LAUREYSENS, I., BLUST, R., DE TEMMERMAN, L., LEMMENS, C. & CEULEMANS, R., 2004: Clonal variation in heavy metal accumulation and biomass production in a poplar coppice culture: I. Seasonal variation in leaf, wood and bark concentrations. *Environmental Pollution* 131: 485 - 494.
- McBRIDE, M. B., SHAYLERA, H. A., SPLIETHOFFB H. M., MITCHELLB R. G., MARQUEZ-BRAVOB, L. G., FERENZC, G. S., RUSSELL-ANELLIA, J. M., CASEYC, L., & BACHMAND, S., 2014: Concentrations of lead, cadmium and barium in urban garden-grown vegetables: the impact of soil variables. *Environmental Pollution* 194: 254 – 261.
- MEDVEDEV, N., PANICHEV, N., & HYVARINEN, H., 1997: Levels of heavy metals in seals of Lake Ladoga and the White Sea. *Science of the Total Environment* 206(2-3): 95 – 105.
- MEZINÁRODNÍ KOMISE PRO OCHRANU LABE (MKOL). Mezinárodní plán oblasti povodí Labe. 2009.
- MIGEON, A., RICHAUD, P., GUINET, F., CHALOT, M. & BLAUDEZ, D., 2009: Metal accumulation by woody species on contaminated sites in the north of France. *Water, Air & Soil Pollution* 204: 89 - 101.
- NOLET, B. A., VILMAR, A. A. & HEIDECKE, D., 1994: Cadmium in Beavers Translocated from the Elbe River to the Rhine/Meuse Estuary, and the Possible Effect on Population Growth Rate. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 27 (2): 154 - 161.

NOLET, B. A. & ROSELL, F., 1998: Comeback of the beaver *Castor fiber*: An Overview of old and new conservation problems. *Biological Conservation* 83(2): 165 - 173.

NÝVLTOVÁ, V., 2010: Charakteristika skupiny vrby bobkolisté (*Salix phylicifolia* agg.) ve Střední Evropě s důrazem na *Salix bicolor* v Česku: *Bakalářská práce*. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra botaniky. Počet stran: 50. Vedoucí bakalářské práce: Radim J. Vašut.

PARIZEK, J., 1957: The destructive effect of cadmium on testicular tissue and its prevention by zinc. *Journal Endocrinology* 15: 56.

PARKER, G. H., 1989: Effects of soil acidification and local smelter emissions on the cadmium content of soils, forage and fecal pellets in deer yards of the Sudbury-Manitoulin area. *Ontario Ministry of Natural Resources, Queen's Park*: 38.

PARKER, G. H., 2004: Tissue metal levels in Muskrat (*Ondatra zibethica*) collected near the Sudbury (Ontario) ore-smelters; prospects for biomonitoring marsh pollution. *Environmental Pollution* 129: 23 - 30.

PATRA, R. C., SWARUP, D., NARESH, R., KUMAR, P., NANDI, D., SHEKHAR, P., ROY, S. & ALI, S. L., 2007: Tail hair as an indicator of environmental exposure of cows to lead and cadmium in different industrial areas. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66: 127 - 131.

PEREIRA, R., PEREIRA, M. L., RIBEIRO, R. & GONCALVES, F., 2006: Tissues and hair residues and histopathology in wild rats (*Rattus rattus* L.) and Algerian mice (*Mus spretus* Lataste) from an abandoned mine area (Southeast Portugal). *Environmental Pollution* 139: 561 - 575.

PIETRINI, F., ZACCHINI, M., IORI, V., PIETROSANTI, L., FERRETTI, M. & MASSACCI, A., 2010: Spatial distribution of cadmium in leaves and its impact on photosynthesis: examples of different strategies in willow and poplar clones. *Plant Biology* 12: 355 - 363.

PŘIKRYLOVÁ, P., 2006: Analýza těžkých kovů v srsti jedinců různých populací bobra evropského v ČR. *Diplomová práce*. Česká zemědělská univerzita v Praze, katedra ekologie a životního prostředí. Počet stran: 76. Vedoucí diplomové práce: Aleš Vorel.

RAUDENSKÁ, M., ŠMERKOVÁ, K., TANHÄUSEROVÁ, V., GUMULEC, J., HLAVNA, M., SZTALMACHOVÁ, M., PÁCAL, L., BABULA, P., ADAM, V., ECKSCHLAGER, T., KIZEK, R. & MASAŘÍK, M., 2012: Metalothionein a jeho role v detoxikaci těžkých kovů a predispozici k chorobám. *Praktický lékař* 6: 322 - 326.

ROBINSON, B., MILLS, T., GREEN, S., CHANCEREL, B., CLOTHIER, B. FUNG, L., HURST, S. & McIVOR, I., 2005: Trace element accumulation by poplars and willows used for stock fodder. *New Zealand Journal of Agricultural Research*: 489 - 497.

SHARMA, B., SINGH, S. & SIDDIQI, N. J., 2014: Biomedical Implications of Heavy Metals Induced Imbalances in Redox Systems. BioMed Research International.

SIMONSEN, T. A., 1973: Feeding ecology of the beaver (*Castor fiber* L.). *Medd. Statens Viltunders* 2: 20 – 61.

STOYCHO, D. S., GROZEVA, N., SIMEONOV, R., BORISOV, I., HUBENOV, H. NIKOLOV, Y., TSANEVA, M. & LAZAROVA, S., 2003: Experimental cadmium poisoning in sheep. *Experimental and Toxicologic Pathology* 55: 903 - 314.

SVENDSEN, G. E., 1980: Seasonal change in feeding patterns of beaver in southeastern Ohio. *The Journal of Wildlife Management* 44: 285 – 290.

ŚWIERGOSZ-KOWALEWSKA, R. & HOLEWA, I., 2007: Cadmium, zinc and iron interactions in the tissues of bank vole *Clethrionomys glareolus* after exposure to low and high doses of cadmium chloride. *BioMetals* 20: 743 - 749.

TÊTE, N., AFONSO, E., CRINI, N., DROUHOT, S., PRUDEN, A. & SCHEIFLER, R., 2014: Hair as a noninvasive tool for risk assessment: Do the concentrations of cadmium and lead in the hair of wood mice (*Apodemus sylvaticus*) reflect internal concentrations? *Ecotoxicology and Environmental Safety* 108: 233 - 241.

VLACHOVÁ, B., 2001: Potravní nabídka bobra evropského (*Castor fiber*) a vegetační charakteristika lokalit s jeho výskytem na Labi a Kateřinském potoce: *Diplomová práce*. Česká zemědělská univerzita v Praze, katedra ekologie a životního prostředí. Počet stran: 60. Vedoucí diplomové práce: Karel Šťastný.

VOLAUFVÁ, L., 2008: Kvalita povrchových vod v České republice. *Vesmír* 87.

VOREL, A., VÁLKOVÁ, L., HAMŠÍKOVÁ, L., MALOŇ, J. & KORBELOVÁ, J., 2015: Beaver foraging behaviour: Seasonal foraging specialization by a choosy generalist herbivore. *Behavioral ecology and sociobiology* 69: 1221 – 1235.

WAALKES, P. M., 2000: Cadmium carcinogenesis in review. *Journal of Inorganic Biochemistry* 79: 241 - 244.

WANI, B. A., KHAN, A. & BODHA, R. H., 2011: Salix: A viable option for phytoremediation. *African Journal of Environmental Science and Technology* 5(8): 567 - 571.

WIIG, O., RENZONI, A. & GJERTZ, I., 1999: Levels of cadmium and mercury in the hair of Atlantic walrus (*Odobenus rosmarus rosmarus*) from Svalbard, Norway. *Polar Biology* 21: 156 - 159.

WOO, K. J., ELLIOTT, K. H., DAVIDSON, M., GASTON, A. J. & DAVOREN, G. K., 2008: Individual specialization in diet by a generalist marine predator reflects specialization in foraging behaviour. *Journal of Animal Ecology* 77: 1082 – 1091.

WREN, CH. D., 1984: Distribution of metals in tissue of beaver, racoon and otter from Ontario, Canada. *The Science of the total environment* 34: 177 - 184.

ZALEWSKI, K., FALANDYSZ, J., JADACKA, M., MARTYSIAK-ŻUROWSKA, D., NITKIEWICZ, B. & GIŻEJEWSKI, Z., 2012: Concentrations of heavy metals and PCBs in the tissues of European beavers (*Castor fiber*) captured in northeastern Poland. *European Journal of Wildlife Research* 58: 655 - 660.

8.2 Internetové zdroje

AGENTURA OCHRANY PŘÍRODY A KRAJINY (AOPK), Česká zemědělská univerzita (ČZU) & Ministerstvo životního prostředí (MŽP). Program péče o bobra evropského. 2013. [online]. [cit. 2016-02-18]. Dostupné z: [http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/programy_pece/\\$FILE/ODO-bobr_evropsky_20140430.pdf](http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/programy_pece/$FILE/ODO-bobr_evropsky_20140430.pdf)

ČERNÝ, M., RYBÁK, M., SEDLMAYER, J. & VEJVODOVÁ, J. Hodnocení jakosti povrchových vod podle NEK a zařazení do jakostních tříd. Příloha Hydrologické ročenky České republiky 2014. Český hydrometeorologický ústav. 2015. [online]. [cit. 2016-03-25]. Dostupné z: <http://voda.chmi.cz/hr14/obsah.html>

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) Č. 1881/2006 ZE DNE 19. PROSINCE 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. [online]. [cit. 2016-02-18]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/HTML/?uri=CELEX:32006R1881&from=EN>

PROCHÁZKOVÁ, L., KOSOUR, D., LOŠŤÁKOVÁ, Z., GERIŠ, R., JAHODOVÁ, D. & HUSÁK, V. Souhrnná zpráva o vývoji jakosti povrchových vod v povodí Moravy ve dvouletí 2012–2013. Povodí Moravy, státní podnik, Brno. 2014. [online]. [cit. 2016-03-25]. Dostupné z: <http://www.pmo.cz/download/rocenka-2012-13.pdf>

VEJVODOVÁ, J., FREISLEBEN, J., HALÍŘOVÁ, J., KODEŠ, V., KOHÚT, L., LEONTOVYČOVÁ, D., STIERAND, P., SVÁTKOVÁ, M. & ŠERCL, P. Hydrologická bilance jakosti vody. Hydrologická ročenka České republiky 2014. Český hydrometeorologický ústav. 2015. [online]. [cit. 2016-03-25]. Dostupné z: <http://voda.chmi.cz/hr14/obsah.html>

8.3 Software

R CORE TEAM (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.