

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA

V PRAZE

Fakulta životního prostředí

Katedra ekologie



Diplomová práce

**Analýza kovů ve tkáních škeble říční (*Anodonta anatina*)
v řece Sázavě**

Analysis of metals in *Anodonta anatina* tissues in the river Sázava

Vedoucí práce: Mgr. Michal Bílý Ph.D.

Autor práce: Bc. Lukáš Vítek

Praha 2011

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Analýza kovů ve tkáních škeble říční (*Anodonta anatina*) v řece Sázavě“ vypracoval samostatně a s použitím odborné literatury uvedené v seznamu, který je součástí této práce.

V Praze dne 25. 4. 2011

Bc. Lukáš Víték

.....

Poděkování:

Touto cestou bych chtěl poděkovat Mgr. Michalovi Bílému Ph.D. za vedení mé práce, za věcné připomínky a také za jeho trpělivost. Dále bych chtěl poděkovat Doc. Mgr. Markovi Vachovi Ph.D. za pomoc při chemických analýzách a Ing. Danielovi Zahradníkovi Ph.D. za seznámení s programem R a pomoc se statistickým vyhodnocením. Za poskytnutí výsledků chemických rozborů vody děkuji Povodí Vltavy, státní podnik. V neposlední řadě děkuji Interní grantové agentuře (IGA) FLE ČZU v Praze za poskytnutí finančních prostředků na chemické analýzy.

Abstrakt

Práce se zabývá analýzou vybraných kovů (As, Cd, Pb, Cu) ve tkáních škeble říční (*Anodonta anatina*). Jako modelový tok byla vybrána řeka Sázava. Mlži byli odebráni z celkem 5 profilů (Pikovice, Nespeky, Sázava, Ledec nad Sázavou, Chlístov). Z každého profilu bylo odebráno 10 jedinců *Anodonta anatina* různého věku a vzorky říčních sedimentů pro analýzu kovů. Koncentrace kovů byly stanoveny v žábrách a svalovině nohy (**µg/g sušiny**). Stanovení bylo provedeno analytickou metodou generace hydridů (**HG AAS**) a atomovou absorpční spektrometrií s elektrotermickou atomizací (**ETA AAS**). Obsahy kovů v sedimentech byly analyzovány optickou emisní spektrometrií s indukčně vázanou plazmou (**ICP-OES**).

Byly testovány hypotézy na množství kovů ve tkáních v závislosti na podélném gradientu řeky, množství kovů v sedimentech a vodě. Dále byla zkoumána závislost na věku jedinců, velikosti, hmotnosti lastury a tkání a přítomnosti glochidií v žaberních lupenech. Byla vyhodnocována i distribuce kovů mezi žábrami a svalovinou. Výsledky prokázaly určité trendy v akumulaci kovů v sedimentech nebo ve tkáních. Obecně však nelze konstatovat stejné závěry u všech kovů, situace se liší v závislosti na typu tkáně a stanovovaného prvku.

Abstract

This study focuses on the analysis of As, Cd, Pb and Cu in the soft tissues of Duck mussels (*Anodonta anatina*). The Sázava River was selected as a model river, from which a total of **50** *Anodonta anatina* individuals were collected at 5 different profiles (Pikovice, Nespeky, Sázava, Ledec nad Sázavou, and Chlístov) (10 individuals per locality). At each locality, samples of river sediments were also taken for analysis of metals. The metals concentration was determined in the gills and foot (**µg/g dry weight**), using the hydride generation analytical technique (**HG AAS**) and atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization (**ETA AAS**). The metals content in the sediments has been determined with inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (**ICP-OES**).

It has also been tested hypothesis by number of metals in tissues that depends on the longitudinal gradient of the river, the amount of metals in sediments and water. It was also examined the addiction to the age of individuals, size, weight shells and tissues and the presence of glochidia in the gill leaves. The distribution of metal between the gills and muscle has been assessed as well. The results showed certain trends in the accumulation of metals in sediments or in tissues. Generally we can not say the same conclusions for all metals, the situation varies depends on tissue type and analysis element.

Klíčová slova:

Bioakumulace, biomonitoring, těžké kovy, sedimenty, *Anodonta sp.*, Sázava

Key words:

Bioaccumulation, biomonitoring, heavy metals, sediments, *Anodonta sp.*, Sázava

OBSAH:..... **CHYBA! ZÁLOŽKA NENÍ DEFINOVÁNA.**

1.	ÚVOD.....	6
1.1	Cíle.....	6
2.	KOVY V ŘÍČNÍCH EKOSYSTÉMECH	8
2.1	Původ a význam sedimentů	8
2.2	Formy kovů a migrace v říčním ekosystému	11
2.3	Remobilizační procesy	12
2.4	Imobilizační procesy	13
2.5	Vlastnosti a význam vybraných kovů a nekovů	16
3.	MLŽI JAKO BIOMARKERY	22
3.1	Biologie mlžů.....	23
3.2	Příjem polutantů a detoxikační mechanismy	24
3.3	Využití v zahraničí a v ČR.....	25
4.	PRAKTICKÁ ČÁST – ANALÝZA KOVŮ V <i>ANODONTA ANATINA</i>	27
4.1	Metodika	27
4.1.1	Lokalita a odběr vzorků	27
4.1.2	Zpracování vzorků	28
4.1.3	Rozklad tkání	28
4.1.4	Analýza ETA AAS a HG AAS	29
4.1.5	Zpracování dat	31
4.2	Výsledky	32
4.3	Diskuse.....	45
5.	ZÁVĚR.....	54
6.	SEZNAM TABULEK, GRAFŮ A OBRÁZKŮ.....	56
7.	POUŽITÁ LITERATURA	58
8.	PŘÍLOHY	62

1. Úvod

Tato práce je zaměřena na možnost využívání mlže *Anodonta anatina* pro účely biologického monitoringu. Mlži mají obecně schopnost akumulovat

toxické kovy ve svém těle a to je základní důvod proč jsou vhodné pro analýzu. Schopnosti akumulace se využívá pro monitoring látek, které se v prostředí vyskytují v malých, často neměřitelných množstvích, ovšem díky schopnosti hromadit se v organismech a vstupovat do potravních řetězců mohou představovat v ekosystémech rizika. Mezi nejčastěji sledované anorganické látky patří toxické (těžké) kovy, As, Pb, Cd, Hg, Ni, Cr, Zn, Cu nebo organické sloučeniny jako polychlorované bifenyly, organochlorové pesticidy, polycyklické aromatické uhlovodíky aj. Ve tkáních se tyto látky hromadí v čase, analýzou tak lze zjistit z časového měřítka dlouhodobější zatížení lokality. Pokud nejsou ve tkáních zjištěny významné hodnoty analyzovaných tkání, neznamená to však automaticky nepřítomnost těchto látek v prostředí. Polutanty se mohou hromadit v sedimentech a pokud se vyskytují v biologicky málo dostupné formě, je příjem organismy značně omezen. V takovém případě jsou polutanty imobilní v prostředí a takováto forma není akutně toxická pro vodní živočichy. Příkladem mohou být toxické kovy přítomné v sedimentu ve formě sulfidů (PbS, CdS), které jsou málo rozpustné a pro organismy málo dostupné. Analýza tkání dokáže odrážet kvalitu životního prostředí pro sledovanou skupinu živočichů (např. mlže) v dlouhodobějším časovém horizontu a je vhodné tyto výsledky doplňovat o údaje sledovaných polutantů i v sedimentu. Naměřené hodnoty ve vodě jsou další možností sledování zatížení ekosystému, toxické látky jsou však často pod mezí stanovitelnosti. Chemicko-fyzikálním rozбором vody se dají ovšem odhadovat procesy (imobilizační, remobilizační), které mají významný vliv na osud sledovaných látek. Pro kompletní monitoring stavu životního prostředí v aquatických ekosystémech a pochopení probíhajících procesů je zapotřebí provádět a vyhodnocovat výsledky na všech třech zmiňovaných úrovních. Proces akumulace je ovlivněn širokou škálou proměnných faktorů. Lze mezi ně zařadit faktory okolního prostředí jako chemicko-fyzikální vlastnosti vody, zeměpisnou délku popřípadě roční období. Dalšími faktory jsou fyziologický stav jedince, pohlaví a další individuální genotypové a fenotypové vlastnosti jedince nebo typ tkáně ve které jsou látky analyzovány (Burger et al. 2007, Liška 2007, Mubiana et al. 2006, Tomazelli et al. 2003).

Existuje řada zahraničních studií, kde se mlži používají jako modelové organismy pro biologický monitoring a studují se mechanismy příjmu a vylučování kovů (Santoro et al. 2009, Wagner & Boman 2004). Mlži se využívají pro biomonitoring ve slaných vodách (např. Brown & Luoma 1995) i ve sladkých vodách (např. Faria et al. 2010). Tato práce zkouší obdobný biomonitoring toxických kovů v podmínkách ČR na autochtonním druhu mlže *Anodonta anatina*. Její populační hustota na území ČR je relativně vysoká a jako modelový tok byla vybrána řeka Sázava. Pro objasnění procesů bioakumulace a snaha o pochopení hlubších souvislostí byly stanoveny také vybrané kovy v sedimentech a získány data z chemicko-fyzikálního rozboru vody.

1.1 Cíle

1. Zjistit, zda koncentrace kovů ve tkáních, sedimentech i vodě závisí na podélném

gradientu řeky.

2. Vyhodnotit distribuci sledovaných kovů mezi tkání žaber a svalnaté nohy *Anodonta anatina*
3. Vyhodnotit výsledky ve vztahu závislosti věku a velikosti jedinců na koncentraci kovů ve tkáních
4. Prozkoumat závislost koncentrace kovů ve tkáních na hodnotách kovů zjištěných v sedimentech a vodě
5. Pokusit se objasnit faktory, které ovlivňují distribuci kovů v říčním systému, dostupnost a akumulaci ve tkáních *Anodonta anatina*

2. Kovy v říčních ekosystémech

V heterogenních říčních systémech je distribuce kovů určována složitými chemicko-fyzikálními jevy. Klíčovou roli v geochemii kovů hrají sedimenty, na které se za určitých podmínek kovy i jiné polutanty sorbují a tím dochází k ukládání. Při změně podmínek prostředí může naopak docházet k uvolňování ze sedimentů a tím navyšovat koncentraci ve vodě. Složení říčních sedimentů určuje původ a s tím jsou spjaty i přirozené (geogenní) koncentrace kovů. Hodnota přirozené pozadové koncentrace kovů v sedimentu se obvykle zjišťuje v pramenné části toku nebo v místech či přítocích, kde se nepředpokládá vliv kontaminace lidskou činností a tato lokalita je porovnatelná se studovanou oblastí. Další možností je dostatečně hluboká sonda do sedimentů, které jsou dostatečného stáří a nemohly být významně ovlivněny lidskou činností. Právě antropogenními vlivy, zejména těžba nebo jiná průmyslová činnost v blízkosti řek, navyšuje koncentrace různých polutantů ve vodách a sedimentech. Do řek se tyto látky dostávají důlními či odpadními vodami nebo se do povodí dostanou smyvem z imisně zatěžovaného území či chemicky ošetřených zemědělských ploch. Následně dochází k sedimentaci, vazby kationů kovů na částice sedimentů a tím ke zvyšování koncentrací. Toxické kovy jsou velice persistentní látky v životním prostředí a nemohou být zcela chemicky či biologicky degradovány jako organické polutanty. Mohou být pouze vlivem chemicko-fyzikálních změn transformovány do jiných forem, iontů, anorganických nebo organických komplexů. Jestliže jsou kovy v určité formě dostupné pro organismy a dostávají se do potravních řetězců prostřednictvím primárních producentů, mohou se následně hromadit ve tkáních organismů vyšších trofických úrovní. Těžké kovy jsou toxické a v určitém množství mohou na organismus působit negativně, způsobují například neschopnost reprodukce, zpomalení růstu, tělesnou deformaci až smrt jedinců (Kovaříková 2010, Nábělková et. al. 2011, Svobodová et. al. 1996, Veselý 1994).

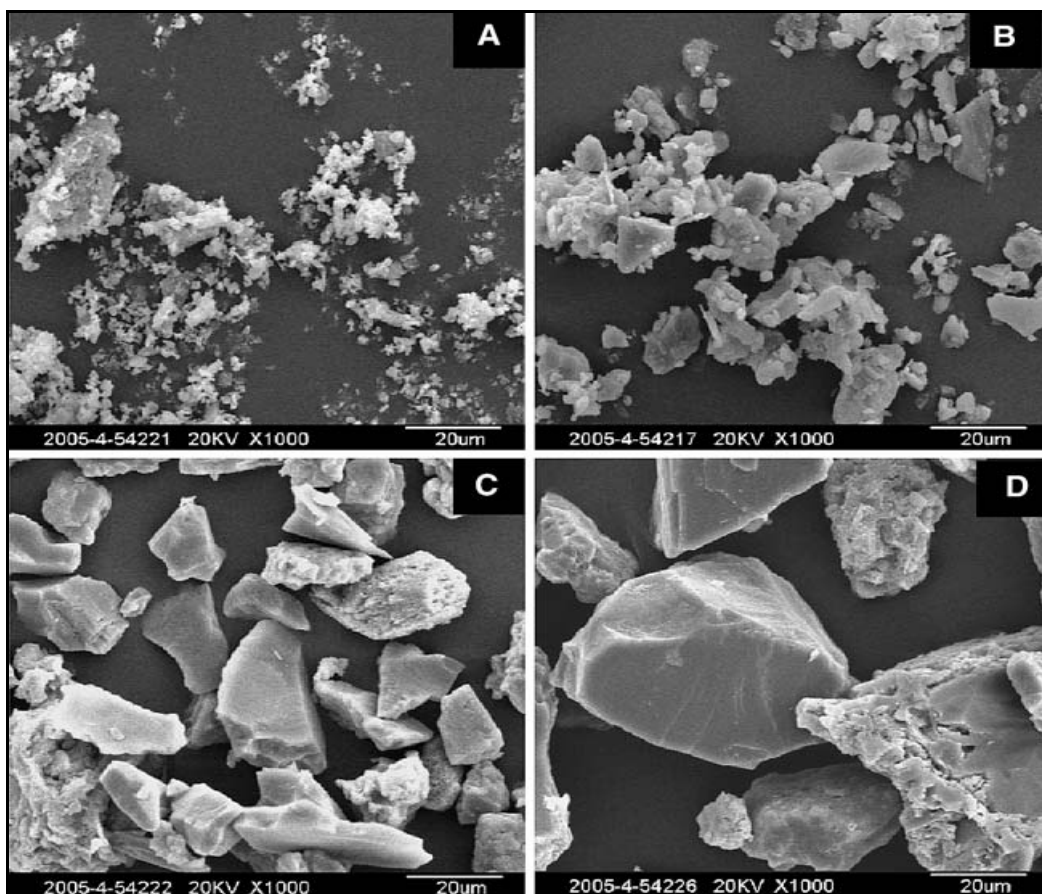
2.1 *Původ a význam sedimentů*

Podle původu se sediment rozlišuje do 3 typů. **Alogenní složka** vznikla mimo říční sediment a do toku se dostala transportem z povodí. Uplatňuje se smyv dešťovými srážkami a vodní eroze. Část pochází taktéž z okolních hornin a z průmyslových i komunálních odpadů. Sedimentaci ovlivňují hydraulické podmínky, zejména unášecí schopnost, která je závislá na rychlosti proudu a velikosti částic. Při velkých rychlostech dochází k transportu i hrubších frakcí v suspenzi s vodou, pohybem po dně nebo saltací a při poklesu unášecí schopnosti dochází k sedimentaci těchto částic. Dochází tak k ukládání různých zrnitostních frakcí dle nivelety toku. V horních úsecích, kde převažuje velká unášecí schopnost, sedimentuje převážně hrubozrnný materiál. Pokud unášecí schopnost toku postupně klesá, sedimentují podle toho jednotlivé zrnitostní frakce, takže v dolních úsecích řek jsou ukládány jemné částice. Výsledkem je tvorba sedimentů různých velikostních frakcí. Alogenní složku tvoří převážně jílové minerály a ostatní silikáty, úlomky různých hornin či minerálů. Dále jsou to rozpuštěné či nerozpuštěné organické látky pedogenního nebo antropogenního původu. **Endogenní (aquagenní) složka** sedimentů vzniká přímo ve vodě. Patří sem anorganické látky vzniklé srážením ve vodním sloupci, zejména oxyhydroxidy železa a manganu, karbonáty vápníku a hořčíku,

v anoxickém prostředí sedimentů sulfidy. Do této skupiny se zahrnují i anorganické látky např. SiO_2 , CaCO_3 , které byly součástí organismů nebo jejich schránek a po odumření se staly součástí sedimentů. Do endogenní složky sedimentů se řadí i biogenní úlomky a látky vzniklé degradací mikroorganismů při rozkladných procesech, fulvokyseliny, huminové kyseliny, polysacharidy, úlomky buněčných stěn atp. **Autigenní (diagenetická) složka** sedimentu vzniká sekundárně již v prostředí uložených sedimentů, ale ještě před jeho konsolidací. Tuto složku tvoří látky vzniklé přeměnou rozpuštěných i pevných látek, biogenních a detritických složek sedimentu. Jsou to produkty procesů, při kterých dochází k vnitřní reorganizaci. Mezi tyto procesy patří vylučování koloidů a mísení pevné minerální fáze s roztoky (Borovec 1994).

Základní petrografická klasifikace rozděluje sedimenty na klastické a cementační. **Klastické sedimenty** jsou sedimenty tvořené úlomky hornin, které byly na místo uložení transportovány v pevném stavu. Na základě velikosti úlomků se klastické sedimenty dělí na psefity, psamity, aleurity a pelity. Zhlediska říčních sedimentů představují psefity hrubozrnné štěrky nad 2mm. Mezery mohou být vyplněny menšími velikostními frakcemi. Psamity jsou klastické úlomky velikostně v rozpětí 0,063-2 mm. Patří sem říční písky, z nichž převažují zejména křemenná zrna. Aleurity jsou klastické sedimenty, v nichž převažují klasty o velikosti 0,004-0,063 mm. Jílové sedimenty jsou svým postavením v klasifikaci sedimentů na přechodu mezi klastickými a cementačními sedimenty, neboť jejich složky sedimentují buď jako úlomkovité částice zrnitostně odpovídající aleuritů, nebo se tvoří chemickým srážením z roztoků při sedimentaci. Z jílových minerálů v říčních jílech převládá kaolinit. **Cementační sedimenty** se klasifikují především na základě látkového složení. V cementačních sedimentech převládají tmelotvorné komponenty, které se při poměrně malých tlacích a v poměrně krátké době snadno spojují a tvoří zpevněný agregát. V říčních sedimentech představují tyto sedimenty zejména karbonáty vápníku (CaCO_3), hořčíku (MgCO_3) a jílové částice, které jsou na rozhraní s klastickými sedimenty (Zimák 2005)

V přírodních vodách jsou toxické kovy přítomny rozpuštěné ve formě iontů nebo vázané v různých anorganických či organických látkách. Chemicko-fyzikálními procesy dochází k adsorpci na částice nebo k vysrážení a toxické kovy se vlivem těchto dějů stávají součástí sedimentů, ve kterých se hromadí. V porovnání s vodou sedimenty vykazují vyšší koncentrace kovů a vypovídají lépe o celkovém zatížení lokality polutanty než stanovená okamžitá koncentrace ve vodě. Množství kovů v sedimentu je ovlivněno velikostí částic, z důvodu rozdílnosti velikosti povrchu nebo různého původu (obr. 1). Obecně platí, že jemnozrnné frakce např. jílové silikáty, oxidy a hydroxidy železa a manganu adsorbují více kovů než hrubozrnné klastické úlomky hornin a minerálů.



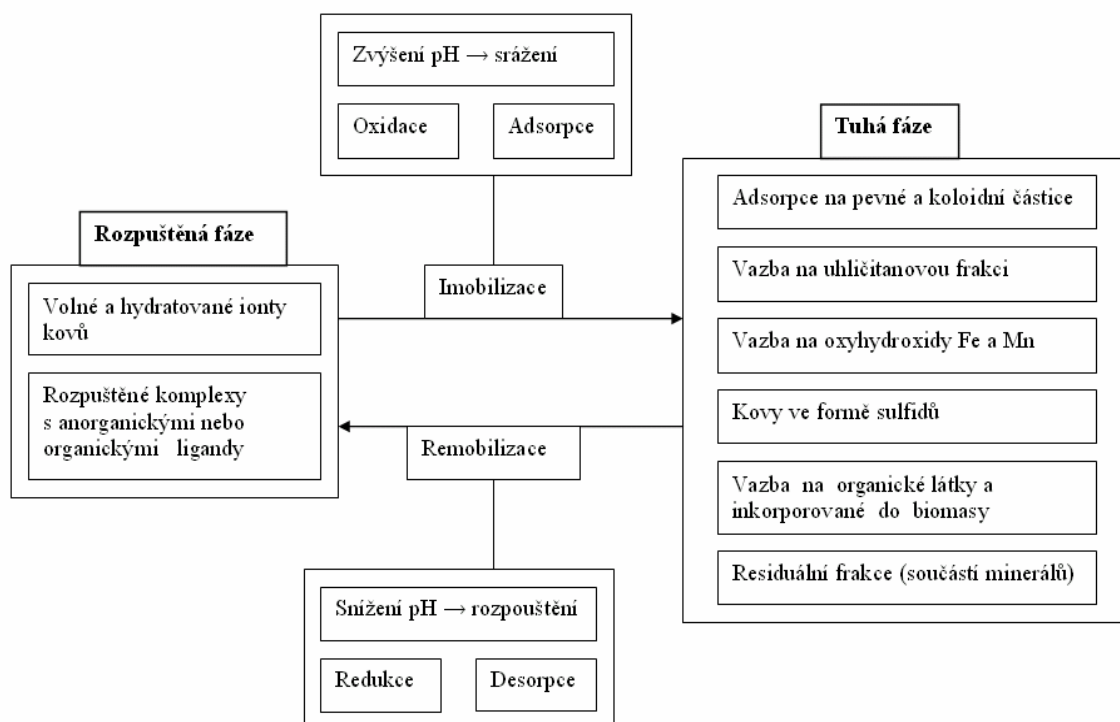
Obr. 1: Různé velikostní frakce sedimentu. A – jíl, B – jemné naplaveniny (bahno), C – jemnozrný písek, D – hrubozrný písek (Liu et al. 2006)

Póry mezi jednotlivými zrny sedimentu vyplňují intersticiální (intergranulární) roztoky. Při fyzikálních a fyzikálně chemických změnách v sedimentu jsou tyto roztoky převodními můstky při migraci toxických prvků z jedné složky sedimentu do druhé. Proto v intersticiálním roztoku jsou koncentrace rozpuštěných složek 100 až 1000násobně vyšší než v říční vodě. Ve fázi eroze, transportu a ukládání materiálu jsou komponenty sedimentu vystaveny zpravidla aerobnímu prostředí a tomu odpovídají i chemické procesy. Usazováním hmoty dochází k překrývání vrstev původního sedimentu. S rostoucí hloubkou dochází ke stále většímu omezení styku s vodou nad horní vrstvou sedimentů a dochází k omezené výměně intersticiálních roztoků s okolní vodou. V celé vrstvě sedimentů probíhá mikrobiální rozklad organické hmoty, za přítomnosti kyslíku probíhají aerobní reakce. V nižších vrstvách sedimentů dochází k vyčerpání kyslíku a k rozkladu dochází za anoxických až anaerobních podmínek, kde jsou k redukci místo kyslíku využívány sulfáty za vzniku sulfidů. V tomto prostředí bez kyslíku není většina minerálních látek stabilních a rozpouští se. Důležitou výjimku tvoří právě málo rozpustné sulfidy. Produkty těchto reakcí jsou součástí intersticiálních roztoků a mohou v sedimentech dosahovat vysokých koncentrací. K promísení sedimentů a uvolnění těchto roztoků do říční vody dochází několika procesy. Fyzikální disturbance sedimentu je jednou z hlavních procesů, při které je sediment narušován vlnobitím, říčními proudy, biologickou aktivitou, výrony plynů nebo lodními šrouby či jinou lidskou činností. K mísení intersticiálních roztoků dochází i tokem přes vrstvu sediment – voda, k němuž dochází difuzními silami, způsobenými velkými koncentračními rozdíly. Rozklad

organické hmoty je podmíněn biologickou aktivitou, která je závislá na teplotě vody. Bylo zjištěno, že např. v labských sedimentech dochází k uvolňování intersticiálních roztoků obsahující toxické látky ve větší míře v teplých letních měsících. (Borovec 1994, Kolpík et. al. 1997, Liu et. al. 2006).

2.2 *Formy kovů a migrace v říčním ekosystému*

Toxické kovy představují pro ekosystém přímé nebezpečí pokud jsou schopny migrace a vstupu do potravních řetězců. To je možné za předpokladu, že se vyskytují v určité formě (specii). Zásadní faktor určující schopnost migrace je náboj molekuly. Např. kation Zn^{2+} se bude sorbovat na částice sedimentu nebo koloidní částice v jiné míře než záporné iontové asociáty $[Zn(CO_3)_2]^{2-}$ nebo neutrální $[ZnCO_3(aq)]^0$. Formy kovů, které dokáží využít primární producenti se následně dostávají do vyšších trofických úrovní, kde jejich podíl v biomase stoupá. V případě živočichů živících se detritem, připadá také v úvahu příjem ze sedimentů a část také z koloidních částic. Významným vstupem do organismů je přechod jednoduchých rozpuštěných iontů kovů z vody. Toxické kovy ve formě sraženin (uhličitanů, sulfidů), komplexů s organickými látkami, kovy adsorbované na povrch částic nebo organickou hmotu, nejsou z vodního prostředí pro organismy tak lehce dostupné a kovy v těchto formách přijímají v omezené míře. Přechod specií kovů mezi rozpustnou a pevnou fází závisí na mnoha faktorech prostředí, pH, oxidačním stavu prvku, oxidačním nebo redukčním prostředí, teplotě, adsorpčními či desorpčními jevy, přítomností organických látek, konstantách stability různých sloučenin, chemických rovnováhách, množstvím rozpuštěných plynů nebo přítomností jiných kovů. Podle formy, do které kovy přecházejí, lze procesy rozdělit na remobilizační a imobilizační (obr. 2).



Obr. 2: Schéma základních forem výskytu kovů ve vodě. Uvedeny jsou i základní remobilizační a imobilizační procesy, které ve vodách probíhají za specifických chemicko-fyzikálních podmínek a umožňují přechod kovů do jiných forem (upraveno podle Fajtl 2001, Pitter 2009).

Ve vodním prostředí se ustanovuje rovnováha mezi rozpuštěnou a nerozpuštěnou fází. Znamená to, že se ve vodě (či sedimentech) kovy vyskytují ve více formách, v iontové formě i ve formě různých anorganických či organických komplexů. Čím jsou komplexy stabilnější, tím jsou méně toxické. Nejstabilnější formy kovů představuje tzv. residuální frakce. Atomy kovů jsou součástí hornin a minerálů a v této formě nejsou biologicky dostupné. Kovy v ostatních frakcích jsou závislé na chemicko-fyzikálních vlastnostech vody zmíněných výše (pH, oxidačně redukční podmínky, koncentrace atd.) Některé procesy nelze brát také jednoznačně za imobilizační či remobilizační. Např. oxidace anaerobních sedimentů s přítomnými sulfidy, vede k oxidaci těchto látek za vzniku více rozpustných sloučenin, které jsou labilnější k uvolňování kovů do prostředí. Na druhou stranu se v aerobním prostředí tvoří sraženiny jako oxyhydroxidy železa a manganu, které na svůj povrch dokáží poutat polutanty. (Kafka & Punčochářová 2002, Kolpík et. al. 1997, Kovaříková 2010, Svobodová et. al. 1996).

2.3 Remobilizační procesy

Důsledkem těchto procesů je vznik iontů kovů nebo sloučenin, které jsou ve vodě rozpustné. Kovy jsou v podobě iontů dostupné vodním organismům, snadno pronikají do jejich těl a proto jsou z hlediska toxicity nejzávažnější. Většina kovů se v rozpuštěné formě vyskytuje v podobě kationů (např. Pb^{2+} , Cd^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+}), v menší míře jako aniontové sloučeniny, např. CrO_4^{2-} , HAsO_4^{2-} . Do těchto jednoduchých forem přecházejí zejména změnou pH. U kovů vyskytujících se v podobě kationů s rostoucím pH roste i stabilita sloučenin. Tzn. klesá rozpustnost, tvoří se sraženiny nebo dochází k adsorpci na tuhou fázi. Tím se snižuje mobilita a biologická dostupnost. Při nízkém pH (<4) dochází k rozpouštění kovů a ke vzniku iontů, schopných migrace v ekosystému. Nízké pH způsobuje taktéž desorpci z povrchu jílových částic sedimentu a uvolňování do okolí. Naopak aniontové sloučeniny se vyskytují při vysokém pH v rozpuštěné formě a jsou schopny migrace v ekosystému. Dalším významným faktorem jsou oxidačně redukční podmínky prostředí. Tento vliv není jednoznačný a závisí na kovu a chemické formě. Redukční (anoxické až anaerobní) prostředí podporuje např. uvolňování manganu a železa ze sedimentu. V oxidačních podmínkách je ze sedimentu uvolňováno v rozpustné formě kadmium. Většina iontů nebo jednoduchých sloučenin přítomných ve vodě se váže s přítomnými anorganickými či organickými ligandy za vzniku komplexů (např. CuCO_3). Tyto rozpuštěné nebo nerozpuštěné komplexy již nepředstavují z hlediska akutní toxicity významné riziko, protože nedokážou do organismů přecházet přímo z okolí, čímž snižují biologickou dostupnost. Rozpuštěné kovy ve formě neasociovaných iontů se tak v běžných povrchových vodách vyskytují v malém množství. Např. při zjišťování distribuce mědi bylo k původním naměřeným hodnotám ve vodě $54 \mu\text{g.l}^{-1}$ přidáno dalších $800 \mu\text{g.l}^{-1}$. Z toho na volné kationy Cu^{2+} připadalo pouze $2,3 \mu\text{g.l}^{-1}$ (0,3%), $[\text{CuCO}_3(\text{aq})]^0$ $188 \mu\text{g.l}^{-1}$ (22%), komplexy s aminokyselinami $562 \mu\text{g.l}^{-1}$ (66%) a komplexy s humimovými látkami $100 \mu\text{g.l}^{-1}$ (11%). Převážná část byla přítomna v komplexech s organickými látkami. Při změně hydrochemických podmínek (kolísání pH aj.) mohou být komplexy ovšem zdrojem vzniku toxických forem kovů (Kubal et. al. 2002, Pitter 2009, Svobodová 1996).

Kromě chemicko-fyzikálních podmínek prostředí se uplatňují v přechodu forem kovů a změny jejich toxicity i mikroorganismy. Příkladem může být proces biomethylace rtuti, která probíhá v aerobních i anaerobních podmínkách a převádí rtuť z anorganické

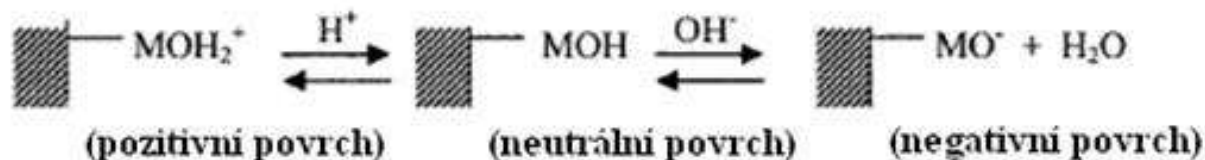
formy do organických. Hg^{2+} je redukována na Hg^0 nebo na CH_3Hg^+ (metylrtuť), která může vstupovat do potravních řetězců. Další methylací vzniká $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ (dimetylrtuť), která může být akumulována nebo vstupuje do atmosféry. Při procesu methylace dochází k enormnímu nárůstu toxicity sloučenin. Kromě rtuti k methylaci dochází i u As, Pb aj. (Kovaříková 2010, Pavliš 2005).

2.4 Imobilizační procesy

Tyto procesy vedou k vazbě rozpuštěných kovů na povrch jílových částic, oxyhydroxidů, organických částic a jiných záporně nabitých povrchů. Kromě adsorpčních mechanismů se uplatňují i další procesy. Při imobilizačních reakcích dochází k poutání nebo vzniku takových sloučenin, které nejsou schopny přímého vstupu z vody do organismů. Klíčovou roli hrají sedimenty, ve kterých se kovy v nerozpustné formě kumulují a ztrácejí tak schopnost snadné migrace v rozpuštěné formě (Bořek 2009).

Anaerobní podmínky v sedimentu

Velký povrch minerálních částic sedimentu dokáže poutat rozpuštěné formy kovů. Je to způsobeno záporným nábojem, který se na povrchu vyskytuje u většiny přírodních minerálů a proto může vázat kovy vyskytující se ve formě kladných kationů. Sedimenty jsou tvořeny zejména jílovými minerály. Jejich struktura je tvořena vrstevnatou krystalickou mřížkou s přítomností kladně nabitých centrálních atomů, které jsou obklopeny aniony O^{2-} a OH^- . Centrální atomy tvoří Al, Si, Fe a Mg. Pokud kladně nabité kationy těchto kovů vyrovnají záporný náboj okolních anionů, výsledný náboj silikátové vrstvy je neutrální. K tomu však dochází jen zřídka a z důvodu izomorfní substituce (iontové výměny) centrálních atomů, např. výměny $\text{Si}^{4+} \rightarrow \text{Al}^{3+}$ nebo $\text{Al}^{3+} \rightarrow \text{Mg}^{2+}$, dochází k převaze anionů a výsledný náboj vrstvy je záporný. Do krystalové mřížky mohou vstupovat i alkalické kovy a kovy alkalických zemin, výsledkem je opět záporný povrch. Další způsob vzniku celkového kladného nebo záporného povrchu je disociace povrchových funkčních skupin jako karboxylová (-COOH) a hydroxylová (-OH). Tyto skupiny jsou disociovány v závislosti na pH a povrch může být elektronegativní (při vysokém pH) nebo elektropozitivní (nízké hodnoty pH) (obr. 3). V prvním případě dochází k poutání kationů kovů, v druhém dochází naopak k desorpci a uvolňování do okolí. Určujícími faktory náboje povrchu pro oxidy a hydroxidy kovů jsou ionty H^+ a OH^- jak vyplývá z obrázku níže, kde M představuje kov na povrchu jílových částic.

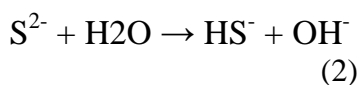
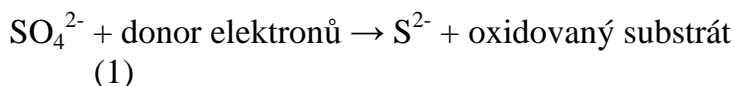


Obr. 3: Příklad vzniku povrchového náboje na částici disociací povrchové funkční skupiny. Vzniká elektronegativní povrch (poutání kationů kovů), neutrální povrch nebo elektropozitivní (desorpce kationů) (převzato z Bořek 2009).

Dle náboje povrchu dochází k poutání iontů kovů. Ve většině případů povrch vykazuje negativní náboj a dochází tak k adsorpci rozpouštěných kladných kationtů kovů (Cd, Pb, As, Zn, Cu aj.), kterou tak ztrácí biologickou dostupnost. Množství poutaných iontů závisí na velikosti povrchu částic sedimentu. Menší frakce mající vyšší specifický povrch dokáží navázat více kationtů než hrubší zrnitostní frakce. Schopnost sorbovat na svůj povrch nemají pouze částice sedimentu různé zrnitosti, ale také koloidní dispersní látky ve vodách (koloidy), v rozpětí cca 10 – 500 nm. Vlastností těchto částic je velký měrný povrch, desítky až stovky m².g-1. Přítomnost elektrického náboje na povrchu je příčinou velké adsorpční výměnné kapacity. Koloidy tvoří např. hydratované oxidy. Jejich povrchový náboj se mění s hodnotou pH. Při nízkých hodnotách převažuje kladný náboj povrchu a proto jsou vyměňovány přednostně anionty, zatímco při vyšších hodnotách pH prostředí převažuje záporný náboj povrchu a dochází k přednostní výměně kationtů. (Bořek 2009, Fajtl et al. 2001, Pitter 2009).

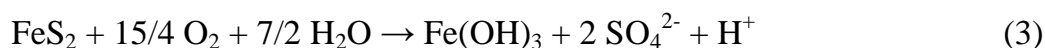
O r g a n i c k á h m o t a neboli huminové látky jsou další složkou sedimentu, která dokáže poutat ionty kovů. Dají se rozdělit do 3 typů, podle rozpustnosti a adsorpční schopností, na huminové kyseliny, fulvo kyseliny a humin. Huminové kyseliny jsou rozpustné v zásadách a nerozpustné v kyselinách, fulvo kyseliny jsou rozpustné v zásadách i kyselinách a huminy rozpustné nejsou. Z toho vyplývá, že pevnou fází organické hmoty tvoří huminy a huminové kyseliny, zatímco rozpuštěnou organickou složkou tvoří fulvo kyseliny. Adsorbce na povrch probíhá stejným principem jako u anorganických jílových částic, avšak měrný povrch dosahuje plochy až tisíce m².g-1. Povrch má vlivem disociace funkčních karboxylových a hydroxylových skupin záporný náboj, který vede k vazbě kladných částic. Kapacita organických látek je dána množstvím disociovaných karboxylových skupin, kterých je více u rozpuštěných fulvokyselin. Biologická dostupnost toxických kovů je také omezována tvorbou komplexů s huminovými sloučeninami. Stabilita komplexů se mění v závislosti na kovu a na pH prostředí. S rostoucím pH se stabilita komplexů zvyšuje díky vyšší disociaci funkčních skupin, zatímco při nízkém pH dochází k uvolňování kovů.

S p e c i f i c k é m i k r o b i á l n í p o c h o d y jsou třetím významným faktorem ovlivňující toxicitu kovů v anaerobním prostředí. Jde zejména o bakteriální redukci síranů (SO₄²⁻), kde jako produkt vznikají nerozpustné sulfidy (S²⁻). Tyto reakce probíhají bez přítomnosti kyslíku, který je jako oxidační činidlo nahrazen sírou. Bakterie tímto způsobem rozkládají organické látky různého původu v sedimentech. Vznikající sulfid ochotně vstupuje do reakcí s kovy za vzniku příslušného sulfidu, který se v sedimentu vysráží (např. As₂S₃, ZnS, CuS, HgS atd.) (1). Kromě sulfidů kovů vlivem disociace vody vznikají také hydrogensulfidy. Disociovaný kation vodíku je sírou vázán, snižuje se jeho koncentrace, tudíž je narušena rovnováha s OH⁻ ionty, které převažují. To je spojeno s prudkým vzestupem pH (2). Přitom vzrůstá vlivem srážecích reakcí a vyšší disociace funkčních skupin na povrchu částic k nárůstu schopnosti sedimentu adsorbovat kovy a tvořit stabilní komplexy. Tímto se riziko akutní toxicity snižuje (Fajtl et. al. 2001).

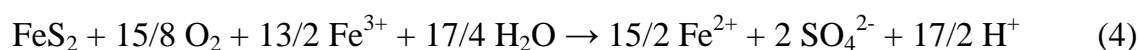


Aerobní podmínky v sedimentu

Oxidace sirných sloučenin probíhá při provzdušnění sedimentů a s tím spojenou změnou oxidačně redukčního prostředí. Principiálně je to obrácený proces mikrobiálních pochodů popsany výše. Sulfid je oxidován za vzniku síranů a hydroxidů, přitom vlivem volných vodíkových kationů dochází k prudkému poklesu pH. Rovnice (3) představuje oxidaci nejrozšířenějšího sulfidu FeS₂ (pyrit) (Fajtl et. al 2001):

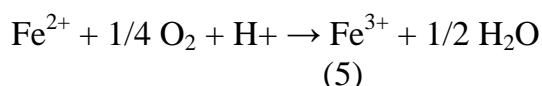


V oxidačních podmínkách zanikají i sulfidy ostatních kovů, které jsou jinak v redukčním prostředí stabilní. Uvolněné kovy ze sulfidů adsorbují na svůj povrch vznikající sraženiny oxyhydroxidů železa a manganu, jílových částic nebo uhličitánů. Toxické kovy v těchto formách nejsou tak stabilní jako ve formě sulfidů v ananerobním prostředí a při změně hydrochemických podmínek, zejména snížení pH, může docházet k desorpci a uvolňování do roztoků. Rovnice (3) probíhá tímto způsobem při pH > 2,3. S poklesem pH se mění rozpustnost hydroxidu železitého a pod hodnotou pH < 2,3 se v roztocích hydroxid železitý nevyskytuje a reakce probíhá podle (4) (Fajtl et. al 2001):

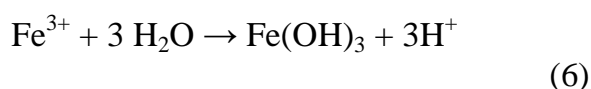


Při tomto procesu vzniká rozpuštěná forma železa Fe²⁺. Pevná fáze v podobě vysrážených hydroxidů, kde má železo oxidační stupeň III, se netvoří. Oxidaci sulfidů mohou značně urychlovat bakterie např. rodu Thiobacillus (Fajtl et. al 2001).

Oxidace železnatého iontu je dalším procesem ovlivňující distribuci toxických kovů. V aerovaném sedimentu probíhá reakce následovně (Mihaljevič & Šebek 1995):



Vzniklý železitý kationt Fe³⁺ následně reaguje s disociovanými OH⁻ ionty za vzniku nerozpustného hydroxidu železitého. Volný vodíkový kationt poté snižuje hodnotu pH (Mihaljevič & Šebek 1995):



Pokud jsou toxické kovy vázány v podobě sulfidů nebo železnatých sloučenin a dochází k aeraci sedimentu, rozběhnou se oxidační procesy, při nichž vzniká kyselina sírová nebo volné vodíkové kationty, které sediment okyselují. Kovy tak přecházejí ze stabilních, málo rozpustných sloučenin a vážou se na povrch jílových sedimentárních částic, oxyhydroxidů, uhličitánů nebo tvoří komplexy. S klesajícím pH také však klesá adsorpční schopnost, kovy přecházení do rozpustných forem a jejich koncentrace se v kapalně fázi

zvyšuje. Kovy se tak stávají mobilními a biologicky dostupnými a z hlediska akutní toxicity dochází nárůstu nebezpečnosti (Fajtl et. al. 2001, Mihaljevič & Šebek 1995).

Oxidace organické hmoty při provzdušnění sedimentů vede ke snížení sorpční kapacity. Při rozkladu dochází k uvolňování sorbovaných a komplexovaných polutantů do prostředí. Tento proces probíhá daleko pomaleji než oxidace sulfidů a železnatých iontů (Fajtl et. al. 2001).

2.5 Vlastnosti a význam vybraných kovů a nekovů

Železo (Fe)

Ve vodách a sedimentech se vyskytuje v oxidačních stupních Fe^{II} a Fe^{III} . Formy výskytu závisejí na hodnotě pH, oxidačně-redukčním potenciálu a komplexovných látkách přítomných ve vodě. Analyticky lze rozlišit železo rozpuštěné, nerozpuštěné, vázané v organické hmotě a celkové množství. Železo v oxidačním stupni Fe^{II} je více rozpustné a vyskytuje se v anoxickém až anaerobním redukčním prostředí zejména jako $\text{Fe}(\text{OH})_2$, při nízkém pH tvoří málo rozpustný FeS_2 . Rozpustnost těchto látek je dána složením vody a okolních podmínek, zejména hodnotou pH. V organicky neznečištěných vodách obsahujících hydrogenuhličitanu jsou převládající formou výskytu rozpuštěného Fe^{II} hydratované ionty Fe^{2+} nebo hydroxokomplex $[\text{FeOH}]^+$. Fe v oxidačním stupni III převládá v aerobních podmínkách v přítomnosti kyslíku. Mezi hlavní rozpuštěné formy Fe^{III} ve vodách patří v závislosti na hodnotě pH částice Fe^{3+} ($\text{pH} < 2$), $[\text{Fe}(\text{OH})_2]^+$, $[\text{Fe}(\text{OH})_3(\text{aq})]^0$ $[\text{Fe}(\text{OH})_4]^-$ ($\text{pH} > 10$). V málo rozpustné formě se Fe^{III} vyskytuje v podobě hydratovaného oxidu železitého $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ nebo amorfního $\text{FeO}(\text{OH})$, resp. $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Obecně tyto oxyhydroxidy mají schopnost poutat toxické kovy uvolněné při oxidaci organických látek nebo sulfidů. Železo je hlavní součástí dnových sedimentů a tak tyto sraženiny významně přispívají při svém velkém množství k imobilizaci toxických kovů. Pokud se oxidovaná Fe^{III} forma dostává postupně v profilu sedimentů do anaerobního prostředí, dochází vlivem redukčních reakcí na přechod do rozpustné formy Fe^{II} . Dále se může adsorbovat na povrchy jílových částic, tvořit sulfidy nebo se stává součástí pórových roztoků. Pokud se některým z procesů provzdušnění sedimentu dostane do prokysličeného prostředí, dochází k oxidaci na Fe^{III} a na tvorbu málo rozpustných sloučenin (5), (6). Jak bylo zmíněno, k imobilizaci toxických kovů dochází především adsorpcí na povrch sraženin oxyhydroxidů, čímž ovlivňují biologickou dostupnost těchto kovů. (Bořek 2001, Fajtl et. al. 2001, Pitter 2009)

Železo je biogenní prvek obsažený v železných rudách, zejména v FeS_2 , Fe_2O_3 aj. Tvoří hlavní složku sedimentů, kde se jeho obsah pohybuje v desítkách gramů v 1 kg sušiny. Zpravidla nemá na organismy negativní vliv. Pouze při vysokých koncentracích dochází k oxidaci Fe^{II} na Fe^{III} na alkalicky reagujících žábřách ryb a žaberní lístky pokrývají nerozpustné sraženiny Fe^{III} . Vlivem snížení respirační plochy žaber může docházet k udušení (Pitter 2009).

Mangan (Mn)

Mangan je po železe druhou hlavní složkou sedimentů a jeho obsah se pohybuje řádově v jednotkách gramů na 1 kg sušiny. Zvýšená koncentrace železa bývá doprovázena i zvýšeným obsahem manganu. Ve vodách se může vyskytovat v rozpuštěné i nerozpuštěné formě v oxidačních stupních II, III, a IV a dále také organicky vázaný. Mn^{II}

je stabilní v redukčních podmínkách bez přítomnosti kyslíku či jiných oxidačních činidel. Ve většině přírodních vod je rovnovážná koncentrace rozpuštěného manganu dána rozpustností $\text{MnCO}_3(\text{s})$. V neutrálním až slabě alkalickém prostředí je mangan přítomen převážně jako jednoduchý ion Mn^{2+} $[\text{MnHCO}_3]^+$. V sedimentech, za předpokladu redukce síranů na sulfidy za anaerobních podmínek, je předpoklad tvorby $\text{MnS}(\text{s})$. V aerobním prostředí dochází k oxidaci Mn^{II} na Mn^{III} a Mn^{IV} . Vznikají přitom málo rozpustné sraženiny MnOOH a MnO_2 . Tyto tuhé fáze stejně jako v případě železa dokáží na svůj povrch vázat toxické kovy a tím omezit jejich mobilitu v ekosystému (John & Leventhal 2011, Pitter 2009)

Z hlediska toxicity nepředstavuje mangan riziko v obvyklých koncentracích, pouze ovlivňuje organoleptické vlastnosti vody. Patří mezi esenciální prvky (Pitter 2009).

Hliník (Al)

Hliník představuje riziko pro vodní organismy. Jeho toxicita byla pozorována zejména na rybách, kdy při koncentraci ve vodě $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ výrazně snižoval růst plůdku pstruha duhového. Je také známa fytoxicita, kde se předpokládá negativní vliv na kořenový systém. Míra toxicity závisí, jako obecně u většiny prvků, na jeho formě. Ve vodách lze analyzovat hliník v rozpuštěné nebo nerozpuštěné formě, jako anorganicky nebo organicky vázaný. Přitom toxicitější jsou jednoduché rozpuštěné formy Al^{3+} . V této iontové formě se vyskytuje jako hydratovaný $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ v kyselé oblasti ($\text{pH} < 4,5$). Se zvyšujícím se pH přechází přes různé komplexy hydroxohlinitanů a v zásaditém prostředí převažují aniontové hydroxokomplexy $[\text{Al}(\text{OH})_6]^{3-}$. Kromě Al^{3+} se za toxické formy považují $[\text{Al}(\text{OH})]^{2+}$, $[\text{Al}(\text{OH})_2]^+$ a $[\text{AlSO}_4]^+$. Hliník v závislosti na pH tvoří významné množství komplexů s huminovými látkami. K maximální tvorbě těchto organických komplexů dochází při hodnotě $\text{pH} \approx 6$. Poklesem nebo vzrůstem hodnoty pH komplexační schopnost klesá. Komplexy s huminovými látkami, fluorokomplexy a křemičitanové komplexy se považují za netoxické. V závislosti na pH se z polynukleárních hydroxokomplexů postupně tvoří tuhá fáze jako hydratovaný oxid hlinitý $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot x \text{H}_2\text{O}$ (označovaný také jako amorfní $\text{Al}(\text{OH})_3$), jehož složení se mění časem. Tyto sloučeniny působí jako adsorpční činidla pro anorganické i pro organické látky a na svém povrchu dokáží poutat polutanty z prostředí a tím snižovat jejich biologickou dostupnost (Pitter 2009).

V přírodě je hliník hojně rozšířen ve formě hlinitokřemičitanů (albit, kaolinit, bauxit atd.). Antropogenním zdrojem hliníku jsou odpadní vody z povrchové úpravy hliníku a jeho slitin, z výroby papíru nebo barviv. Vlivem kyselých srážek nebo silně kyselých důlních vod dochází k větší migraci hliníku v půdě a tím dochází k dotaci podzemních i povrchových vod hliníkem (Pitter 2009).

Uhlík (C)

Uhlík v anorganických sloučeninách významně ovlivňuje tzv. uhličitanovým systémem složení a vlastnosti vod. Tento systém je tvořen formami CO_2 – HCO_3^- – CO_3^{2-} . Koncentrace volného CO_2 obsaženého v povrchových vodách se pohybuje řádově v desetinách až jednotkách mg.l^{-1} . Ve stojatých povrchových vodách dochází k vertikální stratifikaci vlivem fotosyntetické asimilace. V horních vrstvách může docházet k poklesu CO_2 , v krajních případech i k vyčerpání a vzrůstu pH. Naopak v hlubších vodách lze zaznamenat vyšší obsahy CO_2 . Hydrogenuhlíčitany (HCO_3^-) jsou běžnou součástí povrchových vod. Při vyšším pH a dostatečných koncentracích vznikají málo rozpustné karbonatkomplexy jako např. ZnCO_3 , CdCO_3 , CuCO_3 , ale zejména CaCO_3 či MnCO_3 . Na jejich povrchu dochází k vazbě kovů a k jejich imobilizaci v prostředí. CO_3^{2-} se ve

vodách uplatňuje až při vysokých hodnotách pH >8,3. Avšak vlivem reakce s vápníkem dochází okamžitě ke vzniku málo rozpustného CaCO₃ (Pitter 2009).

Síra (S)

Síra se ve vodách vyskytuje anorganicky nebo organicky vázaná v oxidačních formách –II (H₂S a iontové formy HS⁻ a S²⁻), 0 (elementární síra S⁰), II (S₂O₃²⁻), IV (SO₃²⁻) a VI (SO₄²⁻). Koloběh těchto sloučenin síry je založen především na jejich biochemických přeměnách, to je příklad redukce síranů na nižší oxidační stupně. Oxidace sulfidických sloučenin probíhá chemicky i biochemicky. Z hlediska tvorby sloučenin síry s kovy hraje významnou roli síra ve formě sulfidu S²⁻. Za anaerobních podmínek dochází ke vzniku málo rozpustných sraženin FeS, HgS, ZnS, PbS aj. Tyto stabilní, málo rozpustné sulfidy tvoří zejména kovy v oxidačním stupni II. V sedimentech a intersticiálních roztocích, kde dochází často k deficitům kyslíkum tak sulfidy tvoří významnou část imobilizovaných, málo rozpustných sloučenin kovů (Pitter 2009, Large et al. 2011).

Vápník (Ca), hořčík (Mg), draslík (K) a sodík (Na)

Tyto esenciální prvky jsou ve vodách hojně zastoupeny. Sodík a draslík se vyskytují převážně jako jednoduché kationy Na⁺ a K⁺, protože jejich komplexační schopnost je malá. Ca²⁺ a Mg²⁺ se také vyskytují v rozpuštěné formě jako jednoduché kationy, ale tvoří i uhličitanu, jejichž rozpustnost je dána obsahem CO₂ ve vodě. Pro svoji značnou rozšířenost ve vodách tvoří konkurenci při adsorpci či izomorfní substituci, na jejichž místa se mohly vázat toxické kovy s podobnými vlastnostmi (Pitter 2009, John & Leventhal 2011).

Kadmium (Cd)

Kadmium patří mezi velmi toxické kovy, řadí se mezi potencionální karcinogeny. Má schopnost vysoké akumulace v biomase a sedimentech. Na vodní organismy působí již při koncentracích jednotek až desítek µg.l⁻¹, nejcitlivější na jeho přítomnost jsou lososovité ryby. Vyskytuje se v oxidačním stupni II. V rozpuštěné formě se vyskytuje jako kationt Cd²⁺, hydroxokomplex [CdOH]⁺, karbonatokomplex [Cd(CO₃)₂]²⁻ a jiné iontové formy. S huminovými látkami tvoří kadmium organické komplexy. Komplexační schopnost je malá a v málo mineralizovaných či organicky neznečištěných vodách mohou při neutrální nebo kyselé reakci pH převažovat formy Cd²⁺, CdOH₂(aq) či CdCO₃(aq). Tyto formy představují z hlediska toxicity riziko a jsou částečně sorbovány na povrchu oxyhydroxidů železa a manganu a karbonátů. Tyto vazby jsou náchylné na změny hydrochemických podmínek a při jejich změně může docházet k uvolnění do okolí. V anaerobních podmínkách mohou koncentrace rozpuštěných forem do značné míry ovlivňovat adsorpční procesy na huminové látky a tvorba velmi málo rozpustných sulfidů CdS (John & Leventhal 2011, Pitter 2009).

Zdroje kadmia představují fosforečnanová hnojiva, aplikace čistírenských kalů v zemědělství, atmosférická depozice (spalování plastových odpadů, fosilních paliv), odpadní vody z galvanického pokovování či výroby Ni-Cd článků (Kafka & Punčochářová 2002, Pitter 2009).

Arsen (As)

Arsen patří mezi značně jedovaté prvky, vykazuje vysokou kumulaci v plaveninách a říčních sedimentech a pro svoje vlastnosti je značně mobilní v ekosystému. V organické hmotě je vázán méně než v anorganických sloučeninách. Z toho vyplývá, že nemá vysokou kumulační schopnost ve tkáních oproti jiným prvkům (např. Cd nebo Hg). V organismu zasahuje do enzymatických a biochemických dějů, kde mimo jiné nahrazuje fosfor. Vyskytuje se v oxidačních stupních III a V, přičemž sloučeniny kde je arsen ve formě As^{III} jsou toxicitější než formy arseničné. V anaerobních až anoxických podmínkách převažuje As^{III} v největší míře jako nedisociovaná H_3AsO_3 nebo za přítomnosti sulfidů jako málo rozpustný As_2S_3 . Za přítomnosti kyslíku převažuje As^{V} , ale v závislosti na pH může existovat i As^{III} . Oxidace probíhá chemickou nebo i biochemickou cestou, avšak rychlost oxidace kyslíkem rozpuštěným ve vodě je malá. As^{V} se vyskytuje v neutrálním a alkalickém prostředí v iontové podobě jako H_2AsO_4^- a HAsO_4^{2-} . Za anoxických podmínek může být As^{V} redukován na As^{III} fulvinovými nebo huminovými kyselinami. Redukce probíhá poměrně snadno i za přítomnosti sulfidů, které jsou častou součástí dnových sedimentů. Biochemickou cestou se mohou tvořit různé methylderiváty. Z hlediska biologické dostupnosti sloučenin arsenu hrají důležitou roli hydratované oxidy železa a manganu, které na svůj povrch dokáží adsorbovat významné množství arsenu. Při anoxických podmínkách dochází k postupné redukci na As^{III} a sorbované sloučeniny přechází do kapalné fáze. Při anaerobních podmínkách dochází k další redukci a k tvorbě sraženin sulfidů (Petrolid 1998, Pitter 2009, Száková et. al. 2007).

V přírodě se přirozeně vyskytuje v podobě sulfidů (např. FeAsS) a je častou součástí různých hornin a půd. Jejich zvětráváním se dostává do vod. Nekontaminované půdy obsahují přirozeně od 2 do 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Antropoenním zdrojem arsenu je spalování fosilních paliv (v hnědém uhlí může být až 1,5 g na kilogram uhlí), hutní a rudný průmysl nebo aplikací některých pesticidů (Petrolid 1998, Pitter 2009, Svobodová 1987).

Olovo (Pb)

Olovo má vysoký akumulací koeficient a významně se hromadí plaveninách, sedimentech, kalech, ale i v biomase organismů a rostlin. Pro svou toxicitu představuje v ekosystémech riziko. Škodlivé účinky na organismy spočívají v tvorbě silné vazby se kupinou $-\text{SH}$ v thiolech, které jsou součástí některých enzymů, inhibuje tvorbu hemoglobinu a negativně působí na červené krvinky a nervový systém. Působí neurotoxicky a považuje se za potenciální karcinogen. Olovo se vyskytuje v oxidačním stupni II a v přírodních vodách v kyselé oblasti převažuje v rozpuštěné formě jako jednoduchý kation Pb^{2+} . V neutrálních až slabě alkalických podmínkách převládá karbonatokomplex $[\text{PbCO}_3(\text{aq})]^0$. V alkalické oblasti olovo tvoří ve větší míře hydroxokomplexy $[\text{PbOH}]^+$ a dikarbonatokomplexy $[\text{PbCO}_3(\text{aq})]^0$. Množství rozpuštěného olova určuje především rozpustnost $\text{PbCO}_3(\text{s})$, který se více rozpouští za přítomnosti CO_2 a v kyselém prostředí. Za přítomnosti jiných anorganických ligandů se váže olovo např. v síranech, sulfidech nebo zmíněných uhličitanech. V anaerobních podmínkách je olovo vázáno v málo rozpustných sulfidech a v organické hmotě. V oxických podmínkách se je olovo vázáno na povrchy oxyhydroxidů železa a manganu a na uhličitánovou frakci (John & Leventhal 2011, Pitter 2009).

Přirozeně je obsažen v olověných rudách, zejména v PbS . Ve vodách se koncentrace olova pohybují v jednotkách až desítkách $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Zejména v minulosti byly významným antropogenním zdrojem olova výfukové plyny motorových vozidel obsahující rozkladné produkty teraethylplumbu. Důsledkem toho bylo hromadění olova na vegetaci v okolí komunikací, znečišťování atmosférických vod a odtud i vod povrchových a podzemních. Dalším zdrojem mohou být odpadní vody ze zpracování rud,

z varevné metalurgie, z výroby akumulátorů a ze sklářského průmyslu (Kafka & Punčochářová 2002, Pitter 2009, Svobodová 1987).

Měď (Cu)

Měď se řadí mezi esenciální prvky, ovšem zejména pro vodní organismy je značně toxická. Je součástí některých algicidních preparátů (CuSO_4) a používá se při korekci rozvoje řas a sinic. Toxicky působí především jednoduchý ion Cu^{2+} ($\text{pH} < 5$), dále $[\text{CuOH}]^+$ a $[\text{Cu}(\text{OH})_2]^0$. Ve vodách se vyskytuje především v oxidačním stupni II a ze všech prvků vykazuje největší schopnost tvorby komplexů s anorganickými i organickými ligandy. Měď proto tvoří spoustu sloučenin. Kromě výše zmíněných toxických rozpustných forem tvoří dále uhličitánové komplexy $[\text{CuCO}_3(\text{aq})]^0$, který může být v neznečištěných vodách s dostatkem CO_2 převládající rozpuštěnou formou, $[\text{Cu}(\text{CO}_3)_2]^{2-}$ a další karbonatokomplexy. Značně stabilní jsou také amminkomplexy $[\text{Cu}(\text{NH}_3)]^{2+}$ až $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_5]^{2+}$ a také kyanokomplexy. Tyto sloučeniny připadají v úvahu zejména v odpadních průmyslových vodách. V anaerobních podmínkách sedimentů se mohou tvořit málo rozpustné sulfidy CuS , čímž limitují obsah rozpuštěných forem mědi. Za přítomnosti fosforečnanů se mohou jako tuhé fáze vylučovat $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2(\text{s})$ a jiné sloučeniny, ve vodách obsahující sírany např. $\text{Cu}_3(\text{OH})_4\text{SO}_4(\text{s})$. Velmi stabilní komplexy tvoří měď také s organickými ligandy jako fulvokyseliny huminové látky, aminokyseliny, peptidy, produkty životní činnosti řas aj. V povrchových vodách obsahující tyto ligandy, mohou rozpuštěné organokomplexy vysoce převažovat nad anorganickými sloučeninami. Rozpustnost mědi ve vodách je v kyselé oblasti limitována rozpustností dihydroxid-uhličitánu měďnatého (malachit) $\text{Cu}_2\text{OH}_2\text{CO}_3(\text{s})$ a v neutrální a alkalické oblasti rozpustností hydroxidu měďnatého $\text{Cu}(\text{OH})_2$. Koexistence těchto sloučenin je závislá na rozpouštěném CO_2 a při jeho dostatku převládá forma malachitu. Průměrné pozadové koncentrace rozpouštěné Cu se za nepřítomnosti organických ligandů v přírodních povrchových vodách pohybují přibližně v desetinách až jednotkách $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, kdežto u podzemních vod se udává až $20 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Z výše uvedeného vyplývá, že měď je vázána zejména v uhličitanech a na povrchu oxidů železa a manganu. Kvůli vysoké komplexační schopnosti však záleží na přítomnosti různých ligandů a mobilita vyplývá z rozpustnosti těchto látek za určitých okolních podmínkách (John & Leventhal 2011, Pitter 2009)

V přírodě se měď vyskytuje nejčastěji ve formě sulfidů (např. chalkopyrit CuFeS_2 aj.), ze kterých se může do vod dostávat jejich zvětráváním. Význam mají i hydroxid-uhličitany malchit a azurit. Antropogenním zdrojem mědi mohou být odpadní vody z povrchové úpravy kovů a z aplikace některých algicidních preparátů, které se aplikují proti nadměrnému rozvoji řas a sinic. Do prostředí se může dostávat i atmosféricou depozicí v okolí hutních závodů (Kafka & Punčochářová 2002, Pitter 2009).

Zinek (Zn)

Zinek se řadí mezi esenciální stopové prvky. Je součástí některých enzymů a účastní se řady biologických a biochemických funkcí. Toxicita zinku se projevuje zejména u ryb a jiných vodních organismů, kde se negativní účinky mohou projevit již při koncentracích desetin $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Toxicita značně závisí stejně jako i u jiných kovů, na složení vody. Rozpuštěné formy zinku tvoří jednoduché ionty Zn^{2+} , hydroxokomplexy $[\text{ZnOH}]^+$, $[\text{Zn}(\text{OH})_2(\text{aq})]^0$, $[\text{Zn}(\text{OH})_3]^-$ aj., dále karbonatokomplexy např. $[\text{ZnCO}_3(\text{aq})]^0$. Ve vodách s vysokou koncentrací síranů se tvoří sulfatokomplexy $[\text{ZnSO}_4]^0$ a k tvorbě komplexů dochází i s jinými ligandy, např. kyanokomplexy, aminkomplexy nebo chlorkomplexy. Netvoří však dominující složku a připadají ve větší míře v úvahu pouze u specificky znečištěných vod. Zinečnatý kation Zn^{2+} má poměrně nízkou hydrolytickou konstantu a jeho komplexační schopnosti jsou podstatně menší než např. u mědi. Proto v neutrální a

kyselé oblasti v méně mineralizovaných a organicky málo znečištěných vodách může jednoduchý ion Zn^{2+} dominovat nad ostatními formami výskytu. Při dostatku rozpuštěného CO_2 převažují karbonatokomplexy $[ZnCO_3(aq)]$. V přírodních vodách je množství rozpuštěného zinku limitováno zejména rozpustností uhličitánů $ZnCO_3(s)$ a hydroxid-uhličitánů $Zn_5(OH)_6(CO_3)_2(s)$ nebo v silněji alkalickém prostředí ($pH > 8$) hydroxidů $Zn(OH)_2$. Jednotlivé formy převládají v závislosti na množství rozpuštěného CO_2 a na pH . V anaerobních podmínkách za přítomnosti sulfidické síry dochází k tvorbě málo rozpustných sulfidů ZnS . Zinek je za oxických podmínek nejvíce vázán v uhličitánových sloučeninách a na oxidech kovů, při vysokém pH v hydroxidech. Dále zinek tvoří sloučeniny s organickými ligandy a imobilní formy sulfidů vznikají za anaerobních podmínek v přítomnosti síry. V povrchových i podzemních vodách bývá přirozená koncentrace rozpuštěného zinku v rozsahu 5 až 200 $\mu g \cdot l^{-1}$, v půdách cca 80 $mg \cdot kg^{-1}$. (John & Leventhal 2011, Pitter 2009).

Nejvíce zinku obsahují rudy sfalerit (ZnS) a smithsonit ($ZnCO_3$). Antropogenním zdrojem zinku v přírodních vodách je především atmosférický spad. Do atmosféry se dostává při spalování fosilních paliv a při zpracování neželezných rud. Z průmyslových odpadních vod obsahují zinek např. vody ze zpracování zinkových rud, z mořren mosazi, z elektrotechnických výrob a z povrchové úpravy kovů (Pitter 2009).

Rtuť (Hg)

Rtuť vykazuje velice vysokou akumulární schopnost a patří mezi prvky, které se nejvíce hromadí v organismech. V 50. a 60. letech minulého století došlo v zálivu Minamata k otravě rybářských rodin otravou rtuť, která byla obsažena v rybím mase. V mořské vodě byla naměřena poměrně nízká koncentrace rtuti v rozmezí od 0,1 do 1 $\mu g \cdot l^{-1}$, avšak v rybím mase bylo nalezeno množství od 6 do 25 $mg \cdot kg^{-1}$, Pitter (2009) uvádí až 50 $mg \cdot kg^{-1}$ (vztaženo na mokrou hmotnost). Důvodem vysoké toxicity je velká afinita rtuti k sulfidické síře, což vede k značné reaktivitě s thioskupinou $-SH$, která je součástí aminokyselin. Tyto sloučeniny rtuti inhibují některé enzymové reakce, které vedou k poškození organismu. Míra toxicity závisí na chemické formě rtuti. Z anorganických sloučenin se ve vodách vykytují především elementární rtuť Hg^0 , kationt Hg^{2+} , $[HgOH]^+$ a v přítomnosti jiných ligandů tvoří sloučeniny s nimi (chlorokomplexy). Rtuť také ochotně reaguje s organickými ligandy a tvoří stabilní komplexy s huminovými látkami, které mohou ve vodách převažovat. Mezi méně mobilní formy lze zahrnout elementární rtuť, která vzniká redukcí z iontových forem a uniká v plynné formě do atmosféry. Málo rozpustné sloučeniny tvoří i $HgO(s)$ a za přítomnosti sulfidické síry v anaerobních podmínkách velmi málo rozpustný HgS . Z hlediska toxicity je jsou významné sloučeniny organických methylderivátů. Transformace na tyto látky probíhá zejména biochemickými reakcemi procesu methylace. Výsledkem mikrobiální methylace je methylhydrargyrium CH_3Hg^+ (methylrtuť) a dimethylhydrargyrium $(CH_3)_2Hg$ (dimethylrtuť). Tyto formy vykazují vysokou bioakumulaci v rámci potravního řetězce a jsou obsaženy především v rybách, kde mohou tvořit asi 95% celkové rtuti. A právě methylderiváty rtuti způsobily otravu rybářů v zálivu Minamata, zmíněné na začátku odstavce (Kovaříková 2010, Pitter 2009).

Hlavní rudou obsahující rtuť je cinbarit HgS (rumělka). Významným antropogenním zdrojem je atmosférická depozice, kam se dostává pražením některých sulfidických rud s příměsí rtuti nebo spalováním fosilních paliv. Dalším zdrojem mohou být některé průmyslové odpadní vody z úpravy rud, z elektrolýzy $NaCl$ amalgámovým způsobem aj. Zdrojem mohou být i sedimenty a půdy, které jsou dlouhodobě ve styku s kontaminovanou vodou (Pitter 2009).

3. Mlži jako biomarkery

Biomarker je definován jako změna biologické odpovědi (na úrovni molekulární, fyziologické, morfologické i populačních změn), která je spojena s expozicí toxické látky v prostředí (van der Oost et. al. 2002). Je to produkt biologické reakce, která je vyvolána toxickým účinkem chemických látek. Tyto změny se dají měřit různými metodami uvnitř organismu nebo se dají určit z výkalů, moči, srsti, peří atd. Tyto změny poukazují na odchylku od normálního stavu. Znečišťující látky spolu s dalšími stresovými situacemi spouštějí kaskádu biologických odpovědí, biochemické, fyziologické, genetické, histologické a morfologické, z nichž každá může teoreticky sloužit jako biomarker. Příkladem může být enzym acetylcholinesteráza (ACHE), který se řadí mezi neurotoxické ukazatele. Tento enzym zajišťuje u obratlovců správné fungování smyslových systémů. ACHE inhibují organofosfátové pesticidy. Např. u juvenilních ryb pstruha byla vlivem inhibice ACHE pozorována změna v plavání a u platýše byla pozorována významná korelace ACHE s gradientem znečištění v severním moři. Tento enzym se využívá v laboratorních experimentech i u mlže *Mutilus edulis* a využívá se i u lidí, kde se stanovuje ve vzorku krve (Valavanidis & Vlachogianni 2011). Kromě zmíněného ACHE, který patří mezi neurotoxické ukazatele existují další enzymy a metabolické produkty, které lze rozdělit mezi ukazatele hematologické, reprodukční, genotoxické, imunologické, histologické, morfologické, enzymy biotransformační, produkty biotransformace a stresové proteiny. Stanovení koncentrací látek analytickými metodami v biomase organismů však nepředstavuje biomarker v pravém slova smyslu, neboť neposkytuje informaci o biologických odezvách a nepoukazuje na zdravotní stav. Van der Oosten et al. (2002) je v takovém případě používán termín markery bioakumulace. Nelze totiž použít ani termín bioindikátor, který vypovídá o kvalitě prostředí pouze svou přítomností či nepřítomností, popřípadě chováním (van der Oost et. al. 2002).

Mlži mají schopnost akumulace různých chemických látek ve svém těle a proto se využívají pro monitoring životního prostředí. Ve tkáních hromadí toxické kovy i organické polutanty (PAU, PCB, DDT, organochlorové pesticidy aj.). V prostředí se tyto látky vyskytují v nízkých koncentracích, často pod mezí detekce. Koncentrace zjištěné analytickými metodami mohou být ve vodě velice nízké, nicméně kvůli vysoké bioakumulační schopnosti mohou v sedimentech nebo biomase organismů představovat významné hodnoty. Organismy využívané k biomonitoringu musí splňovat několik požadavků. Mlži disponují řadou výhodných vlastností. Jejich migrace během života je malá, tím je v souboru vzorků zajištěno, že všichni jedinci pochází z lokality, kde se vyskytovali po celý život a působily na ně stejné vlivy. Mají schopnost bioakumulace studovaných látek z prostředí a velcí mlži mají dostatečnou hmotnost pro zajištění dostatečného množství vzorku. Výhodou je také dlouhověkost. Zejména analýzou lastury byly prováděny pokusy za účelem zjištění expozice, které byli chronologicky během života jedinci vystaveni. Na studovaných lokalitách se musí studované druhy mlžů vyskytovat v dostatečném množství a úsilí při odběru vzorků musí být přijatelné. Pro využívání mlžů pro monitoring toxických látek je vhodné využívat druhy, které jsou geograficky rozšířené a frekventované, pro případné srovnávání výsledků. Další důležitou podmínkou je vysoká tolerance ke studovaným látkám. Proces akumulace kovů organismy je složitý a ovlivňují ho různé faktory. Příjem ovlivňují chemicko-fyzikální vlastnosti vody, jako pH, množství rozpuštěných látek organických i anorganických,

oxidační stupeň přijímaného kovu, teplota, roční období. Nejdůležitější z těchto procesů jsou popsány v kapitole Kovy v říčních ekosystémech. Z biologického hlediska ovlivňuje příjem kovů fyziologický stav jedince, tzn. kondice, metabolismus, reprodukční stav a stáří jedince (Tomazelli et al. 2003, Mubiana et al. 2006). Kromě mlžů (zejména *Dreissena polymorpha* nebo *Mytilus edulis*) se jako biomarkery využívají ryby nebo makrozoobentické organismy (Liška 2007).

3.1 *Biologie mlžů*

(převzato z Vítek 2009)

Tělo mlžů je z boku zploštělé, kryté dvěma souměrnými lasturami, které jsou na hřbetní straně spojené pružným vazem. Lastury jsou vylučovány pláštěm vystylajícím jejich vnitřní stranu. Otevírání a zavírání zajišťují dva příčné svaly, svěrače, které se upínají přímo na lastury. Otvor mezi lasturami umožňuje vysunutí svalnaté nohy, která slouží k pohybu jedince, např. rod *Anodonta* se pohybuje rychlostí 1,5 – 2 m za hodinu. U sláviček je noha silně redukována a místo ní se nachází žláza, která vylučuje byssová vlákna. Těmito vlákny se slávička přichytává k podkladu. Na zadním konci lastury okraje pláště těsně přiléhají a vytváří dva otvory. Spodním otvorem, přijímacím (branchiálním), přijímají mlži do plášťové dutiny vodu s potravou a horním otvorem, vyvrhovacím (análním), vodu z těla včetně exkrementů vylučují. Střední a hřbetní část těla mlžů se označuje jako trup, který přechází plynule ve svalnatou nohu. Mezi trupem a pláštěm volně visí listovité žábry. U třídy mlžů není vyvinuta hlava (Lellák et al. 1985, Buchar et al. 1995).

Potravou mlžů je detritus dna, který je zviřován při pohybu jedince a nasáván do branchiálního otvoru a dále bakterie a fytoplankton, který je filtrován z vody. Proudění vody je způsobeno kmitáním řasinek obrveného epitelu, který pokrývá ústí branchiálního otvoru, vnitřní stěnu pláště, žábry i útroby. V žaberním prostoru se částice potravy přichytávají na hlen pokrývající všechny vnitřní plochy a pohybem brv jsou vedeny k ústnímu otvoru, kde jsou pohlcovány. Přiváděná voda do žaberního prostoru omývá žábry a dochází k výměně plynů. Profiltrovaná voda opouští žaberní dutinu análním otvorem (Buchar et al. 1985).

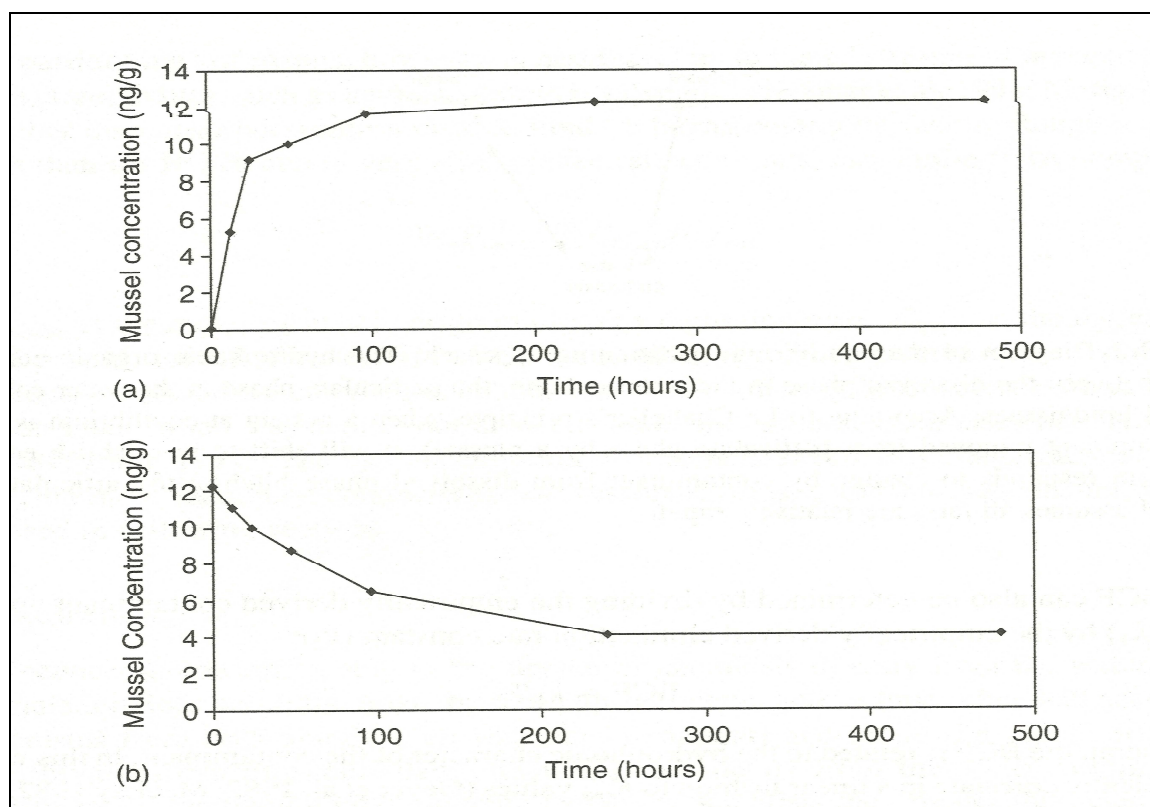
Rozmnožování se může u jednotlivých druhů mlžů ale i populací lišit. Například druhy čeledí *Unionidae* a *Margaritanidae* jsou ve velkých vodách odděleného pohlaví a v malých tůních nebo starých ramenech řek hermafroditi, druhy čeledi *Sphaeriidae* jsou pouze hermafroditi. U čeledí *Unionidae* a *Margaritanidae* jsou vajíčka oplozena v žaberní dutině a vyvíjejí se volně v žaberních lupenech. Z vajíček se líhnou larvy zvané glochidie, která má lepkavé byssové vlákno a malou ozubenou larvální skořápku. Tyto glochidie jsou po asi dvou měsících vývoje v žábrách vypuzovány do vody, kde se snaží uchytit na rybách, kde se opouzdří a v cystě dochází metamorfóze, při které se tvoří lastury i ostatní orgány. U čeledi *Sphaeriidae* není žádné larvální stadium a mláděta opouštějí žaberní prostor mateřského jedince zcela podobná dospělým. U čeledi *Dreissenidae* jsou vajíčka i spermatozoidy vyvrhovány do vody a oplození probíhá ve volné vodě, kde se vyvíjí v planktonní larvu. Tato larva přibližně po 8 dnech přisedá k podkladu a mění se v dospělého jedince, který je pomocí byssových vláken přichycen na podkladu celý život (Lellák et al. 1985, Buchar et al. 1995).

Druhy rodu *Anodonta* mají tenkostěnnou lasturu a žijí u nás převážně ve stojatých nebo mírně tekoucích vodách jako jsou rybníky nebo dolní toky řek. Druhy rodu *Unio* žijí spíše v tekoucích vodách, vhodné jsou čisté řeky, kde na písčitéch lavicích mohou

tvořit početné populace. Velmi náchylná na kvalitu vody je perlorodka říční (*Margaritana margaritifera*), která vyžaduje čisté horské řeky chudé na živiny. Čeleď *Sphaeriidae* pak tvoří malé druhy mlžů okolo 1 cm. Mlži stejného druhu se mohou lišit tvarovou variabilitou ovlivněnou různými podmínkami prostředí (Lellák et al. 1985, Buchar et al. 1995)

3.2 Příjem polutantů a detoxikační mechanismy

Možnosti příjmu kovů souvisí s biologií mlžů. Během svého života jsou v přímém kontaktu se sedimenty. Část kontaminantů mohou přijímat právě z nich vlivem zakalení, či zvíření a následné filtrace. Do organismu se dostávají s částicemi detritu nebo vyfiltrovaných koloidních částic a vstupují do organismu trávicí soustavou. Významným vstupem kovů do organismu jsou žábry. Touto cestou dochází k výměně jednoduchých rozpuštěných iontů anorganických sloučenin. Za určitých podmínek může tato cesta představovat významný příjem kovů, vzhledem k množství filtrované vody. Thorsen et al. (2006) uvádí u čeledi *Unionidae* až 11 litrů vody za den. Při krátkodobých významných expozicích, například v laboratorních experimentech, mlži reagují uzavřením branchiálního a análního otvoru a tak omezují dočasně příjem vody a s tím i příjem kovů. Obecně platí, že při expozici dochází k rychlému nárůstu koncentrace kontaminantu ve tkáních dokud nedojde k rovnováze (obr. 4a).



Obr. 4: Teoretický příjem kontaminantu (a) a vylučování (b) u sladkovodních mlžů. Ke změnám dochází rychle při změnách expozice, dokud nedojde k rovnovážnému stavu. Při vylučování z organismu nedochází k odstranění veškerého množství, ale část ve tkáních zůstává (Thorsen et al. 2006)

Bioakumulace vede k vysokým úrovním kontaminantů ve tkáních, které mohou vysoce převýšit koncentrace ve vodě. Může docházet k toxickým účinkům na samotné jedince nebo dochází k akumulaci na vyšších trofických úrovních, kde taktéž mohou působit toxicky. Na příjem kovů mají značný vliv fyzikálně–chemické podmínky prostředí popsané v předešlé kapitole (pH, organické látky, oxidačně redukční potenciál, chemismus vody atd.). Pokud se vlivem těchto procesů v prostředí vyskytuje kov ve formě iontové (zejména dvojmocné kationty), hlavní vstup do organismu je difuzí přes žaberní lupeny. Pokud podmínky prostředí nedovolují vznik iontových forem, do organismu se dostávají s přijatou potravou nebo adsorbované na koloidních částicích. Kovy se v těle mlžů ukládají především v tkáních (svalovině), zatímco organické polutanty jsou ukládány převážně v tucích. (Thorsen et al. 2006).

Příjem kovů do organismů je tedy spjat s příjmem potravy (detrit, řasy, vyfiltrované suspendované částice) nebo difuzí přes žábry z okolního prostředí. Následně dochází k distribuci v těle v rámci jedince. Celkové množství přijatého kovu lze rozdělit na formu metabolicky dostupnou a na formy vázané v organismu. Vázané formy kovů se nemohou účastnit metabolických reakcí a je to důsledek obranných detoxikačních mechanismů. Tyto mechanismy vážou kovy v komplexech s metalothioneiny (MT) nebo jsou v organismu ukládány v nerozpustných fosforečnanových formách (MRG). Těmito procesy látka ztrácí toxicitu a mohou být v určité míře vylučovány z těla ven. Nedochozí však k vylučování celého přijatého množství a část zůstává v organismu. Zejména kovy v MRG jsou vázány dlouhou dobu (obr. 2b). Část přijatých kovů zůstává v aktivní formě a tvoří součást organel a buněčných roztoků. Tyto formy mohou ovlivňovat enzymatické reakce vlivem afinity k síře a dusíku, které jsou součástí bílkovin a aminokyselin. Při překročení určitého prahové hodnoty kovů ve formě metabolicky dostupné, dochází k toxickým účinkům. Poměry v jakých jsou produkovány jednotlivé formy MT, MRG a formy dostupné pro biochemické reakce, závisí na mnoha faktorech. Jednak na chemicko-fyzikálních podmínkách, oxidačním stupni kovu, pH, teplotě, koncentraci a jednak na druhu mlže, přičemž mohou být významné rozdíly i v rámci jednotlivých rodů. Taktéž toxicita se může u různých druhů pohybovat ve zcela rozdílných koncentracích. Příjem i detoxikační mechanismy ovlivňuje stáří jedinců, reprodukční stav a obecně může docházet k výkyvům i v rámci stejného druhu vlivem fyziologického stavu jedinců (Rainbow 2002, Wallace et al. 2003).

3.3 *Využití v zahraničí a v ČR*

Existuje řada zahraničních studií, které využívají různé druhy mlžů k biologickému monitoringu a to ve sladkých vodách i v mořích. Ve většině případů jsou zjišťovány koncentrace anorganických nebo organických látek v různých tkáních nebo lasturách mlžů, které se následně vyhodnocují a usuzuje se na zatížení lokality kontaminací. Studie snaží zformulovat i obecné zákonitosti bioakumulace. Například Ravera et al. (2003) stanovil 15 prvků ve tkáních a lasturách 3 druhů mlžů a u 8 druhů makrofyt v italském jezeře. Mimo jiné došel k závěrům, že se výsledky u jednotlivých mlžů mohou rozcházet. Rozdílnost přisuzuje rozdílným druhům a s tím odlišné metabolické procesy. Tomazelli et al. (2003) zkoumali obsahy Cd a Pb ve dvou povodích v severovýchodní Brazílii, přičemž jedno bylo ovlivňováno zemědělskou a průmyslovou činností výrazně více než druhé. Analýzou kovů ve tkáních mlžů bylo zjištěno, že vyšší koncentrace jsou u jedinců z méně znečištěného povodí s lepší kvalitou vody. Příčinou mohou být odlišné chemicko-fyzikální podmínky prostředí, které ovlivňují biologickou

dostupnost kovů. K podobným závěrům došel i Ravera et al. (2007), který porovnával bioakumulaci kovů u mlžů (*Unio pictorum*) u dvou jezer různé trofie v Itálii. Výsledky prokázaly vyšší hodnoty u jedinců z mezooligotrofního jezera oproti velevrubům z eutrofního jezera. Hickey et al. (1995) zjišťoval množství biologicky dostupných kovů v řece Waikato na Novém Zélandu analýzou tkání mlže *Hyridella menziesi* a sedimentů. Byla zjišťována koncentrace rtuti (Hg) a arsenu (As). Vyšlo najevo, že Hg bylo v sedimentech obsaženo 35x více než ve vodě (0,025 až 0,87 mg.kg⁻¹ sušiny) a v tkáních mlže dokonce 144x více (0,091 až 13,1 mg kg⁻¹ sušiny). Naopak arsen byl více akumulován v sedimentech, jeho koncentrace byla 190x vyšší oproti vodě (7,9 až 1520 mg.kg⁻¹ sušiny), zatímco ve tkáních to bylo 10x více (15,0 - 153 mg.kg⁻¹ sušiny). Ukázalo se tak, že tkáňové koncentrace překročily limity pro Hg a jsou z hlediska lidské konzumace škodlivé. Kraak et al. (1991) popisuje ve své práci dlouhodobé monitorování kvality vod evropských řek Rýn a Meuse pomocí mlže *Dreissena polymorpha*. Podobných studií využívání mlžů k biomonitoringu je celá řada a studie se zabývají nejen analýzou kovů, ale i biologickými a chemicko-fyzikálními procesy, které akumulaci kovů ovlivňují. V zahraničních studiích se často pracuje s mlži *Mytilus edulis* nebo *Dreissena polymorpha*.

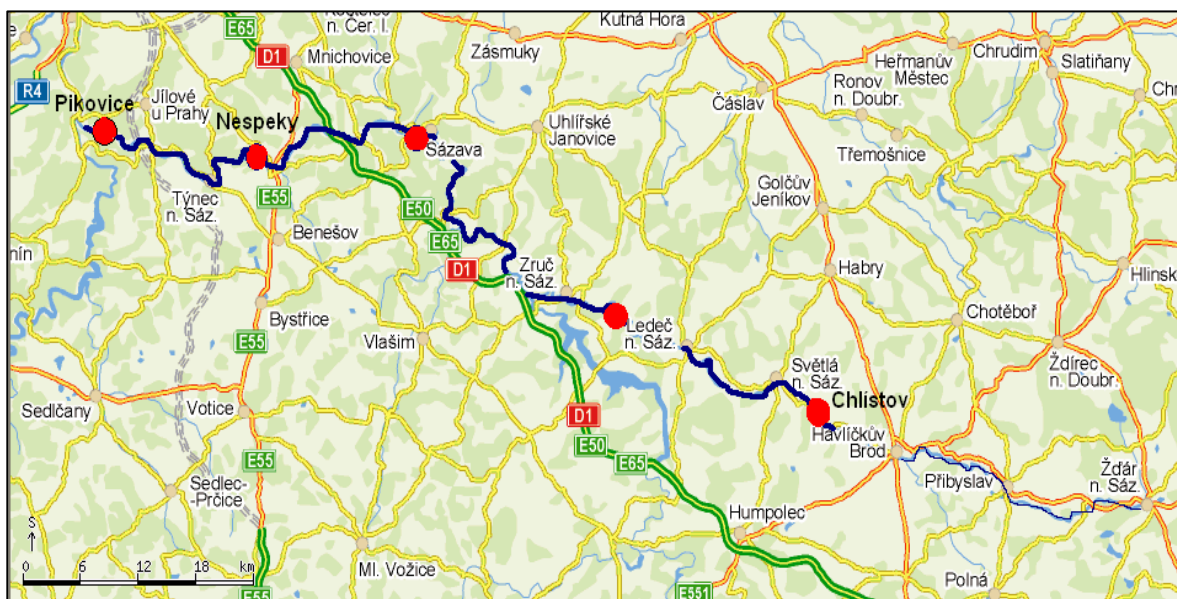
V ČR prozatím problematika akumulace kovů mlži a využívání monitorování životního prostředí příliš řešena nebyla. V rámci akumulačního biomonitoringu Český hydrometeorologický ústav sleduje kontaminaci biomasy na 21 závěrových profilech na hlavních řekách ČR. Zatížení se sleduje na rybách, konkrétně jelec tloušť (12 lokalit), juvenilní stadia ryb (21 lokalit), bentické organismy (21 lokalit), biofilm (21 lokalit) a na mlži *Dreissena polymorpha* (slávička mnohotvárná, 18 lokalit). Z kovů se sleduje As, Cd, Pb, Ni, Cr, Cu, Zn a Hg (ČHMÚ 2009). Z mlžů se využívá pouze nepůvodní druh *Dreissena polymorpha*, který se však v tocích ČR místy již stabilně vyskytuje. Její využití se řídí podle metodického pokynu a je materiálově náročné. Princip spočívá v odlovení určitého počtu jedinců z referenční lokality, kde předpokládány pouze přirozené pozadové hodnoty kovů a následné dlouhodobé vystavení na plováku v měrném profilu řeky. Případné zvýšení koncentrací sledovaných látek ve tkáni ukazuje na zatížení lokality. Do koše připevněného na plovácích se umísťuje cca 150 jedinců na dobu 60 dnů. Expozice se provádí cca duben – červen. V laboratoři se zpracuje 10 vybraných jedinců. Kovy jsou analyzovány metodami ETA-AAS nebo ICP-MS. *Dreissena polymorpha* je vhodný organismus pro biomonitoring pro svoje vysoké akumulační schopnosti. Nevýhodou je její nepůvodní rozšíření a její invazní chování. Rozmnožuje se veligerovými larvami, které mohou pronikat otvory v expozičních koších do okolí a kolonizovat vodní prostředí. Na lokalitě poté může vytvořit masivní populaci. *Dreissena polymorpha* může také způsobovat škody na různých technologických zařízeních (vodárenské objekty, čerpací stanice apod.) nebo konstrukcích, na kterých se usazuje. Její výskyt v přírodě je nežádoucí, zvláště v územích CHKO nebo v místech s vodárenskými technologiemi (Liška 2007). Tato práce se zabývá analýzou tkání autochtonní škeble říční (*Anodonta anatina*).

4. Praktická část – analýza kovů v *Anodonta anatina*

4.1 Metodika

4.1.1 Lokalita a odběr vzorků

Jako modelový tok byla vybrána řeka Sázava. Je to významná řeka ČR, kde lze předpokládat určité zvýšení koncentrací kovů antropogenní činností. Mezi největší města ležící přímo na Sázavě patří Havlíčkův Brod (téměř 26 000 obyvatel), Žďár nad Sázavou (24 000 obyvatel) a další menší města do 10 000 obyvatel (Ledeč nad Sázavou, Zruč n. S. Světlá n. S. aj.). V těchto městech je rozvinut ve větší či menší míře strojírenský, textilní či sklářský průmysl, který může být potencionálním zdrojem znečištění řeky v podobě odpadních vod, imisního znečištění nebo havárií (Kněsl a kol. 2009). Sázava je vhodná i z hlediska výskytu různých druhů mlžů, zvláště pak *Anodonta anatina* v dostatečné populační hustotě. Jednotlivá odběrová místa jsou rozmístěny od Pikovic až k Havlíčkovu Brodu. Tento úsek měří 158,4 km z celkové délky Sázavy 225 km, práce tak zahrnuje významnou část toku. Na sledované délce toku je rozmístěno 5 odběrových míst. Od ústí směrem k prameni Sázavy byly vybrány následující lokality, ze kterých byly vzorky pořízeny (obr. 5): Pikovice (ř. km 3,4, obr. 6), Nespeky (ř. km 30,7, obr. 7), Sázava (ř. km 54,8, obr. 8), Ledeč nad Sázavou (ř. km 129,5, obr. 9) a Chlístov (ř. km 158,4, obr. 10) u Havlíčkova Brodu. Tyto lokality byly vybrány i z důvodu kontrolních odběrových míst ČHMÚ, jejichž data lze dále využít při vyhodnocování výsledků. Odběr vzorků byl proveden během dvou dnů na podzim 10. – 11. 10. 2009.



Obr. 5: Zvolené profily na řece Sázavě odkud byly vzorky pořízeny.

Z každé lokality bylo odebráno celkem 10 jedinců *Anodonta anatina*. Byla snaha, aby v souboru z každé lokality byli rovnoměrně zastoupeni jedinci různého věku. Ten byl určen orientačně na místě z přírůstových linií na lastuře. Odlov z jednotlivých lokalit byl prováděn v hlubších partiích výsuvným podběrákem, v mělčích vodách sběrem do ruky. Na lokalitách Nespeky, Sázava a Ledeč n. Sázavou byly jedinci odloveni nad jezem, v prostoru vzduté hladiny. Na lokalitách Pikovice a Chlístov byli jedinci odebráni v blízkosti břehové linie a výšku hladiny ani rychlost proudění neovlivňoval žádný vzdouvací objekt.

Během lovu byly škeble přechovávány v nádobě s vodou z řeky. Po odlovení dostatečného počtu bylo vybráno konečných 10 jedinců pro analýzu, kteří byli v mikrotenovém sáčku umístěni do chladicího boxu s ledem. Mlži jako poikilotermní živočichové při nízkých teplotách utlumují svůj metabolismus a tím byl eliminován vliv stresu a jiných metabolických reakcí. Po odlovu ze všech lokalit byli jedinci uloženi do mrazáku při teplotě -18°C . Trvalým hlubokým zamražením dochází k úhynu škeblí.

V místech sběru mlžů byly zároveň pořízeny vzorky sedimentů o objemu cca 0,5 l, které byly uchovávány v PE krabičkách (obr. 11). Byla snaha vzorkovat z míst, odkud byli jedinci odebráni. Průměrná plocha, ze které bylo u jednotlivých odběrových lokalit 10 jedinců škeblí odloveno, se pohybovala cca 9 m². Jedná se tak o směsný vzorek zpravidla 3 odběrů z této plochy. Následně byla provedena homogenizace sedimentu, celkový objem sedimentů z lokality byl promíchán. Vzorek byl spolu se škeblí uložen do chladicího boxu a po transportu do mrazáku. Vzorky sedimentů byly zpracovány v laboratoři Výzkumného ústavu vodohospodářského T.G.M., v.v.i. Rozklad byl proveden lučavkou královskou v mikrovlnném zařízení. Postup odpovídá normě ČSN EN ISO 11 885 Jakost vod, sediment však nebyl rozříděn na zrnitostní frakce. Bylo stanoveno celkem 16 kovů optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES).

4.1.2 Zpracování vzorků

V prvním kroku byla provedena preparace tkání ze zamrzlých jedinců. Byl použit nerezový skalpel a pinzeta, tyto nástroje při zvolené citlivostní analýze nemohly zkreslit výsledky sekundární kontaminací vzorku. Pitvou byly vypreparovány ze škeblí žábry a svalovina nohy. Důkladně byly očištěny od okolních zbytků tkání a v PE lahvičkách byly umístěny opět do mrazáku. Z přírůstových linií na lastuře škeble byl určen přibližný věk jedinců. Dále byla u každého jedince měřena délka, šířka a výška lastury. Po oschnutí byly lastury zváženy. Všechny meristické údaje byly zaznamenány, lahvičky s tkáněmi i uložené lastury byly popsány. V druhém kroku byly tkáně vysušeny metodou lyofilizace (mrazové sušení). Za vysokého podtlaku se z hluboce zmrazeného vzorku nechá veškerá voda odsublimovat. Po lyofilizaci vzorek představuje biomasu sušiny. Lyofilizované tkáně byly poté uloženy ve stejných PE lahvičkách do mrazáku.

4.1.3 Rozklad tkání

Zvolená analýza (AAS) vyžaduje převedení vzorků tkání do roztoku. Rozklad byl proveden 65% HNO₃ čistoty suprapure v mikrovlnném systému Berghof MWS – 2 za zvýšeného tlaku a teploty. Vhodná hmotnost vzorku pro převedení do

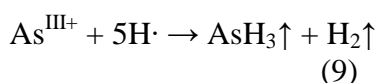
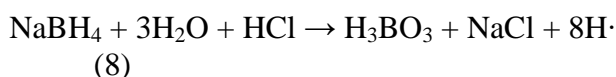
roztoku je 0,4 – 0,5 g. V této fázi byly lyofilizované vzorky zváženy a hmotnost byla zaznamenána. Pokud váha převyšovala 0,5 g, byl vzorek pro potřeby rozkladu nerezovým skalpelem rozdělen tak, aby požadovaná hmotnost vyhovovala. Ve většině případů bylo naváženo mnohem méně než 0,5 g, a to až o řád, například u tkáně svaloviny u mladých jedinců. Naopak tuto hmotnost překračovaly pouze některé žábry obsahující glochidie. Navážené vzorky byly pinzetou kvantitativně převedeny do teflonových nádob určených k rozkladu. Pipetou bylo přidáno 7 ml HNO₃ (65%, suprapure) a nádoby byly uzavřeny. Následně byly ve stojanu vloženy do mikrovlnného zařízení. Přístroj Berghof MWS-2 umožňuje volbu mezi několika teplotními programy. Nastaven byl teplotní program P1, který trvá 25 minut a je rozdělen do 3 částí. Za prvních 5 minut dosáhla teplota vzorku kolem 150°C, během dalších 10 minut dosáhla teplota svého maxima 200°C a posledních 10 minut se teplota snižovala na 100°C. Kapacita zařízení byla 10 vzorků, rozklad celkových 100 vzorků (50 vzorků tkáně svaloviny, 50 vzorků žaber) proběhl v 10 sériích během dvou dnů. Po dostatečném vychladnutí teflonových nádob bylo víko opatrně povoleno. Přitom se ventilem uvolňuje toxický NO₂, který vznikl z HNO₃ při rozkladných procesech. Vzniklý roztok byl kvantitativně převeden do 50 ml odměrné baňky a objem doplněn destilovanou vodou. Obsah byl důkladně promíchán a tento vzorek, již v podobě čirého roztoku byl převeden do PE lahvíček, kde byl připraven k samotné analýze.

4.1.4 Analýza ETA AAS a HG AAS

Byly analyzovány 4 kovy, arsen (As), kadmium (Cd), olovo (Pb) a měď (Cu) principem atomové absorpční spektrometrie. Cd, Pb, Cu byly analyzovány atomovou absorpční spektrometrií s elektrotermickou atomizací (ETA AAS), tato metoda není pro specifické vlastnosti As vhodná, proto byla u tohoto kovu použita jiná metoda atomizace, konkrétně generace hydridů (HG AAS). Koncentrace kovů ve tkáních jsou vyjádřeny v µg/g sušiny vzorku.

Stanovení As

Pro stanovení As ve tkáních bylo použito zařízení pro kontinuální generaci hydridů firmy GBC, typ HG 3000. Jako atomizátor byla použita křemenná trubice vyhřívaná plamenem acetylen – vzduch na teplotu kolem 900 °C. Zdroj monochromatického záření, optickou část a detekci zajišťoval atomový absorpční spektrometr PG 990. Absorbance byla měřena na vlnové délce 193,7 nm. Jako zdroj monochromatického záření byla použita výbojka s dutou katodou pro stanovení As. Použitý generátor hydridů (GBC HG-3000) dokáže kontinuálně nasávat peristaltickým čerpadlem NaBH₄, HCl a samotný vzorek. Reaktanty se mísí v reakční smyčce, kde vzniká požadovaný produkt AsH₃ (arsan) (8) (9):



Tetrahydridoboritan sodný reaguje s kyselinou chlorovodíkovou za vzniku kyseliny borité, chloridu sodného a radikálů vodíku, které jsou velmi reaktivní. Ty následně reagují s $\text{As}^{\text{III}+}$, který je přítomen v tomto oxidačním čísle ve vzorku. Vzniká plynný hydrid AsH_3 a vodík. Tato plynná složka putuje v proudu nosného plynu (Ar) do atomizátoru, kde se AsH_3 rozkládá za teploty 800 – 1000°C na stanovovaný prvek $\text{As}^{\text{III}+}$ a vodíkové radikály. Nyní jsou již atomy As měřeny principem AAS . Po ustálení píku na monitoru přístroje během nasávání vzorku byla zaznamenána měřená absorbance. Přístroj změřil 5 hodnot v intervalech 0,3 s a výsledná absorbance představovala průměr (Dědina 1997, Komárek 2001, Vítek 2009, Zbíral 1994).

Chemikálie

KI (20%) - jodid draselný

$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6$ (10%) - kyselina askorbová

HCl (3M) – kyselina chlorovodíková

NaOH (1%) – hydroxid sodný

NaBH_4 – tetrahydridoboritan sodný – 2,5g se rozpustilo v objemu 500 ml NaOH

KALIBRAČNÍ ROZTOKY:

Z pracovního roztoku o koncentraci 1 mg/l As, byly ředěním postupně získány kalibrační roztoky o koncentraci 0 - 0,1 – 1 – 10 – 100 $\mu\text{g/l}$ As.

Pracovní postup

Do plastových baněk se bylo odpipetováno 10 ml standardních roztoků, bylo přidáno 0,5 ml roztoku jodidu draselného (KI) a po pěti minutách 0,5 ml roztoku kyseliny askorbové ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6$). Obsah byl vždy po přidání roztoků promíchán (Zbíral 1994).

Do roztoků vzorků o objemu cca 10 ml bylo přidáno 0,5 ml roztoku KI a po pěti minutách 0,5 ml $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6$. Obsahy vzorků byly po přidavku vždy promíchány. Následujících 120 minut byly ponechány v klidu a poté bylo provedeno měření. Po přidavku KI, který slouží jako redukční činidlo, se přítomný arsen v oxidačním čísle As^{V} redukoval na žádoucí formu s oxidačním číslem As^{III} . Při této redukci se vzorek zbarvil a nadbytek KI se odstranil přidavkem $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6$, po kterém byl roztok opět čirý (Zbíral 1994).

Po 120 minutách stání byly jako první proměřeny kalibrační roztoky , ze kterých byla sestavena kalibrační křivka. Následně byly analyzovány vzorky. Software přístroje výsledné koncentrace vyhodnotil a uložil v jednotkách $\mu\text{g/l}$. Pro převod na požadované jednotky v $\mu\text{g/g}$ sušiny byl použit následující vztah:

$$C = A / (m * (1000/V))$$

kde C je obsah kovu ve vzorku ($\mu\text{g/g}$), A je obsah kovu ve vzorku ($\mu\text{g/l}$), m je hmotnost navážky a V je objem odměrné baňky (50 ml), do které byl vzorek převeden (Zbíral 1994).

Stanovení Cd, Pb, Cu

Pro stanovení Cd, Pb a Cu byla použita analytická metoda atomové absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ETA AAS). Příprava činidel a úprava vzorků již nebyla pro toto stanovení nutná. Pro analýzu byl použit spektrometr PG 990. Tento přístroj samostatně dávkuje 20 μl vzorku do grafitového atomizátoru, kde za vysokých teplot dochází k atomizaci stanovovaného prvku a proměřování absorbance. Pro korekci pozadí byla použita deuteriová lampa jako kontinuální zdroj záření. Jako zdroj monochromatického záření sloužila výbojka s dutou katodou (HCL) pro stanovovaný prvek. Absorbance byla měřena na vlnové délce 228,8 nm pro Cd, 283,3 nm pro Pb a pro Cu 324,7 nm (Černohorský 1997, Vítek 2009).

Chemikálie

KALIBRAČNÍ ROZTOKY:

Z pracovního roztoku o koncentraci kovů 1 mg/l Cd, Pb, Cu byly naředěny do 50 ml odměrných baněk kalibrační roztoky o koncentracích prvků 0 – 0,1 – 1 – 10 – 100 $\mu\text{g/l}$ Cd, Pb a Cu.

Pracovní postup

Roztoky vzorků byly převedeny do kyvet a umístěny do stojanu, ze kterého byly vzorky přístrojem automaticky dávkovány. Jednotlivé prvky byly proměřovány postupně po výměně příslušné výbojky. Jako první byly změřeny hodnoty kovu u kalibračních roztoků o známé koncentraci, na základě kterých byla sestavena kalibrační křivka. Proces analýzy je plně automatizován a spektrometr je v laboratoři standardně naprogramován. Proto byly všechny prvky proměřeny za stejných podmínek a parametry analýzy jako např. rychlost ohřevu nebo konečná teplota nebyly pro jednotlivé prvky upravovány.

Koncentrace analytu ve vzorku byly softwarem přístroje vypočítány v $\mu\text{g/l}$. Tyto jednotky byly podle stejného vztahu jako u As přepočítány na $\mu\text{g/g}$ sušiny tkáně.

4.1.5 Zpracování dat

Při vyhodnocování získaných koncentrací kovů ve tkáních, sedimentech a vodě byly stanoveny jednotlivé hypotézy pro získání stanovených cílů práce. Získaná data byla vyhodnocována v programu R a byl použit dvouvýběrový t-test (hladina významnosti 0,05) a korelační koeficient. Testovací hypotézy předpokládají rovnost dvou souborů dat (2 soubory dat se statisticky významně neliší) nebo nepředpokládají závislost (korelaci). V případě vyvrácení testované hypotézy platí alternativní, rozdíl mezi testovanými soubory dat je statisticky významný nebo výsledky korelují.

Při použití t-testu byla testovací hypotéza potvrzena v případě, že hodnota *p-value* je vyšší než hladina významnosti testu ($\alpha=0,05$), v opačném případě ($p<0,05$) byla zamítnuta a platí alternativní hypotéza. Při zjišťování korelace byla testovací hypotéza potvrzena, pokud byla absolutní hodnota korelačního koeficientu menší než kritická hodnota zjištěná z tabulek pro příslušný počet hodnot.

4.2 Výsledky

Testované hypotézy prokázaly určité trendy v distribuci kovů v ekosystému. Bylo testováno celkem 14 hypotéz, které jsou vyhodnoceny níže. Z výsledků lze obecně konstatovat, že hodnoty kovů ve tkáních mají vzestupnou tendenci od horního toku směrem k ústí Sázavy. Stejný trend vykazují i hodnoty kovů v sedimentu. Vyšší obsahy kovů byly měřeny v mladších jedincích, stejně tak vyšší koncentrace obsahovali spíše menší jedinci. Tento trend nepřímé úměry potvrzují i další hypotézy, vycházející z velikostních či hmotnostních údajů. Je patrná zcela odlišná distribuce Cd v prostředí oproti As, Pb a Cu. Více kadmia bylo naměřeno ve starších a větších jedincích, platí přímá úměra, zatímco u ostatních kovů jsou trendy opačné. Taktéž vliv gradientu řeky na tkáň prokázal zvyšování koncentrace směrem od ústí k hornímu toku, zatímco u As, Pb a Cu je tomu naopak. U dvojmocných iontů (Cd, Cu, Pb) byla prokázána vyšší akumulace v žábřích. U As (III) byly vyšší hodnoty zjištěny ve svalovině.

Naměřené hodnoty koncentrací kovů ve tkáních, sedimentech a vodě a další údaje o věku a velikosti jednotlivých jedinců *Anodonta anatina* jsou uvedeny v tabulce 7 v příloze a hodnoty všech měřených kovů v sedimentech jsou uvedeny v tabulce 8.

H1: Koncentrace kovů ve tkáních nezávisí na podélném gradientu řeky.

Korelační koeficient

($\alpha=0.05$, $n=50$, kritická hodnota **0,2787**)

Arsen:

Noha: korelační koeficient: -0.5564

H1 vyvrácena.

Žábry: korelační koeficient: -0.5525

H1 vyvrácena.

Kadmium:

Noha: korelační koeficient: 0.2963

H1 vyvrácena.

Žábry: korelační koeficient: 0.5676

H1 vyvrácena.

Olovo:

Noha: korelační koeficient: -0.4619

H1 vyvrácena.

Žábry: korelační koeficient: -0.2784

H1 na hranici

Měď:

Noha: korelační koeficient: -0.7226

H1 vyvrácena

Žábry: korelační koeficient: 0.0218

H1 potvrzena

Arsen a kadmium vykazují v obou tkáních vliv podélného gradientu Sázavy na množství kovů. U As dochází ke zvyšování množství směrem od horního toku k ústí, zatímco u kadmia je tomu naopak. U olova a mědi je závislost na gradientu potvrzena pouze u svaloviny.

lokality	kov	svalovina [ug/g]	žábry [ug/g]
Pikovice	As	2.32 ± 1.71	1.50 ± 0.96
	Cd	0.13 ± 0.17	0.39 ± 0.47
	Pb	1.62 ± 1.50	2.24 ± 1.14
	Cu	4.33 ± 1.62	10.52 ± 5.00
Nespeky	As	1.81 ± 1.11	1.02 ± 0.67
	Cd	0.07 ± 0.02	0.24 ± 0.27
	Pb	0.78 ± 0.35	1.26 ± 0.66
	Cu	2.81 ± 1.21	8.50 ± 4.64
Sázava	As	0.78 ± 0.29	0.53 ± 0.28
	Cd	0.10 ± 0.05	0.88 ± 0.84
	Pb	0.92 ± 0.59	0.92 ± 0.42
	Cu	1.63 ± 0.68	8.10 ± 7.40
Ledeč n S.	As	0.56 ± 0.22	0.47 ± 0.32
	Cd	0.11 ± 0.05	1.00 ± 1.12
	Pb	0.64 ± 0.31	1.66 ± 1.99
	Cu	1.71 ± 0.45	5.1 ± 4.88
Chlístov	As	0.70 ± 0.42	0.46 ± 0.20
	Cd	0.32 ± 0.38	1.93 ± 0.94
	Pb	0.32 ± 0.21	0.88 ± 0.58
	Cu	1.10 ± 0.35	12.67 ± 5.26

Tab. 1: Průměrné hodnoty kovů ± směrodatná odchylka ve svalovině a žábřích na jednotlivých lokalitách.

H2: Koncentrace kovů nezávisí na věku jedinců.

Korelační koeficient

($\alpha=0.05$, $n=50$, kritická hodnota **0,2787**)

Arsen:

Noha: korelační koeficient: -0.2731

H2 na hranici

Žábry: korelační koeficient: -0.315

H2 vyvrácena

Kadmium:

Noha: korelační koeficient: 0.3100

H2 vyvrácena

Žábry: korelační koeficient: -0.0658

H2 potvrzena

Olovo:

Noha: korelační koeficient: -0.2357

H2 potvrzena

Žábry: korelační koeficient: -0.1005

H2 potvrzena

Měď:

Noha: korelační koeficient: -0.5041

H2 vyvrácena

Žábry: korelační koeficient: -0.2775

H2 potvrzena

Závislost množství kovů ve tkáních na věku jedinců byl potvrzen u As, Cd a Cu pouze ve svalovině. V ostatních případech nebyla závislost statisticky potvrzena. Průměrné naměřené hodnoty u jednotlivých věkových kohort jsou uvedeny v tabulce 2.

věk (roky) n (počet)	arsen		kadmium	
	noha [ug/g]	žábry [ug/g]	noha [ug/g]	žábry [ug/g]
2 (n=11)	1.88 ± 1.63	1.3 ± 0.78	0.06 ± 0.02	0.58 ± 0.85
3 (n=15)	1.26 ± 1.06	0.74 ± 0.53	0.13 ± 0.13	1.14 ± 1.13
4 (n=2)	1.10 ± 0.75	0.22 ± 0.12	0.09 ± 0.02	1.16 ± 1.09
5 (n=4)	0.63 ± 0.40	0.70 ± 0.19	0.12 ± 0.04	1.89 ± 0.36
6 (n=9)	1.05 ± 0.93	0.75 ± 0.88	0.12 ± 0.04	0.54 ± 0.72
7 (n=5)	0.81 ± 0.28	0.44 ± 0.23	0.46 ± 0.47	0.89 ± 0.67
8 (n=4)	0.96 ± 0.49	0.51 ± 0.17	0.14 ± 0.04	0.44 ± 0.50
	olovo		měď	
	noha [ug/g]	žábry [ug/g]	noha [ug/g]	žábry [ug/g]
2 (n=11)	1.04 ± 0.93	1.69 ± 1.10	3.77 ± 1.73	9.57 ± 5.64
3 (n=15)	1.10 ± 1.19	1.17 ± 0.89	2.44 ± 1.35	10.63 ± 6.49
4 (n=2)	0.74 ± 0.14	0.89 ± 0.02	1.22 ± 0.41	10.23 ± 5.65
5 (n=4)	0.50 ± 0.34	2.08 ± 1.05	1.28 ± 0.30	12.03 ± 6.11
6 (n=9)	0.73 ± 0.23	1.75 ± 1.80	2.01 ± 0.94	7.29 ± 4.81
7 (n=5)	0.51 ± 0.23	0.99 ± 0.74	1.47 ± 0.41	5.62 ± 3.36
8 (n=4)	0.62 ± 0.28	0.66 ± 0.16	1.11 ± 0.06	5.46 ± 2.17

Tab. 2: Průměrné hodnoty kovů + směrodatné odchylky u jednotlivých věkových kohort. V závorkách je uveden počet jedinců, který spadali do věkové hranice.

H3: Neexistuje významný rozdíl koncentrací kovů mezi svalovinou a žábry.

t-test

($\alpha=0,05$, $n=50$)

Arsen:

p-value: 0.0228

H3 vyvrácena (více arsenu ve svalovině)

Kadmium:

p-value: 2.156e-06

H3 vyvrácena (v žábkách více kadmia)

Olovo:

p-value: 0.0110

H3 vyvrácena (v žábkách více olova)

Měď:

p-value 2.019e-10

H3 vyvrácena (v žábkách více mědi)

Ve všech případech byl potvrzen významný rozdíl mezi množstvím kovů v žábkách a ve svalovině nohy. Cd, Pb a Cu se více akumuluje v žábkách, zatímco ve svalovině bylo naměřeno více As, jak ukazuje i tabulka 3.

kov	svalovina [ug/g]	žábry [ug/g]
arsen	1.23 ± 1.15	0.79 ± 0.68
kadmium	0.14 ± 0.20	0.89 ± 0.97
olovo	0.86 ± 0.85	1.39 ± 1.18
měď	2.31 ± 1.50	8.98 ± 5.88

Tab. 3: Průměrné hodnoty koncentrací kovů v žábrách a svalovině nohy vztažené k hmotnosti sušiny. Koncentrace byly získány z 50 jedinců *Anodonta anatina*.

H4: Neexistuje závislost koncentrace kovů na velikosti jedinců.

Korelační koeficient

($\alpha=0.05$, $n=50$, kritická hodnota **0,2787**)

Délka lastury:

Arsen:

Noha: korelační koeficient: -0.2370

H4 potvrzena.

Žábry: korelační koeficient: -0.3998

H4 vyvrácena.

Kadmium:

Noha: korelační koeficient: 0.2956

H4 vyvrácena (slabá

závislost)

Žábry: korelační koeficient: -0.0845

H4 potvrzena.

Olovo:

Noha: korelační koeficient: -0.3776

H4 vyvrácena.

Žábry: korelační koeficient: -0.2718

H4 potvrzena.

Měď:

Noha: korelační koeficient: -0.5781

H4 vyvrácena.

Žábry: korelační koeficient: -0.3095

H4 vyvrácena.

Šířka lastury:

Arsen:

Noha: korelační koeficient: -0.1022

H4 potvrzena.

Žábry: korelační koeficient: -0.2813
závislost).

H4 vyvrácena (slabá

Kadmium:

Noha: korelační koeficient: 0.1133

H4 potvrzena.

Žábry: korelační koeficient: -0.2261

H4 potvrzena.

Olovo:

Noha: korelační koeficient: -0.2314 H4 potvrzena.
Žábry: korelační koeficient: -0.1075 H4 potvrzena.

Měď:

Žábry: korelační koeficient: -0.3732 H4 vyvrácena.
Noha: korelační koeficient: -0.3849 H4 vyvrácena.

Výška lastury:

Arsen:

Noha: korelační koeficient: -0.2936 H4 vyvrácena.
Žábry: korelační koeficient: -0.4290 H4 vyvrácena.

Kadmium:

Noha: korelační koeficient: 0.4828 H4 vyvrácena
Žábry: korelační koeficient: -0.1256 H4 potvrzena.

Olovo:

Noha: korelační koeficient: -0.3757 H4 vyvrácena.
Žábry: korelační koeficient: -0.3137 H4 vyvrácena.

Měď:

Žábry: korelační koeficient: -0.5675 H4 vyvrácena.
Noha: korelační koeficient: -0.2781 H4 na hraně

Závislost kovů ve tkáních na velikosti jedinců byl zkoumán na výšce, šířce a délce lastury. Nejvíce závislostí bylo potvrzeno u výšky lastury. Obecně lze podle záporných hodnot korelačního koeficientu usuzovat na vyšší hodnoty v menších jedincích. Výjimku tvoří kadmium, a to zvláště ve svalovině nohy, kde s větší velikostí rostly i jeho koncentrace koncentrace.

H5: Neexistuje závislost koncentrace kovů na hmotnosti lastury.

Korelační koeficient

($\alpha=0.05$, $n=50$, kritická hodnota **0,2787**)

Arsen:

Noha: korelační koeficient: -0.2212 H5 potvrzena.
Žábry: korelační koeficient: -0.3549 H5 vyvrácena.

Kadmium:

Noha: korelační koeficient: 0.3281 H5 vyvrácena.
Žábry: korelační koeficient: -0.1194 H5 potvrzena.

Olovo:

Noha: korelační koeficient: -0.2986 H5 vyvrácena
Žábry: korelační koeficient: -0.2090 H5 potvrzena.

Měď:

Noha: korelační koeficient: -0.4901
Žábry: korelační koeficient: -0.3300

H5 vyvrácena.
H5 vyvrácena.

Závislost obsahu kovů ve tkáních na hmotnosti lastury byla prokázána v obou případech pouze u Cu. Poté dále u As v žábrách, Cd a Pb ve svalovině. Jedná se pouze o slabé závislosti, lze však pozorovat jiný trend u Cd, jehož obsahy byly naměřeny v jedincích s vyšší hmotností lastury. U ostatních kovů záporné hodnoty korelačních koeficientů poukazují spíše na nepřímou úměrnost.

H6: Neexistuje závislost koncentrace kovů na hmotnosti svalnaté nohy.

Korelační koeficient

($\alpha=0.05$, $n=50$, kritická hodnota **0,2787**)

Arsen:

Noha: korelační koeficient: -0.3914
Žábry: korelační koeficient: -0.5073

H6 vyvrácena.
H6 vyvrácena.

Kadmium:

Noha: korelační koeficient: 0.5004
Žábry: korelační koeficient: 0.1507

H6 vyvrácena
H6 potvrzena

Olovo:

Noha: korelační koeficient: -0.3739
Žábry: korelační koeficient: -0.3575

H6 vyvrácena
H6 vyvrácena

Měď:

Noha: korelační koeficient: -0.6810
Žábry: korelační koeficient: -0.1452

H6 vyvrácena
H6 potvrzena

Závislost množství kovu na hmotnosti svalnaté nohy byla prokázána u všech kovů stanovovaných ve svalovině. Závislost na hmotnosti nohy vykazuje i koncentrace As a Pb v žábrách. U As, Pb a Cu platí nepřímá úměra, zatímco množství Cd se vzrůstající hmotností stoupá.

H7: Neexistuje závislost koncentrace kovů na hmotnosti žaber.

Korelační koeficient

($\alpha=0.05$, $n=50$, kritická hodnota **0,2787**)

Arsen:

Noha: korelační koeficient: -0.2286

H7 potvrzena.

Žábry: korelační koeficient: -0.4696

H7 vyvrácena.

Kadmium:

Noha: korelační koeficient: 0.4973

H7 vyvrácena.

Žábry: korelační koeficient: -0.2562

H7 potvrzena.

Olovo:

Noha: korelační koeficient: -0.2999

H7 vyvrácena.

Žábry: korelační koeficient: -0.4283

H7 vyvrácena.

Měď:

Noha: korelační koeficient: -0.4390

H7 vyvrácena.

Žábry: korelační koeficient: -0.3489

H7 vyvrácena.

Množství kovů ve tkáních v závislosti na hmotnosti žaber bylo prokázáno u As, Pb a Cu v žábkách, u Cd se závislost na hmotnosti neprokázala. U svaloviny byla korelace prokázána u Cd, Pb a Cu. Záporné korelační koeficienty poukazují na nepřímou úměru akumulace, se zvyšující hmotností žaber koncentrace kovů As, Pb, Cu klesají. Opačný trend lze pozorovat u Cd ve svalovině.

H8: Neexistuje rozdíl koncentrací kovů mezi žábkami s glochidii a bez.

t-test

($\alpha=0.05$, $n=50$)

Arsen:

p-value: 2.128e-05

H9 vyvrácena.

Kadmium:

p-value: 0.0002

H9 vyvrácena.

Olovo:

p-value: 1.859e-05

H9 vyvrácena.

Měď:

p-value: 0.0094

H9 vyvrácena.

U všech kovů byly prokázány významné rozdíly kovů obsažených v žábkách s glochidii a bez nich. Prokázala se významně vyšší akumulace kovů v žábkách neobsahujících glochide, jak ukazuje tab. 4.

	arsen [ug/g]	kadmium [ug/g]	olovo [ug/g]	měď [ug/g]
glochidie	0.42 ± 0.24	0.39 ± 0.51	0.68 ± 0.35	6.15 ± 2.86
bez glochidií	1.11 ± 0.76	1.31 ± 1.04	2.00 ± 1.28	11.38 ± 6.58

Tab. 4: Průměrné hodnoty kovů naměřených v žábrách s přítomnými glochideimi a bez přítomnosti glochidií. Počet jedinců s glochideimi n=23, bez glochidií n=27. Koncentrace jsou vztaženy na hmotnost sušiny.

H9: Neexistuje korelace mezi koncentracemi kovů ve svalovině a v žábrách.

Korelační koeficient
($\alpha=0.05$, n=50, kritická hodnota **0,2787**)

Arsen:

korelační koeficient: 0.6686 H10 vyvrácena.

Kadmium:

korelační koeficient: 0.1199 H10 potvrzena

Olovo:

korelační koeficient: 0.3151 H10 vyvrácena

Měď:

korelační koeficient: 0.1376 H10 potvrzena

Kladná korelace koncentrací mezi svalovinou a tkání žaber byla prokázána u As a Pb. U Cd a Cu byla H9 potvrzena, neexistuje závislost mezi hodnotami těchto kovů v žábrách a ve svalovině. Průměrné hodnoty kovů ve tkáních viz. tab. 3.

H10: Neexistuje závislost koncentrace kovů v sedimentech na podélném gradientu řeky.

Korelační koeficient
($\alpha=0.05$, n=5, kritická hodnota **0,8783**)

Celkový organický uhlík:

Korelační koeficient: -0.7243 H11 potvrzena.

Sušina:

Korelační koeficient: 0.7951 H11 potvrzena.

Arsen: Korelační koeficient: potvrzena.	-0.7885	H11
Kadmium: Korelační koeficient: potvrzena.	-0.6327	H11
Olovo: Korelační koeficient: potvrzena.	-0.2565	H11
Berylium: Korelační koeficient: potvrzena.	-0.7945	H11
Zinek: Korelační koeficient: potvrzena.	-0.7835	H11
Měď: Korelační koeficient: vyvrácena.	-0.9845	H11
Kobalt: Korelační koeficient: vyvrácena.	-0.9788	H11
Chrom: Korelační koeficient: vyvrácena.	-0.9748	H11
Hliník: Korelační koeficient: vyvrácena.	-0.9421	H11
Železo: Korelační koeficient: vyvrácena.	-0.9431	H11
Rtuť: Korelační koeficient: vyvrácena.	-0.9000	H11
Mangan: Korelační koeficient: vyvrácena.	-0.9307	H11

Nikl: Korelační koeficient: vyvrácena.	-0.9175	H11
Vápník: Korelační koeficient: vyvrácena.	-0.9458	H11
Selen: Korelační koeficient: vyvrácena.	-0.9306	H11

Závislost obsahu sledovaných prvků na podélném gradientu Sázavy byla prokázána jen u některých kovů (viz výše) a to i přesto, že vstupní data obsahovaly pouze jedno měření z každého profilu. Všechny prvky, dle záporného korelačního koeficientu, vykazují růst koncentrací od horního toku směrem po proudu k ústí Sázavy. Naměřené hodnoty analýzy sedimentů jsou uvedeny v tab. 5.

lokality	celkový organický uhlík mg/kg sušiny	sušina %	arsen mg/kg	kadmium mg/kg	olovo mg/kg	měď mg/kg
Pikovice	35800	46.3	21.6	1.09	102	40.5
Nespeky	36600	41.9	18	0.812	57.1	35.3
Sázava	29100	43.5	12.6	0,04	56.8	24
Ledeč n. Sáz.	34700	51.9	13.4	0.907	112	21.1
Chlístov	26500	69.3	14.6	0,04	51.2	14.9
	beryllium mg/kg	kobalt mg/kg	chrom mg/kg	hliník mg/kg	železo mg/kg	rtuť mg/kg
Pikovice	2.25	20.5	62.4	37200	24300	0.274
Nespeky	2.54	17.3	61.1	39900	25200	0.323
Sázava	1.86	14.4	44.5	27900	17700	0.156
Ledeč n. Sáz.	1.94	13.8	39.6	24000	16800	0.091
Chlístov	1.72	11.4	28.9	17800	12800	0.0777
	molybden mg/kg	mangan mg/kg	nikl mg/kg	vápník mg/kg	selen mg/kg	zinek mg/kg
Pikovice	<1	1080	51.7	6150	3.51	288
Nespeky	<1	957	47.3	6530	3.59	218
Sázava	<1	566	36.5	3740	1.9	176
Ledeč n. Sáz.	<1	489	40.9	3260	<1	211
Chlístov	<1	483	29.5	1730	1.06	180

Tab. 5: Koncentrace kovů a celkového organického uhlíku naměřené v sedimentech v jednotlivých profilech.

H11: Koncentrace kovů a ostatních měřených chemicko-fyzikálních parametrů ve vodě nezávisí na podélném gradientu řeky.

Korelační koeficient

($\alpha=0.05$, $n=4$, kritická hodnota **0,950**)

Arsen: Korelační koeficient: potvrzena.	-7.661267e-17	H12
Kadmium: Korelační koeficient: H12 potvrzena.	0.5520	
Olovo: Korelační koeficient: H12 potvrzena.	0.6571	
Měď: Korelační koeficient: H12 potvrzena.	0.8010	
pH: Korelační koeficient: potvrzena.	-0,8000	H12
Vodivost: Korelační koeficient: potvrzena.	-0.9265	H12
Teplota: Korelační koeficient: potvrzena.	-0.9162	H12
Celkový org. Uhlík (TOC): Korelační koeficient H12 potvrzena.	0.8844	

Ani jeden výše měřený chemicko-fyzikální parametr ve vodě nepotvrzuje závislost množství sledované veličiny na podélném gradientu Sázavy. Měření se uskutečnilo pouze na 4 profilech (tab. 6), v Nespekách nebyl rozbor v roce 2009 uskutečněn.

profil	arsen [ug/l]	kadmium [ug/l]	olovo [ug/l]	měď [ug/l]	pH	vodivost [mS/m]	teplota [oC]	TOC [mg/l]
Pikovice	2.5	<0.05	0.9	1.7	7.8	39.6	9.3	8.6
Sázava	1.9	<0.05	0.6	1.6	7.9	35.1	8.7	7.9
Ledeč n. S.	2.3	0.08	1.7	2	7.7	27.4	8.8	11
Chlístov	2.5	0.06	1.5	2.4	7.6	28.3	8.2	12

Tab. 6: Průměrné koncentrace kovů, pH, vodivost, teplota a celkový organický uhlík (TOC) naměřené ve vodě v jednotlivých profilech. V profilu Nespeky v roce 2009 hodnoty zjišťovány nebyly. Zdroj Povodí Vltavy, a.s.

H12: Koncentrace kovů ve vodě nekoreluje s koncentracemi kovů v sedimentech.

Korelační koeficient
($\alpha=0.05$, $n=4$, kritická hodnota **0,950**)

Arsen:

Korelační koeficient: 0.6298 H13 potvrzena.

Kadmium:

Korelační koeficient: 0.2887 H13 potvrzena.

Olovo:

Korelační koeficient: 0.3095 H13 potvrzena.

Měď:

Korelační koeficient: -0.7002 H13 potvrzena.

V žádném případě nebyla prokázána korelace naměřených hodnot v sedimentu a vodě. Naměřené hodnoty kovů viz tab. 6 a tab. 5.

H13: Koncentrace kovů ve tkáních nekoreluje s koncentracemi kovů v sedimentech.

Korelační koeficient
($\alpha=0.05$, $n=50$, kritická hodnota **0,2787**)

Arsen:

Noha: Korelační koeficient: 0.5931 H14 vyvrácena.
Žábry: korelační koeficient: 0.5902 H14 vyvrácena.

Kadmium:

Noha: korelační koeficient: -0.2228 H14 potvrzena.
Žábry: korelační koeficient: -0.4319 H14 vyvrácena.

Olovo:

Noha: korelační koeficient: 0.2363 H14 potvrzena.
Žábry: korelační koeficient: 0.3716 H14 vyvrácena.

Měď:

Noha: korelační koeficient: 0.7426 H14 vyvrácena.
Žábry: korelační koeficient: -0.0083 H14 potvrzena.

U As byla potvrzena pozitivní korelace mezi hodnotami v sedimentu a tkáně žaber a svaloviny. Tato závislost byla potvrzena také u Pb v žábrách a Cu ve

svalovině. Naopak negativní korelace Cd byla potvrzena mezi hodnotami v žábřích a sedimenty. Naměřené hodnoty kovů viz tab. 5 a tab. 1.

H14: Koncentrace kovů ve tkáních nekoreluje s koncentracemi kovů ve vodě.

Korelační koeficient

($\alpha=0.05$, $n=40$, kritická hodnota **0,3120**)

Arsen:

Noha: korelační koeficient: 0.2676 H15 potvrzena.

Žábry: korelační koeficient: 0.2760 H15 potvrzena.

Kadmium:

Noha: korelační koeficient: 0.0046 H15 potvrzena.

Žábry: korelační koeficient: 0.1485 H15 potvrzena.

Olovo:

Noha: korelační koeficient: -0.3287 H15 vyvrácena

Žábry: korelační koeficient: 0.0080 H15 potvrzena

Měď:

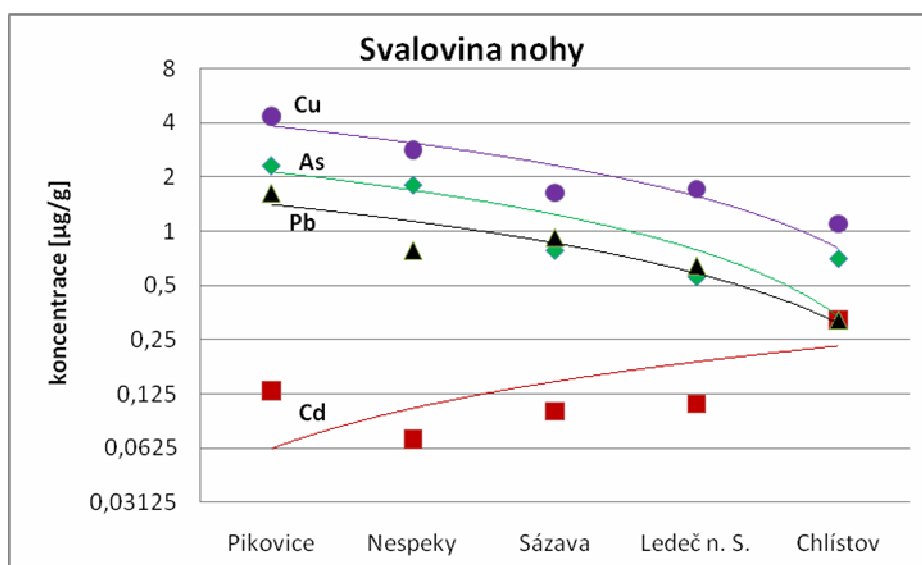
Noha: korelační koeficient: -0.4509 H15 vyvrácena.

Žábry: korelační koeficient: 0.1841 H15 potvrzena.

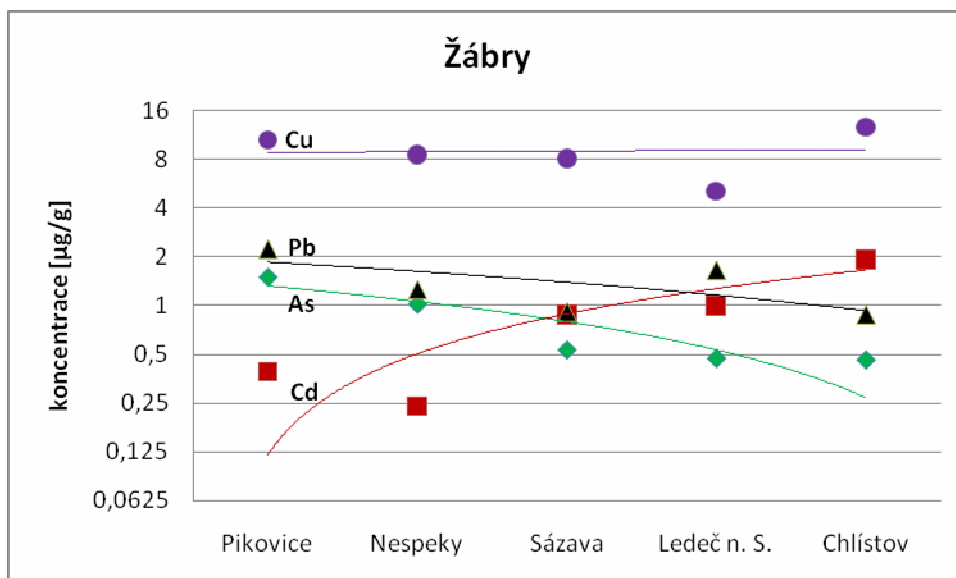
Závislost koncentrace kovů ve tkáních na hodnotách ve vodě byla prokázána u svaloviny u Pb a Cu. Platí nepřímá úměra, se zvyšujícím se obsahem kovů ve vodě klesají koncentrace v sedimentu. Naměřené hodnoty viz tab. 6 a tab. 3.

Celkem bylo testováno 14 hypotéz, z nichž některé vycházejí ze stejných dat. Bonferroniho korekce nebyla použita, proto lze předpokládat u některých hypotéz nižší pravděpodobnost správnosti než 95 % (hladina významnosti 0,05).

První testovaná hypotéza H1 ukázala na závislost koncentrace kovů ve svalovině a žábrách na podélném gradientu řeky. Obecně by se dalo předpokládat zvyšování koncentrací kovů ve tkáních od pramenné části směrem k ústí toku, z důvodu změny unášecí schopnosti řeky, ukládání materiálu v dolních úsecích a větší akumulaci kovů v sedimentu a tím i ve tkáních (viz kapitola Kovy v říčních ekosystémech). Výsledky to ve většině případů prokazují a určitá závislost byla zjištěna u všech prvků, pouze koncentrace Cu v žábrách nevykazuje závislost na podélném gradientu. Největší závislost na gradientu řeky byla prokázána u Cu ve svalovině nohy, přičemž nejnižší hodnoty byly naměřeny v horním úseku řeky (profil Chlístov) a nejvyšší před ústím do Vltavy (profil Pikovice). Stejný závěr lze vyvodit z výsledků i u As a Pb pro oba typy tkání, jejichž koncentrace směrem k ústí toku rostla. Výjimku tvoří Cd, u kterého byla prokázána slabá závislost, ovšem opačná. Z horní části toku směrem k ústí do Vltavy koncentrace v žábrách a svalovině nohy *Anodonta anatina* klesala. Trendy u jednotlivých kovů na podélném gradientu řeky ve tkáních jsou znázorněny na grafu 1 a 2. Naměřené průměrné koncentrace jsou uvedeny v tab. 1.

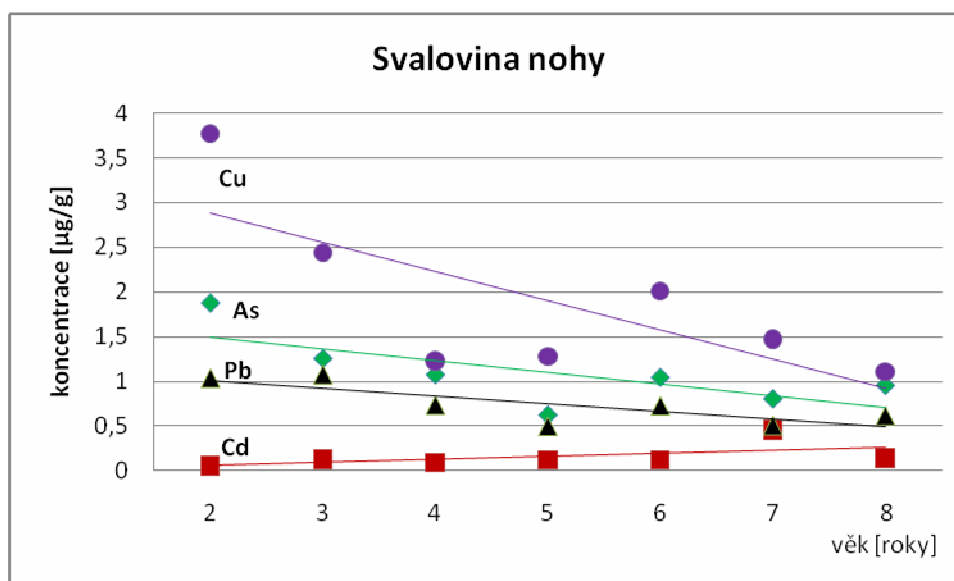


Graf 1: Průměrné koncentrace kovů v jednotlivých profilech. Hodnoty jsou proloženy lineární regresní přímkou. Linearita přímkou je zkreslena logaritmickým měřítkem osy y.



Graf 2: Průměrné koncentrace kovů z jednotlivých profilů naměřených v žábrych, proložené lineární regresní křivkou. Linearita je zkruslena logaritmickým měřítkem osy y.

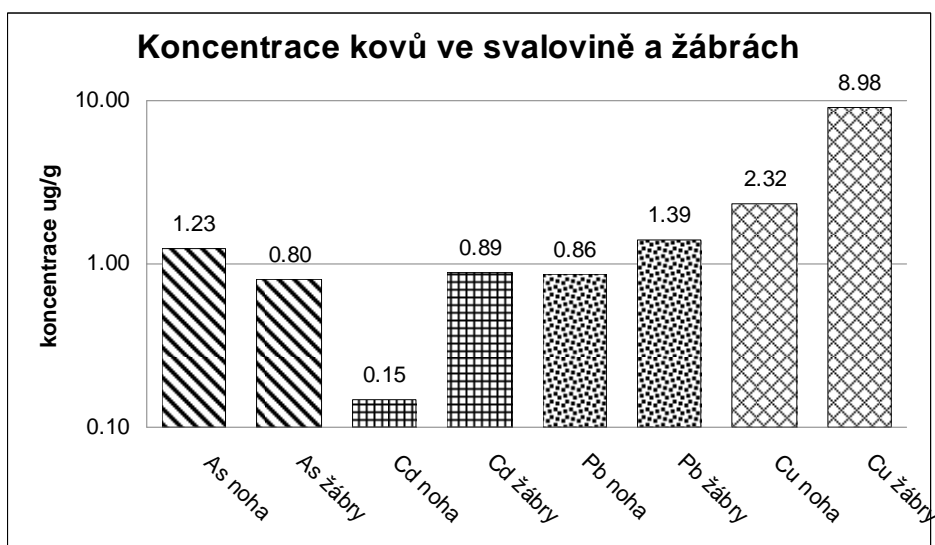
Hypotéza H2 řešila závislost koncentrace kovů ve tkáních na věku jedinců. V tomto případě nejsou výsledky jednoznačné a záleží na typu tkáně a kovu. U Pb nebyla prokázána závislost koncentrace na věku ani u jednoho typu tkání. Žádná závislost nebyla prokázána ani u Cd u tkáně žaber. Obsah Cu ve svalnaté noze prokázal závislost na věku, u žaber vyšel korelační koeficient přibližně stejný jako kritická hodnota. Na hranici mezi statisticky průkaznou závislostí či nezávislostí vyšel i As ve svalnaté noze. Prokázaná závislost koncentrace kovu na věku jedinců škeblí byla jasně potvrzena pouze u As v žábrych, Cd ve svalovině a Cu ve svalovině nohy. Trendy hodnot ve svalovině jsou znázorněny na grafu 3.



Graf 3: Trendy jednotlivých kovů v závislosti na věku jedinců. Statisticky potvrzená kladná korelace byla zjištěna u Cd a záporná u Cu. As byl korelační koeficient přibližně stejný jako kritická hodnota Pb se jeví jako nezávislé na věku.

Záporné hodnoty korelačního koeficientu a sklony regresních přímků poukazují na fakt, že větší koncentrace kovů jsou obsaženy v mladších jedincích. Výjimku tvoří Cd ve svalovině, jehož hodnoty se zvyšovaly s rostoucím věkem. Průměrné hodnoty kovů v jednotlivých věkových skupinách jsou uvedeny v tab. 2. Ponta et. al (2003) zkoumal ve své práci mimo jiné vliv věku na akumulaci kovů na čeledi mlžů *Unionidae* (do které patří i *Anodonta anatina*) a u žádného stanovovaného kovu (kromě Mn) nenašel žádnou závislost mezi koncentrací kovů ve tkáních a věkem. Ze získaných výsledků se tak v obecné rovině nedá jednoznačně potvrdit či vyvrátit závislost koncentrace kovů ve tkáních na věku jedinců.

Hypotéza H3 testovala pomocí dvouvýběrového t-testu rozdílnost naměřených hodnot mezi tkání svaloviny a žaber. U obou tkání a všech kovů byla takto závislost množství kovu na typu tkáně prokázána. Statisticky významně víc se As hromadí ve svalovině nohy oproti žábrám a ostatní kovy Pb, Cd a zvláště Cu se více akumulují v žábřích oproti svalnaté noze (graf 4). Tyto výsledky odpovídají stejným závěrům předchozí práce autora (Vítek 2009). Taktéž Ponta et. al (2002) a Gundacker (2000) uvádějí ve svých studiích nejvyšší naměřené hodnoty Cu v žábřích a Turkmen & Ciminli (2007) a Naimo (1995) obecně potvrdili závěry, že se kovy více akumulují v žábřích než ve svalovině.



Graf 4: Průměrné hodnoty jednotlivých kovů ve svalovině nohy a v žábřích. Kromě As byly ve všech případech naměřeny vyšší hodnoty v žábřích.

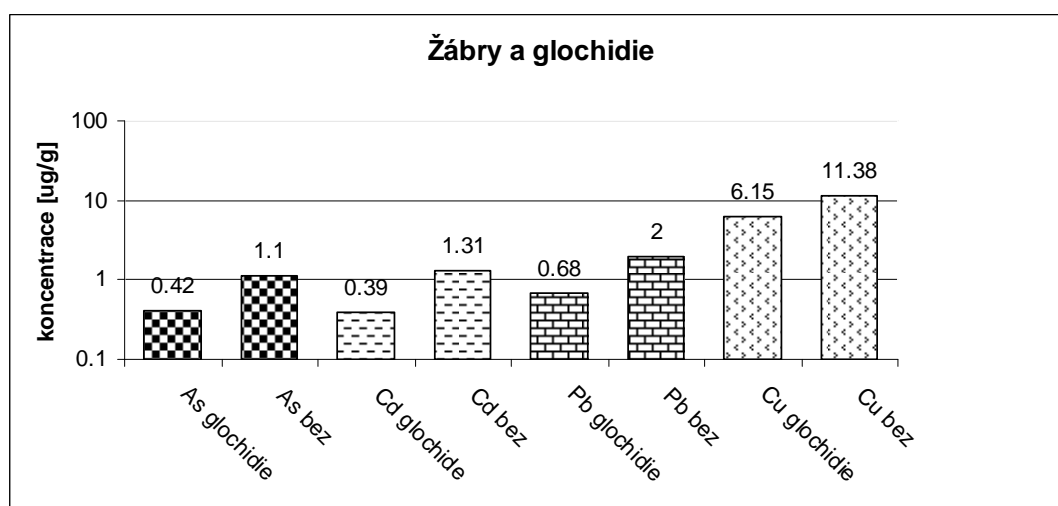
Žaberní lupeny měkkýšů jsou považovány za místo výměny dvojmocných kationů, proto hrají významnou roli při příjmu a akumulaci kovů (Gundacker 2000, Thorsen et al. 2006). Dvojmocné kationty tvoří právě Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , u kterých byly zaznamenány vyšší hodnoty v žábřích, zatímco As se vyskytuje v oxidační stupních III a V. U As proto může převažovat příjem trávicí soustavou místo výměny na žaberních lupenech a s tím spojené jiné metabolické procesy a ukládání v jiných tělesných částech. Průměrné hodnoty kovů naměřené v žábřích a svalovině jsou uvedeny v tabulce 3.

Hypotéza H4 zkoumala závislost množství kovů ve tkáních na velikosti jedinců. U každé škeble byla změřena délka, šířka a výška lastury s přesností na milimetry a pomocí korelace byla tato závislost zjišťována. Přitom u všech měřených rozměrů (délka, šířka, výška) lastury platí pozitivní korelace s věkem jedinců, tedy větší rozměry byly naměřeny u starších jedinců (korelační koeficient u všech rozměrů $>0,7$, $n=50$, kritická hodnota 0,28). Výsledky by tak měly odpovídat výsledkům hypotézy H2, kde byla řešena závislost koncentrací kovů ve tkáních na věku. Z výsledků vyplývá, že určitá shoda mezi těmito hypotézami existuje. Zcela byla potvrzena výjimka u Cd, které se ve svalnaté noze akumuluje více u větších jedinců, je zde potvrzena pozitivní korelace. Naopak ostatní kovy As, Pb, Cu jsou přítomny ve větších množstvích u menších jedinců, o čemž svědčí záporné korelační koeficienty. Statisticky potvrzená záporná korelace byla potvrzena u Cu téměř u všech měřeních. U ostatních kovů je závislost na velikosti potvrzena pouze v některých případech, ale lze obecně konstatovat, že kromě Cd ve svalnaté noze se kovy hromadí spíše v menších jedincích. Nejvíce potvrzených závislostí bylo zjištěno u měření výšky lastury. U tohoto rozměru byla závislost potvrzena u všech kovů i tkání mimo Cd v žábách. Zdá se tedy, že nejvíce korelují koncentrace kovů s výškou lastury. Přitom platí jako v ostatních případech záporná korelace, s menší výškou lastury se zvyšuje množství kovů ve tkáních (výjimku tvoří Cd, kde je trend opačný). Podobné závěry uvádí ve své práci Balogh & Mastala (1994), kde je popisována negativní korelace mezi velikostí lastury *Anodonta piscinalis* (*Unionidae*) a obsahy kovů Cu, Pb a Cd. Pozitivní lineární korelace se uvádí u Fe, Mn a Zn (Balogh & Mastala 1994). U kadmia přitom v této práci byla prokázána zcela jasná pozitivní korelace s velikostí lastury. Tato závislost však platí zejména pro svalovinu nohy, přičemž zmínění autoři pracovali se žábrami. Možným vysvětlením jsou různé metabolické procesy, kterých se účastní různé kovy jiným způsobem. Například esenciální prvky jsou během života „zabudovány“ v biomase během růstu a s větší hmotností biomasy se hodnoty těchto prvků zvyšují. Toxické kovy mohou být vlivem detoxikačních procesů ukládány zejména ve formě metalothioneinů (MT) nebo jsou v organismu ukládány v nerozpustných fosforečnanových formách (MRG). MT se mohou postupně vylučovat, zatímco komplexy ve formě MRG částečně zůstávají uloženy v těle (viz kapitola Mlži jako biomarkery). Na příkladu *Anodonta piscinalis* ze studie Balogh & Mastala (1994) uvádí, že jedinec starý 1 rok během sezony zdvojnásobí nebo ztrojnásobí svojí délku, zatímco jedinec starý 5 let vytvoří přírůstek do 10 %. Pokud jsou v prostředí kovy přístupné v biologické formě, dochází k velkým příjmům právě mladými, rychle rostoucími jedinci. Kovy se tak detoxikačními mechanismy rychle hromadí v orgánech (ve formě vázané – nepřístupné metabolickým procesům) a jejich koncentrace narůstá. Časem se z těla pak část toxických látek vylučuje. V opačném případě může docházet vlivem rychlého přírůstku k „ředění“ toxických kovů v biomase. Rychlost růstu a s tím spojená tvorba biomasy je u mladších jedinců vyšší než ukládání kovů v tkáních a dochází ke zmenšování podílu kovu. V tomto případě tkáň mladších jedinců obsahují menší hodnoty kovů. Toto tvrzení podporují i naměřené hodnoty kovů v sedimentech a vodě v jednotlivých profilech. Kadmia, které vykazuje jako jediné ve svalovině nohy pozitivní korelaci s velikostí, bylo naměřeno velice malé množství a v sedimentech i vodě na dvou profilech byly hodnoty dokonce pod mezí detekce. Podle toho lze usoudit, že zkoumaný úsek řeky Sázavy je kadmii zatížen pouze minimálně. Obecně však výsledky neprokázaly jednoznačnou závislost mezi velikostními rozměry lastury a množstvím kovů ve svalovině a žábách, pouze naznačily výše popsané trendy.

Hypotéza H5 řešila otázku vztahu mezi množstvím kovů ve tkáních a hmotností lastury. Přitom podobně jako u velikosti jedinců existuje závislost mezi hmotností a věkem jedince (korelační koeficient 0,79, n=50, kritická hodnota 0,28). S vyšším věkem se hmotnost lastury zvyšuje. Výsledky tak opět potvrzují trend akumulace kovů v jedincích s menší hmotností lastury (s nižším věkem), kromě Cd ve svalovině nohy, kde se množství kovu ve tkáni zvyšuje s rostoucí hmotností lastury. Příčiny tohoto pozorování jsou shodné s tvrzením popsaném výše u hypotézy H4.

Hypotéza H6 a H7 zkoumaly vliv hmotnosti svalnaté nohy (H6) a hmotnosti žaber (H7) (obě tkáně po lyofilizaci) na množství kovů obsažených v těchto tkáních. Hmotnosti tkání jsou další měřitelnou charakteristikou každého jedince a opět platí pozitivní korelace s věkem a zvláště s velikostí lastury (korelační koeficient >0,80, n=50, kritická hodnota 0,28). Opět byly potvrzeny dřívější poznatky. Větší množství kovů bylo zjištěno u jedinců s menší hmotností žaber a svalnaté nohy. Výjimku tvoří opět Cd, kterého bylo více prokázáno u jedinců s vyšší hmotností svaloviny nohy. Závislost koncentrací ve svalovině nohy na hmotnosti nohy byla statisticky prokázána ve všech případech, lze tedy konstatovat že hmotnost nohy souvisí s obsahem stanovovaných kovů. Závislost kovů v žábách na jejich hmotnosti byla potvrzena u všech kovů s výjimkou olova, které se kritické hodnotě korelačního koeficientu pouze přiblížilo. Pro kumulaci Pb v žábách tak nebyla prokázána závislost na hmotnosti. Ovšem jako v předchozích případech platí, že se zvětšují hmotností žaber klesají hodnoty kovů v nich obsažené.

Hypotéza H8 zkoumala vliv přítomnosti či nepřítomnosti glochidií na množství kovů v žábách pomocí dvouvýběrového t-testu. Bylo prokázáno, že statisticky významně více kovů obsahují žábry bez glochidií (graf 5). Průměrná koncentrace naměřené v žábách obsahující glochidie a bez nich jsou uvedeny v tab. 4. Nižší koncentrace mohou být způsobeny rychlým růstovým vývojem vajíček a glochidií, kdy přírůstek biomasy převyšuje kumulaci přijatých kovů z okolí.

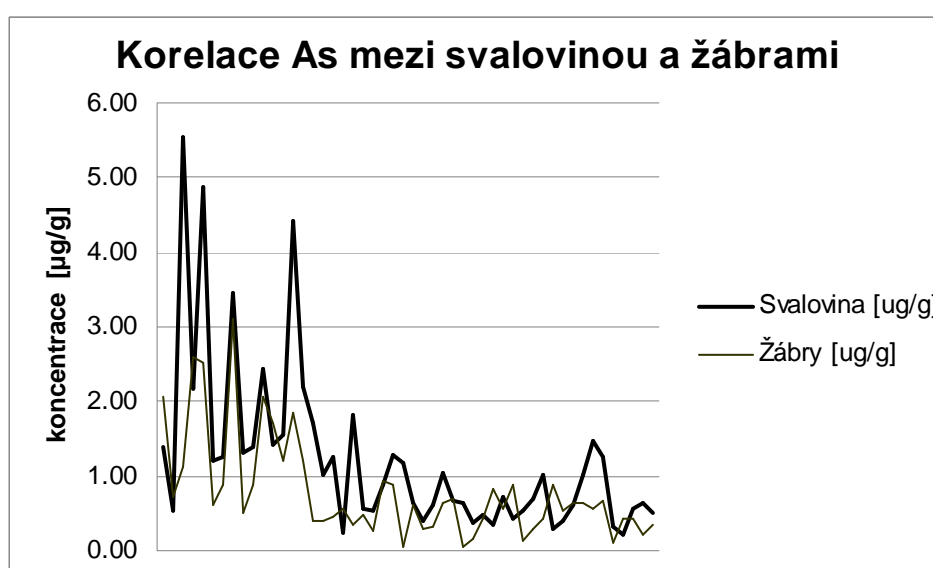


Graf 5: Průměrné hodnoty naměřené v žábách obsahující glochidie a bez přítomnosti glochidií.

Z důvodu vysoké hmotnosti žaber obsahujících glochidie byla odebrána pouze část žaberních lupenů s glochidii, které obsahují malé množství kovů a tím došlo

k celkovému snížení množství kovů v žábřích. Balogh & Mastala (1994) uvádějí rovněž menší koncentrace kovů v glochidiích oproti ostatním tkáním. Z výsledků vyplývá, že při stanovení určitých kovů v žábřích může přítomnost glochidií ovlivňovat výsledné koncentrace v žaberních lupenech.

H9 prokazovala korelaci mezi hodnotami koncentrací v žábřích a svalovině. Tato závislost nebyla jednoznačně prokázána u všech stanovovaných kovů. Závislost na množství kovů ve tkáních bylo prokázáno u As (korelační koeficient 0,6686) (graf 6) a u olova (korelační koeficient 0,3151). Průměrné hodnoty kovů v žábřích a svalovině jsou uvedeny v tab. 3. U prokázaných závislostí platí přímá úměra, čím vyšší hodnoty kovů byly naměřeny v jedné z tkání, tak větší množství obsahovala i druhá tkáň. Největší závislost byla prokázána u As.



Graf 6: Ukázka závislosti koncentrace As ve svalovině a v žábřích (korelační koeficient 0,67, $n=50$, kritická hodnota=0,28). U tohoto kovu byla zjištěna největší korelace ze studovaných kovů.

Tyto výsledky mohou mít souvislost s oxidačním číslem As, které se vyskytuje ve stavech III a V, zatímco kovy Cd, Pb a Cu zejména v oxidačním stavu II. Hlavním příjmem kovů ve formě dvojmocných iontů do organismu jsou považovány žábry (Gundacker 2000, Thorsen et al. 2006). Příklad tak v úvahu, že se arsen dostává do těla převážně trávicím traktem, odkud je do tkáně žaber a svaloviny distribuován. V tom případě by docházelo ke korelaci hodnot As v žábřích a svaloviny. Kovy Cd, Pb a Cu mají odlišný způsob převážně přes žábry, což zřejmě ovlivňuje distribuci mezi tkáněmi. Konkrétně podle hypotézy H3 a hodnoty koncentrací v tab. 3 prokazují vyšší obsahy kovů Cd, Pb a Cu v žábřích, zatímco statisticky vyšší hodnoty As jsou ve svalnaté noze.

Vyhodnocení koncentrací kovů v sedimentech a zkoumání jejich závislosti na podélném gradientu řeky testovala hypotéza H10. Celkem bylo stanoveno 16 kovů (As, Cd, Pb, Cu, Be, Co, Cr, Al, Fe, Hg, Mo, Mn, Ni, Ca, Se, Zn), dále bylo stanoveno množství celkového organického uhlíku (TOC) a podíl sušiny v sedimentech. (tab. 5). Závislost na gradientu řeky nebyla statisticky prokázána u kovů As, Pb, Cd, Be a Zn. Úroveň molybdenu se na všech profilech pohybovala pod mezí detekce. U ostatních kovů (Cu, Co, Cr, Al, Fe, Hg, Mn, Ni, Ca, Se, Zn) závislost prokázána byla, přičemž nejvyšší

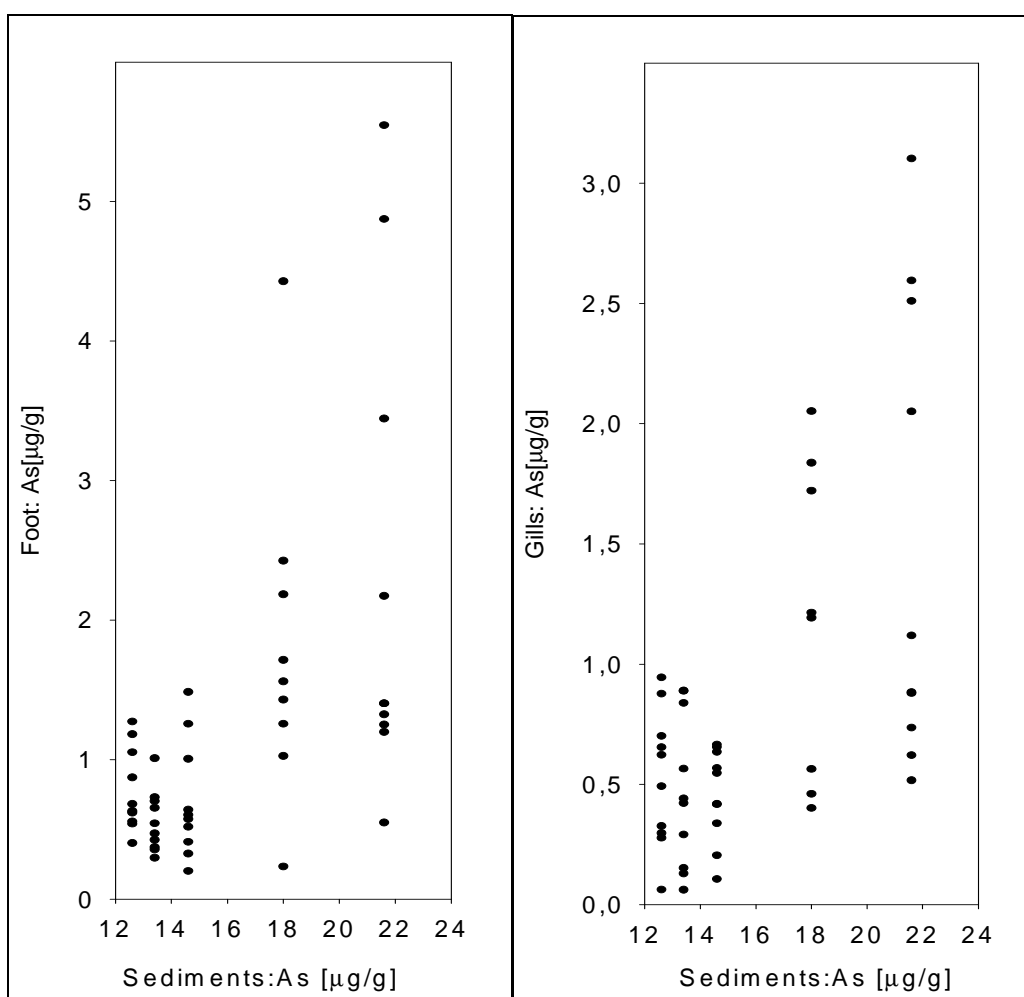
hodnoty těchto kovů byly naměřeny ve spodním úseku řeky, tedy v Pikovicích nebo Nespekách. Po vyhodnocení bylo dosaženo stejných výsledků i u TOC. U kovů, kde nebyla statisticky dokázaná závislost, lze taktéž pozorovat trend vyšších obsahů kovů v dolním úseku. Podíl sušiny ve vzorku vykazuje ovšem opačný trend, nejvyšší procentuelní zastoupení bylo zjištěno na horním toku v profilu Chlístov, zatímco nejnižší ve spodním úseku v Pikovicích. Z výsledků uvedených v tab. 5 lze vypočítat i další trendy na toku. Byla prokázána korelace mezi TOC, Cd a Ni. V profilu Nespeky byly naměřeny vyšší koncentrace než v Pikovicích, poté dochází k postupnému poklesu v Sázavě a zvýšení v Ledči n. S. V Chlístově pak byly naměřeny nejnižší hodnoty. Závislost pak byla prokázána i u dalších kovů (např. mezi Al, Fe, Hg, Mn). Změny nebo kolísání hodnot skupin kovů v jednotlivých profilech závisí na několika okolnostech. Koncentrace ovlivňuje míru znečištění v dané lokalitě, přítok, který může přinášet určitý podíl polutantů nebo obecně chemismus vody a složení sedimentů, které ovlivňuje adsorpci. Odběr sedimentů byl prováděn v místě sběru škeblí a v různých profilech byla vrstva sedimentů a jejich složení odlišné. V Pikovicích a Nespekách převažovaly bahnitě sedimenty o mocnosti cca 20 cm, zatímco v Sázavě a Ledči n. S. byla mocnost 1-3 cm s příměsí erodovaných hrubozrnných částí hornin. V Chlístově byli jedinci odebráni na pískové lavici s příměsí organického materiálu. Mocnost, složení sedimentů a sedimentačně-erozní poměry na jednotlivých lokalitách nebyly brány v úvahu, i když podmínky, při kterých ke vzorkování došlo, by se měly být standardizovány. Rovněž vliv jezů, kde nad konstrukcí v oblasti vzduté hladiny klesá unášecí rychlost a dochází v určitých místech k sedimentaci, nebyl brán zřetel. Tyto a další faktory mohou mít vliv na množství kovů podél gradientu řeky a proto může docházet k různým výkyvům na jednotlivých částech řeky. Cílem práce však primárně bylo vyhodnocování koncentrací vybraných kovů ve tkáních v souvislosti se sedimenty a vodou. Proto byly odebrány v místech sběru škeblí bez ohledu na charakter sedimentů v místě.

H11 testovala závislost koncentrací kovů a dalších chemicko-fyzikálních veličin ve vodě na podélném gradientu. Nebyla prokázána závislost žádného z testovaných kovů ve vodě na gradientu řeky. Hodnoty kovů tak kolísají podle místních hydrochemických podmínek a míry znečištění. Průměrné hodnoty kovů a dalších parametrů naměřené ve vodě jsou uvedeny v tab. 6. Na prokazování závislosti bylo také použito velice málo stanovení, pouze 4 a to z profilů Pikovice, Sázava, Ledec n. S. a Chlístov. V Nespekách nebylo měření v roce 2009 prováděno. Pro objektivnější analýzu by bylo mít potřeba k dispozici více měření z každé lokality, nejlépe ve stejném období. I když nejsou výsledky statisticky průkazné, lze u některých hodnot předpokládat určitou závislost. Největší taková se projevila při stanovení vodivosti (korelační koeficient -0,93), přičemž v dolním úseku byly naměřeny vyšší hodnoty oproti hornímu. S větší naměřenou vodivostí (konduktivitou) roste počet iontů ve vodě. pH bylo na zkoumaném úseku řeky vyrovnané, pohybovalo se v rozmezí 7,6 až 7,9. Nejvyšší teplota byla naměřena v Pikovicích (9,3 °C), nejnižší v Chlístově (8,2 °C). Zajímavé je, že nejvyšší hodnoty Pb, Cu, TOC i As byly ve vodě naměřeny v Chlístově na horním toku, zatímco v sedimentech byly nejvyšší hodnoty naměřeny v dolní části v Pikovicích a Nespekách. Statisticky se žádná závislost ve vodě na podélném gradientu Sázavy z důvodu malého počtu stanovení nepodařilo prokázat.

H12 testovala závislost koncentrací ve vodě a v sedimentech. Žádná korelace nebyla prokázána. Pro silnou analýzu však nebylo k dispozici dostatečné

množství dat. Průměrné hodnoty kovů v sedimentech a vodě v jednotlivých profilech jsou uvedeny v tab. 5 a 6.

H13 zjišťovala závislost koncentrace ve tkáních na hodnotách kovů v sedimentech. Průměrné hodnoty kovů ve tkáních a sedimentech jsou uvedeny v tab. 1 a 5. Výsledky prokázaly určité korelace, liší se však podle kovu a typu tkáně. Nelze tak obecně konstatovat spojitost mezi koncentracemi ve tkání v závislosti na množství kovů v sedimentech. U arsenu se jako u jediného kovu potvrdila pozitivní korelace s hodnotami v sedimentech u obou tkání (graf 7). U kadmia byla negativní závislost prokázána pouze u svaloviny. Se vzrůstajícími hodnotami Cd v sedimentech se snižovaly hodnoty tohoto kovu ve tkáni svalnaté nohy. Obsah tohoto kovu v žábrách se jeví jako nezávislý na hodnotách v sedimentech.



Graf 7: Naměřené hodnoty arsenu v sedimentu, ve svalovině a žábrách. Byla prokázána pozitivní korelace u obou tkání s hodnotami v sedimentu.

Hypotéza H13 byla potvrzena i u naměřených koncentrací Pb ve svalovině. Naopak pozitivní korelace byla zjištěna u hodnot Pb v žábrách. Silná pozitivní závislost na sedimentech byla prokázána u Cu ve svalovině nohy. Naopak koncentrace Cu v žábrách podle výsledků nejsou korelované s hodnotami v sedimentu. Tyto výsledky jsou v souladu i s jinými pracemi. Ravera et al. (2003) uvádí pouze slabou závislost kovů ve tkáních dvou mlžů (*Unio pictorum*, *Dreissena polymorpha*) na sedimentech. Taktéž Gundacker (2000) zjistil u tkání z *Anodonta anatina* pozitivní korelace se sedimenty, kdežto u *Unio*

pictorum ze stejné lokality převážně negativní korelace. V literatuře jsou uváděny všechny možnosti, pozitivně i negativně korelované nebo nezávislé, závisí tak na druhu mlže, tkáni a kovu.

H14 testovala závislost kovů ve tkáních na koncentracích ve vodě. Byla potvrzena pouze u Pb a Cu ve svalnaté noze. Obě závislosti jsou záporné a jsou relativně slabé. U ostatních sledovaných kovů a tkání byla hypotéza H14 potvrzena, koncentrace kovů ve tkáních jsou nezávislé na hodnotách kovů ve vodě. Ravera et al. (2003) ve své práci nepotvrdil žádnou závislost na obsahu kovů ve vodě. Z toho autor usuzuje, že nelze výsledky z biomonitoringu s využitím mlžů vztahovat ke dni odběru, ale že vypovídají o dlouhodobé situaci na lokalitě. To je nakonec i výhoda a důvod, proč se tyto organismy k monitoringu životního prostředí používají.

5. Závěr

Práce byla navržena tak, aby výsledky mohly dát odpovědi na položené otázky v úvodu. Některé byly zodpovězeny zcela, u jiných nelze jednoznačně odpověď potvrdit.

1. Závislost koncentrace kovů ve tkáních (svalovina nohy a žábry) na podélném gradientu Sázavy byla potvrzena u všech sledovaných kovů (As, Cd, Pb, Cu) ve svalovině nohy a u žaber byla nezávislost potvrzena pouze u Cu. U As, Pb a Cu pouze ve svalovině, bylo prokázáno zvyšování hodnot od horního toku (profil Chlístov) k dolnímu (profil Pikovice). U Cd byl trend opačný, koncentrace se zvyšovaly od dolních úseků k horní části Sázavy.

V sedimentech z jednotlivých profilů bylo stanoveno celkem 16 kovů. Závislost množství kovů v sedimentech na gradientu Sázavy bylo prokázáno Cu, Co, Cr, Al, Fe, Hg, Mn, Ni, Ca a Se. Naopak jako nezávislé se jeví As, Pb, Cd, Be a Zn. U kovů v sedimentu závislých na gradientu se koncentrace vždy zvyšovala směrem k ústí toku. Náznak tohoto trendu byl podle očekávání i u statisticky nepotvrzených kovů.

Koncentrace kovů (As, Cd, Pb, Cu) ve vodě byly vyhodnoceny jako nezávislé na podélném gradientu Sázavy.

2. Výsledky prokázaly u všech kovů statisticky významný rozdíl mezi hodnotami v žábách a svalovině. Přitom Cd, Pb a Cu byly kumulovány více v žábách, zatímco As bylo více ve svalovině.

3. Z výsledků nelze obecně jednoznačně určit závislost koncentrace kovů na věku *Anodonta anatina*. Korelační koeficient u As ve svalovině se pohybuje na hranici průkaznosti závislosti na věku. Negativní korelace tohoto kovu se ovšem projevila u tkáni žaber. U Cd ve tkáni svaloviny byla potvrzena pozitivní závislost na věku. Hodnoty Cd v žábách se jeví jako nezávislé. U Pb v obou typech tkání byla také potvrzena nezávislost koncentrace na věku. Negativní korelace s věkem byla potvrzena u hodnot Cu ve svalnaté noze a hodnoty v žábách byly vyhodnoceny jako nezávislé.

Přibližně stejné závěry lze vyvodit z výsledků testování závislosti koncentrace kovů ve tkáních na velikosti jedinců. Obecně největší závislost kovů byla potvrzena na rozměrech výšky lastury. Negativní korelace s výškou byla potvrzena u As, Pb a to u obou typů tkání. Negativní závislost byla taktéž prokázána u svaloviny nohy u Cu, v žábách se hodnota korelačního koeficientu pohybovala na hraně průkaznosti. Obecně však nejsou tyto závislosti příliš silné, nicméně na souboru 50 jedinců *Anodonta anatina* jsou prokazatelné. Naopak pozitivní korelace byla prokázána pouze u Cd ve tkáni svaloviny, hodnoty v žábách byly shledány nezávislými na výšce lastury. U délky a šířky lastury bylo dosaženo podobných výsledků, ale prokázaných závislostí bylo méně. Rovněž u hmotnosti lastury, svalnaté nohy a žaber bylo dosaženo podobných výsledků. Jednoznačný trend u všech testovaných závislostí je větší či menší negativní korelace s věkem, velikostí i hmotností jedinců u kovů As, Pb a Cu. Naopak průkazná pozitivní závislost byla prokázána u Cd ve svalovině.

4. Korelace mezi množstvím kovů ve tkáních a v sedimentech byla shledána u obou typů tkání pouze u As. Závislost byla pozitivní, tudíž se zvyšujícími se hodnotami

As v sedimentu byly měřeny i vyšší hodnoty ve tkáních. Pozitivní korelace byla potvrzena i u Pb v žábřách, zatímco ve svalovině není závislost průkazná. Naznačuje ovšem stejný trend jako v žábřách. Nejvyšší pozitivní závislost byla zjištěna u Cu v žábřách, zatímco Cu ve svalovině se jeví jako zcela nezávislé. Opačný trend byl opět potvrzen u Cd, kde se projevila negativní závislost s množstvím Cd v sedimentech. V profilech s většími hodnotami Cd v sedimentech byli zjištěni jedinci *Anodonta anatina* s menšími hodnotami tohoto kovu ve tkáni žaber. Obdobný trend, i když s neprůkaznou závislostí, platí i u svaloviny.

Při testování závislosti hodnot kovů v sedimentu na koncentracích naměřených ve vodě nebyla prokázána korelace v žádném případě.

5. Na poslední položenou otázku v úvodu je odpověď velice obsáhlá a detailní popis této problematiky je složitý vzhledem k množství faktorů, které příjem a množství kovů ve tkáních ovlivňují. Otázku se snaží zodpovědět kapitoly Kovy v říčních ekosystémech a Mlži jako biomarkery. Obecně lze konstatovat, že na příjem a inkorporace kovu do organismu (mlžů, ale i ostatní vodní fauny) mají větší či menší vliv následující faktory: biologická dostupnost kovu (forma výskytu), pH, teplota, salinita, přítomnost organických látek a ostatních prvků ve vodě a sedimentech, roční období, druh mlže, fyziologický stav, reprodukční stav, věk nebo velikost jedince (Tomazelli et al. 2003, Mubiana et al. 2006).

6. Seznam tabulek, grafů a obrázků

Seznam obrázků:

Obr. 1: Různé velikostní frakce sedimentu	10
Obr. 2: Schéma základních forem výskytu kovů ve vodě	11
Obr. 3: Příklad vzniku povrchového náboje.....	13
Obr. 4: Teoretický příjem kontaminantu (a) a vylučování (b) u sladkovodních mlžů	24
Obr. 5: Zvolené profily na řece Sázavě	27
Obr. 6: Profil Pikovice	65
Obr. 7: Profil Nespeky	65
Obr. 8: Profil Sázava	66
Obr. 9: Profil Ledec nad Sázavou	66
Obr. 10: Profil Chlístov	67
Obr. 11: Vzorek sedimentů	67

Seznam tabulek:

Tab. 1: Průměrné hodnoty kovů ve svalovině a žábřách	33
Tab. 2: Průměrné hodnoty kovů u jednotlivých věkových kohort	34
Tab. 3: Průměrné hodnoty koncentrací kovů v žábřách a svalovině nohy	35
Tab. 4: Průměrné hodnoty kovů naměřených v žábřách s přítomnými glochidiemi a bez přítomnosti glochidií	39
Tab. 5: Koncentrace kovů a celkového organického uhlíku naměřené v sedimentech v jednotlivých profilech.....	41
Tab. 6: Průměrné koncentrace kovů, pH, vodivost, teplota a celkový organický uhlík (TOC) naměřené ve vodě v jednotlivých profilech.....	42
Tab. 7: Naměřené hodnoty kovů ve tkáních <i>Anodonta anatina</i>	63

Seznam grafů:

Graf 1: Průměrné koncentrace kovů v jednotlivých profilech	45
Graf 2: Průměrné koncentrace kovů z jednotlivých profilů naměřených v žábřách	46

Graf 3: Trendy jednotlivých kovů v závislosti na věku jedinců.....	46
Graf 4: Průměrné hodnoty jednotlivých kovů ve svalovině nohy a v žábřách.....	47
Graf 5: Průměrné hodnoty naměřené v žábřách obsahující glochidie a bez přítomnosti glochidí	49
Graf 6: Ukázka závislosti koncentrace As ve svalovině a v žábřách	50
Graf 7: Naměřené hodnoty arsenu v sedimentu, ve svalovině a žábřách.....	52

7. Použitá literatura

Balogh V. K. & Mastala Z., 1994: The influence of size and glochidia bearing upon the heavy metal accumulation in gills of *Anodonta piscinalis* (Nilss.). *Chemosphere*, Vol. 28, No. 8, p. 1539-1550

Borovec Z., 1994: Mobilita toxických prvků v říčních sedimentech. *Vesmír* 73, 561, online: <http://www.vesmír.cz/clanek/mobilita-toxicky-prvku-v-ricnich-sedimentech>, cit. 15. 1. 2011

Bořek T., 2009: Toxické kovy ve vodě a sedimentech vodní nádrže Brno. *Diplomová práce. VUT Brno*

Brown C. & Luoma N. S., 1995: Use of the euryhaline bivalve *Potamocorbula amurensis* as a biosentinel species to assess trace metal contamination in San Francisco Bay. *MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES*, Vol. 124: p. 129-142

Buchar J., Ducháč V., Hůrka K., Lellák J., 1995: Klíč k určování bezobratlých. *Scientia, spol. s r.o., Praha*

Burger J., Fossi C., McClellan-Green P., Orlando E. F., 2007: Methodologies, bioindicators and biomarkers for assessing gender-related differences in wildlife exposed to environmental chemicals. *Environmental Research* 104, p. 135–152

ČHMÚ 2009: Hydrologická ročenka České republiky 2009. Online: <http://voda.chmi.cz/hr09/uvod.html>, cit. 18. 3. 2011

Černohorský T., 1997: Technika elektrotermické atomizace. In: Atomová absorpční spektrometrie. *Sborník přednášek z kurzu 9. – 11. 6. 1997 v Komorní Lhotce, 2 Theta, Český Těšín, s. 54 – 74*

Dědina J., 1997: Technika generování hydridů. In: Atomová absorpční spektrometrie. *Sborník přednášek z kurzu 9. – 11. 6. 1997 v Komorní Lhotce, 2 Theta, Český Těšín, s. 46 – 54*

Fajtl J., Tichý R., Ledvina R., 2001: Sladkovodní kontaminované sedimenty jako časované chemické bomby. *Chemické listy* 95, 621 - 629

Faria M., López A. M., Díez S., Barata C., 2010: Are native naiads more tolerant to pollution than exotic freshwater bivalve species? An hypothesis tested using physiological responses of three species transplanted to mercury contaminated sites in the Ebro River (NE, Spain). *Chemosphere* 81 (2010), p. 1218–1226

Hickey W. C., Rper S. D., Buckland J. S., 1995: Metal concentrations of resident and transplanted freshwater mussels *Hyridella menziesi* (Unionacea: Hyriidae) and sediments in the Waikato River, New Zealand. *Science of the total environment. Volume 175*, p. 163-177

John A.D. & Leventhal S.J., 2011: Bioavailability of metals. Online: <http://pubs.usgs.gov/of/1995/ofr-95-0831/CHAP2.pdf>, cit. 12. 3. 2011

Kafka Z., Punčochářová J., 2002: Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chem. Listy* 96, p. 611 - 617

Knésl I., Kříbek B., Mihaljevič M., Šikl J., Buda J., Lukeš P., 2009: Kontaminace půd těžkými kovy v okolí závodu na výrobu olovnatého skla ve Světlé nad Sázavou. In *Geoscience Research Reports for 2009, Czech Geological Survey, Prague, 2010*

Kolpík R., Čurdová E., Mestek O., 1997: Speciace stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech. *Chem. Listy* 91, p. 38 – 47

Komárek J., 2001: Atomová absorpční spektrometrie. *Masarykova univerzita, Brno*

Kovaříková V., 2010: Vývoj gelových technik pro in situ měření biodostupných forem kovů v půdách a sedimentech. *Disertační práce, VUT Brno, p. 160*

Kraak S. H. M., Scholten T. C. M., Peeters H. W., Kock Ch. W., 1991: Biomonitoring of heavy metals in the Western European Rivers Rhine and Meuse using the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Environmental pollution, Volume 74, Issue 2, p. 101-114*

Kubal M., Burkhard J., Březina M., 2002: Dekontaminační technologie. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. <http://www.vscht.cz/uchop/CDmartin/index.html>*

Large D.J., Fortey N.J., Młodowski A.E., Christy A.G., Dodd J., 2011: Petrographic observations of iron, copper and zinc sulfides in freshwater canal sediment. *Online: <http://jsedres.sepmonline.org/cgi/content/abstract/71/1/61>, cit. 2. 2. 2011*

Lellák J., Kořínek V., Fott J., Kořínková J., Punčochář P., 1985: Biologie vodních živočichů. *Univerzita Karlova, Praha*

Liška M., 2007: Metodika pro sledování kontaminace říčních ekosystémů specifickými anorganickými a organickými látkami pomocí bioindikátorových organismů. *Online: [http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/prehled_akceptovanych_metodik_tekoucich_vod/\\$FILE/OOV-Biomonitoring_metodika_MZP-20070501.pdf](http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/prehled_akceptovanych_metodik_tekoucich_vod/$FILE/OOV-Biomonitoring_metodika_MZP-20070501.pdf), cit. 15. 3. 2011*

Liu L., Li F., Xiong D., Song C., 2006: Heavy metal contamination and their distribution in different size fractions of the surficial sediment of Haihe River, China. *Environ Geol* 50: p. 431–438

Mihaljevič M., Šebek O., 1995: Kadmium, Japonsko a syndrom "itai-itai". *Vesmír* 74, 444, *online: <http://www.vesmir.cz/clanky/clanek/id/4979>, cit. 1. 3. 2011*

Mubiana V. K., Vercauteren K., Blust R., 2006: The influence of body size, condition index and tidal exposure on the variability in metal bioaccumulation in *Mytilus edulis*. *Environmental Pollution* 144, p. 272 – 279

Nábělková J., Komínková D., Šťastná G. 2011: Hodnocení rizika těžkých kovů v sedimentu drobných vodních toků pražské aglomerace. *Online: http://www.lermo.cz/old/pdf/publ_nabel_2003_2.pdf, cit. 14. 2. 2011*

Naimo T. J., 1995: A review of the effects of heavy metals on freshwater mussels. *Ecotoxicology. Volume 4, Number 6, p. 341-362*

Pavliš M., 2005: Toxické kovy. *Online: http://ekologie.upol.cz/ku/etxo/toxikologie_kovu.pdf, cit. 28. 1. 2011*

Pertold Z., 1998: Arsen v životním prostředí. *Vesmír* 77, 323, online: <http://www.vesmir.cz/clanek/arsen-v-zivotnim-prostredi>, cit. 25. 2. 2011

Pitter P., 2009: Hydrochemie. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.*

Rainbow S. P., 2002: Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution* 120, p. 497–507

Ravera O., Cenci R., Beone G. M., Dantas M., Lodigiani P., 2003: Trace element concentrations in freshwater mussels and macrophytes as related to those in their environment. *J. Limnol* 62, p. 61 – 70

Ravera O., Beone M. G., Trincerini R. P., Riccardi N., 2007: Seasonal variations in metal content of two *Unio pictorum* (Mollusca, Unionidae) populations from two lakes of different trophic state. *J. Limnol* 66, p. 28 – 39

Santoro A., Blo G., Mastrolitti S., Fagioli F., 2009: Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macroinvertebrates along the Basento river in the south of Italy. *Water Air Soil Pollut*, 201: p. 19–31

Svobodová Z., 1987: Toxikologie vodních živočichů. *Státní zemědělské nakladatelství, Praha*

Svobodová Z., Máchová J., Vykusová B., Piačka V., 1996: Kovy v ekosystémech povrchových vod. *Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický Jihočeské univerzity, Vodňany*

Szaková J., Mihaljevič M., Tlustoš P., 2007: Mobilita, transformace a základní metody stanovení sloučenin arsenu v půdě a rostlinách. *Chem. Listy* 101, 397–405

Thorsen A. W., Cope G. W., Shea D., 2006: Toxicokinetics of environmental contaminants in freshwater bivalves. In: *Hassel V. H. J. & Farris L. J., 2006: Freshwater bivalve ecotoxicology. Setac, USA, p. 13 - 28*

Tomazelli C. A., Martinelli A. L., Avelar P. E. W., Camargo de B. P., Fostier H. A, Ferraz B. S. E., Krug J. F., Júnior S. D., 2003: Biomonitoring of Pb and Cd in two impacted watersheds in southeast Brazil, Using the freshwater mussel *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Mycetopodidae) as a biological monitor. *Brazilian archives of biology and technology*, Vol 46, p. 673 – 684

Türkmen M. & Ciminli C., 2007: Determination of metals in fish and mussel species by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. *Food Chemistry* 103, p. 670 - 675

Valavanidis A. & Vlachogianni T., 2011: Integrated biomarkers in aquatic organisms as a tool for biomonitoring environmental pollution and improved ecological risk assessment. Online: <http://chem-tox-ecotox.org/wp/wp-content/uploads/2010/01/01-January-20101.pdf> , cit. 12. 3. 2011

van der Oost R., Beyer J., Vermeulen P.E.N., 2002: Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 13, p. 57-149

Veselý J., 1994: Kontaminace českých řek stopovými prvky. *Vesmír* 73, 558, online: <http://www.vesmir.cz/clanek/kontaminace-ceskych-rek-stopovymi-prvky>, cit. 11. 2. 2011

Vítek L., 2009: Metodiky analýzy kovů v těle mlžů. *Bakalářská práce. Česká zemědělská univerzita v Praze.*

Wagner A. & Boman J., 2004: Biomonitoring of trace elements in Vietnamese freshwater mussels. *Spectrochimica Acta Part B 59, p. 1125–1132*

Wallace G. W., Lee G. B., Luoma S., 2003: Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. I. Significance of metal-sensitive fractions (MSF) and biologically detoxified metal (BDM). *Marine ecology progress series. Vol. 249: 183–197*

Zbírál J., 1994: Analýza rostlinného materiálu. *SKZÚZ, Brno*

Zimák J., 2005: Petrografie sedimentů. *PřF UP Olomouc*

8. Přílohy

lokalita	škeble	lastura -		šířka [cm]	výška [cm]	noha -		žábry - hmotnost [g]	glochidie	věk	ARSEN		KADMIUM		OLOVO		MĚĎ	
		hmotnost [g]	délka [cm]			hmotnost [g]	hmotnost [g]				noha ug/g	žábry ug/g	noha ug/g	žábry ug/g	noha ug/g	žábry ug/g	noha ug/g	žábry ug/g
Pikovice	1	4.30	5.9	3.7	1.6	0.05	0.08			2	1.40	2.05	0.08	0.24	3.65	2.04	4.52	11.98
	2	3.67	5.5	3.4	2.1	0.05	0.29	G		3	0.55	0.74	0.60	0.04	2.05	1.30	5.85	11.90
	3	4.66	6.2	4.1	1.5	0.03	0.23	G		2	5.55	1.12	0.04	0.93	1.89	1.60	7.80	8.52
	4	3.98	5.5	3.5	1.6	0.04	0.08			2	2.17	2.60	0.01	0.29	1.04	4.15	5.03	19.34
	5	7.10	6.5	4.0	2.0	0.04	0.13			3	4.87	2.51	0.07	0.08	4.78	3.71	4.42	5.53
	6	10.80	7.6	5.2	2.3	0.06	0.82	G		3	1.20	0.62	0.03	0.04	0.60	0.96	3.24	9.29
	7	23.18	8.8	5.8	3.1	0.14	0.34			7	1.25	0.88	0.11	1.37	0.50	2.37	2.17	6.87
	8	12.38	7.4	4.7	2.5	0.05	0.08			6	3.44	3.10	0.14	0.11	0.57	2.85	3.65	17.97
	9	10.29	7.3	4.3	2.4	0.05	0.83			3	1.32	0.52	0.08	0.03	0.41	0.71	3.01	3.88
	10	19.79	8.2	5.0	2.9	0.05	0.33			6	1.40	0.88	0.12	0.73	0.73	2.68	3.57	9.95
Nespeky	11	5.24	6.5	3.6	2.1	0.05	0.11			2	2.43	2.05	0.07	0.38	0.85	1.92	4.10	11.96
	12	7.59	6.8	4.1	2.0	0.05	0.14			2	1.43	1.72	0.07	0.22	0.32	1.40	4.60	3.53
	13	6.65	6.7	3.9	2.1	0.08	0.16			2	1.56	1.21	0.05	0.43	0.78	0.99	3.21	15.74
	14	5.32	6.3	3.9	1.6	0.04	0.08			2	4.43	1.84	0.06	0.19	0.94	2.85	4.29	4.82
	15	10.53	8.0	5.3	2.4	0.09	0.21			3	2.18	1.19	0.05	0.89	1.52	1.20	3.01	16.29
	16	27.67	10.0	5.4	4.0	0.19	2.26	G		8	1.71	0.40	0.11	0.06	0.27	0.70	1.16	8.78
	17	30.43	10.1	5.5	3.8	0.17	1.96	G		6	1.03	0.40	0.09	0.07	0.75	0.90	2.17	5.30
	18	21.73	9.3	5.3	3.3	0.22	2.25	G		3	1.26	0.46	0.05	0.04	0.86	0.83	2.05	7.45
	19	16.31	9.1	5.0	3.2	0.15	1.80	G		6	0.23	0.56	0.08	0.06	0.58	0.88	1.86	6.56
	20	24.40	9.9	5.3	3.3	0.22	1.98	G		4	1.83	0.34	0.06	0.07	0.89	0.92	1.64	4.58
Sázava	21	3.76	5.4	3.2	1.9	0.06	0.10			3	0.56	0.49	0.06	2.27	1.91	1.27	3.17	24.98
	22	6.34	6.7	4.0	2.1	0.08	0.57	G		2	0.54	0.28	0.04	0.08	0.27	0.75	1.82	7.14
	23	14.94	7.7	4.7	2.3	0.13	0.23			3	0.87	0.94	0.07	1.54	1.77	1.70	2.06	8.84
	24	12.60	7.5	4.2	2.3	0.12	0.30			5	1.27	0.88	0.05	1.67	1.09	1.20	1.50	17.13
	25	10.94	7.2	5.7	2.5	0.14	0.99	G		6	1.18	0.06	0.05	0.05	1.23	0.88	2.10	5.63
	26	11.84	7.4	4.2	2.6	0.09	0.42			5	0.63	0.62	0.12	1.44	0.25	1.11	1.11	2.36
	27	18.97	8.6	4.8	3.1	0.17	1.58	G		8	0.40	0.30	0.16	0.21	0.92	0.54	1.00	5.83
	28	31.27	9.9	5.6	3.3	0.28	2.57	G		7	0.62	0.33	0.08	0.08	0.50	0.32	1.28	1.83
	29	20.33	8.7	5.1	3.2	0.16	1.57	G		8	1.05	0.65	0.20	0.17	0.41	0.48	1.14	4.26
	30	27.59	9.7	5.9	3.0	0.23	0.49			8	0.68	0.70	0.10	1.30	0.88	0.90	1.12	2.96

lokalita	škeble	lastura -		šířka [cm]	výška [cm]	noha -		žábry - hmotnost [g]	glochidie	věk	ARSEN		KADMIUM		OLOVO		MĚĎ	
		hmotnost [g]	délka [cm]			hmotnost [g]	hmotnost [g]				noha ug/g	žábry ug/g	noha ug/g	žábry ug/g	noha ug/g	žábry ug/g	noha ug/g	žábry ug/g
Ledeč nad Sázavou	31	4.74	6.2	3.5	1.9	0.08	0.38		G	3	0.65	0.06	0.06	0.35	1.10	0.41	1.57	4.55
	32	7.11	6.8	4.1	2.2	0.09	0.66		G	2	0.37	0.15	0.09	0.23	0.27	0.34	1.95	1.61
	33	4.25	6.0	3.6	1.7	0.06	0.19			2	0.47	0.42	0.05	0.19	0.59	0.55	2.46	4.23
	34	4.60	6.0	3.6	1.8	0.07	0.14			2	0.36	0.84	0.08	3.17	0.79	2.01	1.67	16.44
	35	6.67	5.9	3.8	1.8	0.06	0.15			3	0.73	0.57	0.13	1.94	0.23	2.53	2.38	2.79
	36	15.31	8.4	5.0	2.5	0.16	0.33			5	0.43	0.89	0.12	2.05	0.28	3.69	1.64	11.21
	37	16.91	8.4	5.0	2.8	0.13	1.34		G	6	0.54	0.13	0.16	0.11	0.48	0.25	1.20	1.69
	38	20.50	9.1	5.4	3.0	0.22	1.93		G	6	0.70	0.29	0.09	0.10	0.76	0.30	1.08	3.05
	39	14.74	8.0	4.4	3.0	0.11	1.07		G	7	1.01	0.44	0.18	0.10	0.89	0.37	1.67	1.59
	40	13.52	8.0	5.0	2.6	0.11	0.40			6	0.30	0.89	0.17	1.74	0.98	6.18	1.43	3.86
Chlístov	41	10.30	7.5	4.0	2.4	0.13	0.74		G	3	0.41	0.55	0.14	1.57	0.34	0.46	1.67	8.56
	42	8.22	7.1	3.8	2.2	0.17	0.20			3	0.60	0.64	0.12	3.94	0.46	0.81	0.92	22.47
	43	11.64	8.0	4.3	2.4	0.16	0.31			3	1.01	0.66	0.21	2.65	0.07	1.10	1.05	17.40
	44	13.33	8.5	4.4	3.3	0.24	1.88		G	3	1.49	0.57	0.14	0.58	0.03	0.26	0.57	6.99
	45	10.42	8.1	4.2	3.0	0.20	1.30		G	3	1.26	0.67	0.16	1.14	0.13	0.28	1.65	8.61
	46	6.23	6.9	3.8	2.2	0.12	0.33			4	0.33	0.11	0.11	2.25	0.60	0.87	0.82	15.88
	47	14.13	8.1	4.3	2.7	0.22	0.36			5	0.20	0.42	0.17	2.38	0.40	2.32	0.88	17.43
	48	13.00	8.5	4.2	2.7	0.18	0.45			6	0.58	0.42	0.17	1.91	0.50	0.83	1.04	11.58
	49	33.75	11.2	5.6	4.2	0.29	3.95		G	7	0.64	0.20	0.63	1.63	0.15	0.86	1.00	10.03
	50	26.85	9.7	5.0	4.3	0.36	3.24		G	7	0.52	0.34	1.31	1.28	0.53	1.02	1.24	7.78

Tab 7: Naměřené hodnoty kovů ve tkáních *Anodonta anatina*. V tabulce jsou pro každého jedince uvedeny i další údaje o velikosti lastury, hmotnosti, přítomnosti glochidií, a věku.



Obr. 6: Odběrové místo v Pikovicích.



Obr. 7: Profil v Nespekách.



Obr. 8: Profil v Sázavě.



Obr. 9: Odběrové místo v Ledči nad Sázavou.



Obr. 10: Profil v Chlístově.



Obr. 11: Odebraný vzorek sedimentů před homogenizací.