

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Vliv mikropolutantů na chování vodních bezobratlých
živočichů**

Bakalářská práce

**Autor práce. Adriana Šimáčková
Obor studia: Rybářství a akvaristika**

Vedoucí práce: doc. Ing. Pavel Horký, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv mikropolutantů na chování vodních bezobratlých živočichů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 22. 4. 2022

Poděkování

Touto cestou děkuji vedoucímu mé bakalářské práce doc. Ing. Pavlu Horkému, Ph.D. za množství cenných rad, podnětů, připomínek a zároveň za obdivuhodnou ochotu, pomoc a lidský přístup poskytnutý při zpracování této práce. Dále bych ráda poděkovala Ing. Pavle Hubené za pomoc s realizací experimentu. Děkuji také svým rodičům za podporu, kterou mi během celého studia poskytli.

Vliv mikropolutantů na chování vodních bezobratlých živočichů

Souhrn

Přítomnost tzv. mikropolutantů v životním prostředí je poměrně novým problémem a v současné době i předmětem intenzivního výzkumu. Mezi významné mikropolutanty lze zařadit léčiva, pesticidy, mikroplasty a produkty pro osobní hygienu (PCP). Ačkoli je většina těchto látek přítomna v nízkých koncentracích (ng/l - µg/l), mnohé z nich vzbuzují značné obavy. Všechny tyto látky kontaminují životní prostředí, ekosystémy a mohou hrát roli endokrinních disruptorů, tedy látek narušujících správnou funkci endokrinní soustavy. Mezi hlavní zdroje léčiv a PCP v prostředí patří odpadní vody, a to i ty vyčištěné. Čistírny odpadních vod (ČOV) je nedokáží z vody efektivně eliminovat a tak dále prostupují do životního prostředí. Zdroji pesticidů jsou splachy z polí při dešti či zavlažování a unášení postřiků větrem. Mikroplasty se dostávají do prostředí buď z produktů, kam byly záměrně přidány (např. kosmetika), nebo degradací plastového odpadu. Výše zmíněné skupiny mikropolutantů ovlivňují všechny aspekty života organismů, včetně reprodukce, vývoje, chování, příjmu potravy a pohybu. Vlivu mikropolutantů na chování vodních bezobratlých živočichů je však na rozdíl od obratlovců věnovaná malá pozornost. Proto jsem se mu věnovala i v experimentální části této práce, kde se sledoval vliv antiepileptika karbamazepinu ve dvou koncentracích (5 µg/l a 10 µg/l) na chování sladkovodních krevetek *Neocardina heteropoda* (De Haan, 1844). Byla testována hypotéza, že karbamazepin bude u krevetek způsobovat změny v pohybové aktivitě a využívání úkrytu a tyto změny budou závislé na testované koncentraci. Expozice karbamazepinem vyvolala u krevetek poměrně rozsáhlé změny chování. Karbamazepin mimo jiné snížil aktivitu krevetek v reakci na podávané krmivo a snížil jejich ochotu opouštět úkryt. Pozorované změny byly závislé na testované koncentraci, přičemž většinou negativní vliv rostl s koncentrací karbamazepinu. Na základě výsledků experimentu i dalších dostupných studií je zřejmé, že léčiva i ostatní mikropolutanty představují významnou hrozbu pro vodní organismy.

Klíčová slova: mikropolutanty, antropogenní znečištění, vodní ekosystémy, bezobratlí, léčiva

Effect of micropollutants on behaviour of aquatic invertebrates

Summary

The presence of so-called micropollutants in the environment is a relatively new problem and is currently the subject of intensive research. Important micropollutants include pharmaceuticals, pesticides, microplastics and personal care products (PCPs). Although most of these substances are present in low concentrations (ng/l - µg/l), many of them evoke great concern. All these substances contaminate whole ecosystems and can act as endocrine disruptors, i.e. substances that disrupt the proper function of the endocrine system. The main source of pharmaceuticals and PCPs in the environment are wastewaters, including those treated by WWTPs. Wastewater treatment plants are unable to effectively eliminate these compounds from the water and they continue to enter the environment. Sources of pesticides are field runoff or irrigation and wind drift. Microplastics enter the environment either from products to which they have been intentionally added (eg cosmetics) or by degradation of plastic waste. The above-mentioned groups of micropollutants affect all aspects of organisms life, including reproduction, development, behavior, food intake and movement. However, little attention is paid to the influence of micropollutants on the behavior of aquatic invertebrates. Therefore, I focused on this topic in experimental part of my work, where was studied the effect of antiepileptic carbamazepine (two concentrations 5 µg/l and 10 µg/l) on behaviour of freshwater shrimp *Neocardina heteropoda* (De Haan, 1844). We tested the hypotheses that carbamazepin would induce changes in movement activity and sheltering and observed changes would be related to its concentration. Carbamazepin induced quite extensive changes in sheltering and movement behaviour. Carbamazepin decreased shrimp activity during feeding and decreased it's capacity to leave the shelter. Observed changes were related to the concentration tested. The negative effects mostly increased with carbamazepin concentration. Based on the results of experiment as well as on the results of another studies can be suggested, that pharmaceuticals as well as other micropolutants represent a serious threat for aquatic organisms.

Keywords: micropollutants, anthropogenic pollution, aquatic ecosystems, invertebrates, pharmaceuticals

Obsah

1	Úvod	7
2	Cíl práce	8
3	Literární rešerše	9
3.1	Mikropolutanty	9
3.1.1	Endokrinní disruptory	10
3.1.1.1	Syntetické hormony	12
3.1.2	Pesticidy	13
3.1.3	Léčiva	17
3.1.3.1	Antiepileptika	19
3.1.3.2	Analgetika	21
3.1.3.3	Antibiotika	23
3.1.3.4	Antidepresiva	24
3.1.4	Mikroplasty	27
4	Shrnutí literární rešerše a testované hypotézy	30
5	Materiál a metody	31
5.1	Pokusná zvířata a denní režim	31
5.2	Realizace experimentu	31
5.3	Analýza dat	31
6	Výsledky	32
7	Diskuze	38
8	Závěr	40
9	Literatura	41

1 Úvod

Lidská společnost se stále rozvíjí a roste. S tímto rozvojem je spojená i neustále závažnější kontaminace životního prostředí. Mikropolutanty jsou sloučeniny, které se ve vodním prostředí nacházejí v rozmezí koncentrací ng/l - µg/l, a jsou považovány za hrozby pro životní prostředí a organismy, které v něm žijí. Mezi mikropolutanty náleží různé skupiny sloučenin, jako jsou pesticidy, léčiva či produkty pro osobní péči. Mezi mikropolutanty patří ale i mikroplasty, tedy drobné částičky plastu, které mohou obsahovat nebo na sebe vázat další znečišťující látky. Způsob, jakým se tyto sloučeniny dostávají do životního prostředí, závisí na jejich použití a způsobu aplikace. Hlavními cestami jsou zemědělské a městské odtoky, vypouštění komunálních a průmyslových odpadních vod a nesprávná likvidace. Po uvolnění do životního prostředí mikropolutanty podléhají různým degradačním a distribučním procesům, které závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech těchto sloučenin (např. rozpustnost ve vodě) a na typu prostředí, kde jsou mikropolutanty přítomny (např. sediment, podzemní voda, ČOV). V důsledku toho mohou probíhat různé transformační reakce produkující metabolity, které mají často jiný účinek než mateřská sloučenina. Dosud jsou známy různé dopady těchto sloučenin na vodní organismy, jako jsou akutní a chronická toxicita, endokrinní disrupce, bioakumulace a biomagnifikace. Důsledkem těchto procesů je mimo jiné ovlivnění chování vodních živočichů, včetně potravní a pohybové aktivity, fototaktického, reprodukčního a bojového chování. V této práci budou představeny hlavní skupiny mikropolutantů, jejich účinky, způsoby průniku do prostředí a dopad na vodní bezobratlé živočichy. Nedílnou součástí práce je i experiment zaměřený na působení antiepileptika karbamazepinu na chování sladkovodních krevetek *Neocardina heteropoda* (De Haan, 1844).

2 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je získat dostupné informace obsažené ve vědecké literatuře o vlivu různých mikropolutantů (léčiv, pesticidů, mikroplastů) na chování vodních bezobratlých živočichů. Obsahem teoretické části je představení skupin mikropolutantů a jejich vlivů na chování těchto organismů. Součástí práce je také experiment zkoumající vliv karbamazepinu na úkrytové chování a aktivitu krevet *Neocaridina heteropoda*.

3 Literární rešerše

3.1 Mikropolutanty

Během posledních desetiletí se výskyt mikropolutantů v životním prostředí stal celosvětovým problémem, který si získává stále větší pozornost (Luo et al. 2014). Pojem „mikropolutanty“ je souhrnné označení pro znečišťující látky (polutanty), které se nově objevují v životním prostředí a vyskytují se zde ve velmi nízkých koncentracích (ng/l - µg/l) (Gatidou & Stasinakis 2016), odkud je odvozen jejich název. To, že se nově objevují většinou neznámá, že se jedná o nově produkovanou látku. Do mikropolutantů patří hlavně ty látky, které se již dříve v prostředí vyskytovaly, ale jejich detekce byla právě díky nízkým koncentracím umožněna až s rozvojem laboratorních technologií (Cajthaml & Křesinová 2016). Zdrojem znečištění jsou látky a sloučeniny jak organického, tak minerálního původu (Cajthaml & Křesinová 2016; Gatidou & Stasinakis 2016). Mikropolutanty jsou tvořeny skupinami různorodých látek, sloučenin či materiálů, jako jsou pesticidy, léčiva, steroidní hormony, polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH), polychlorované bifenyly (PCB), kosmetika, mikroplasty, zpomalovače hoření, parfémy, hydroizolační prostředky, změkčovadla a izolační pěny a mnoho dalších (Luo et al. 2014; Gatidou & Stasinakis 2016; Kim & Zoh 2016). Mezi nejčastěji detekované antropogenní kontaminanty ve vodě patří farmaceutika, pesticidy, produkty pro osobní hygienu (tzv. PCPs – Personal care products) a chemikálie narušující endokrinní systém (EDC) (Moon-Kyung & Kyung-Duk 2016). Ve vodních útvarech je současně přítomno mnoho různých mikropolutantů a jejich směs určuje celkovou toxicitu (Buřič et al. 2018). Různé látky mohou mít vzájemně synergické, aditivní nebo antagonistické účinky (Luo et al. 2014). Pro pochopení dopadu mikropolutantů ve vodním prostředí je také nutné sledovat nejen mateřskou látku, ale i produkty její transformace, jelikož se vyprodukované metabolity často liší svým chováním v prostředí a ekotoxicitou (FOEN 2009; Gatidou & Stasinakis 2016).

Mikropolutanty jsou všudypřítomné, což značně ztěžuje kontrolu jejich zdrojů v životním prostředí (Kim & Zoh 2016). Způsob, jakým tyto sloučeniny vstupují do prostředí závisí na jejich použití a způsobu aplikace (Cajthaml & Křesinová 2016). Hlavními zdroji jsou odtok ze zemědělství a měst, komunální a průmyslové odpadní vody, nesprávná likvidace, nechtěné rozlití, likvidace kalu, ale i vody vyčištěné ČOV (Svoboda a kol. 2009; Kabir et al. 2015; Gatidou & Stasinakis 2016). Současné čistírny odpadních vod nejsou speciálně navrženy pro eliminaci mikropolutantů. Mnoho z těchto mikropolutantů je tedy schopno procházet čistícími

procesy díky své perzistenci a/nebo neustále se opakující introdukci do vody (Luo et al. 2014). Po uvolnění do životního prostředí jsou mikropolutanty vystaveny vlivům různých procesů, jako je distribuce nebo degradace. Tyto procesy přispívají k jejich eliminaci a ovlivňují jejich biologickou dostupnost (Kim & Zoh 2016). Role výše uvedených procesů v osudu mikropolutantů závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech těchto sloučenin (polarita, rozpustnost ve vodě, tlak par) a typu prostředí (přírodní nebo mechanické), kde se mikropolutanty vyskytují (podzemní voda, povrchová voda, sediment, systémy čištění odpadních vod (ČOV), zařízení pro pitnou vodu) (Gatidou & Stasinakis 2016). Výskyt mikropolutantů ve vodním prostředí je často spojován s řadou negativních účinků, včetně akutní (krátkodobé) a chronické (dlouhodobé) toxicity, účinků narušujících endokrinní systém, rezistence mikroorganismů na antibiotika, bioakumulace a biomagnifikace (nárůst koncentrace polutantů v trofickém řetězci) (Luo et al. 2014; Kabir et al. 2015; Gatidou & Stasinakis 2016). Tyto látky také mohou být perzistentní v životním prostředí (Chavoshani et al. 2020). Vzhledem k nízkým koncentracím přítomným v prostředí můžeme většinou vyloučit možnost akutní toxicity, která nastává hlavně v případech, kdy dojde k rozlití nebo úniku velkého množství nějakého přípravku nebo látky. Naproti tomu chronická toxicita, tedy dlouhodobé vystavení nízkým koncentracím antropogenních chemikálií, může vést k subletálním účinkům, včetně změn v chování živočichů (De Lange et al. 2006; Parolini 2020; Ford et al. 2021).

3.1.1 Endokrinní disruptory

Endokrinní disruptory jsou sloučeniny, které mění funkci endokrinního systému lidí i volně žijících zvířat. Mimo jiné narušují syntézu, sekreci, transport, vazbu nebo eliminaci přirozených hormonů v těle, které jsou odpovědné za udržení homeostázy, rozmnožování, vývoje a chování. Zjednodušeně tedy narušují normální hormonální funkce. (Kabir et al. 2015). Většina endokrinních disruptorů je odolná vůči degradaci v životním prostředí a jsou považovány za všudypřítomné kontaminanty. Skutečná účinnost těchto látek je nízká ve srovnání s přirozenými hormony, ale koncentrace v životním prostředí mohou být stále dostatečně vysoké, aby vyvolaly škodlivé biologické účinky (Porte et al. 2006). Endokrinní disruptory lze rozdělit na dvě skupiny: přirozeně se vyskytující a syntetické. Ty přirozené jsou obsaženy v potravě - např. fytoestrogeny: genistein a kumestrol. Syntetické zahrnují chemikálie používané jako průmyslová rozpouštědla nebo maziva a jejich vedlejší produkty (např. polychlorované

bifenyly (PCB), polybromované bifenyly (PBB), dioxiny), plasty (bisfenol A), plastifikátory, pesticidy (DDT), přírodní a umělé hormony (např. fytoestrogeny, antikoncepční pilulky, léky na štítnou žlázu), léky s vedlejšími hormonálními účinky (např. naproxen, metoprolol, klofibrát), průmyslové a domácí chemikálie (např. ftaláty, alkylfenoletoxilátové detergenty, zpomalovače hoření, rozpouštědla, PCB), vedlejší produkty průmyslových a domácích procesů (např. polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH), dioxiny, pentachlorbenzen) (Kabir et al. 2015). Kromě narušení endokrinních funkcí mají mnohé z těchto znečišťujících látek karcinogenní, mutagenní a imunotoxické účinky na člověka i ostatní organismy (Halm-Lemeille et al. 2014). Řada z nich má také schopnost bioakumulace v potravním řetězci. V důsledku toho lze například PCB, dioxiny nebo DDT nalézt v mateřském mléce přestože jsou již zakázány (Cajthaml & Křesinová 2016).

V každé skupině mikropolutantů, jako jsou léčiva nebo pesticidy, lze najít endokrinní disruptory. Ducrot et al. (2010) zkoumali účinky vinclozolinu (fungicid) na plovatku bahenní (*Lymnaea stagnalis* Linnaeus, 1758). Plži vystavení 250 a 2500 µg/l vinclozolinu vykazovali změny v chování, shromažďovali se na dně testovacích komor a snižovali svou potravní aktivitu. Plži vystavení 2 500 µg/l dokonce přestali přijímat potravu úplně. Negativní dopady na potravní aktivitu pozorovali i Simao et al. (2020), kteří sledovali účinky tří polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH - fenantren, pyren a benzo(a)pyren) na ploštěnku americkou (*Girardia tigrina* Girard, 1850) v osmidenní expozici. PAH jsou škodlivé perzistentní organické znečišťující látky vznikající převážně při nedokonalém spalování, a řada z nich má mutagenní, karcinogenní a teratogenní vlastnosti (Lawal 2017). Všechny tři látky způsobily snížení příjmu potravy (fenantren 150 a 300 µg/l; pyren 75 a 150 µg/l; benzo(a)pyren 37.5, 75 a 150 µg/l). Změny byly pozorovány i v pohybové aktivitě - čím vyšší byla koncentrace PAH, tím výrazně kratší byla uražená vzdálenost. Pro fenantren byly rozdíly minimální, avšak expozice pyrenu (75 and 150 µg/l) a benzo(a)pyrenu (75 a 150 µg/l) snížila kromě vzdálenosti, i čas strávený aktivitou (Simao et al. 2020). Na účinky PAH se zaměřili také Dissanayake et al. (2010), kteří porovnávali příjem potravy krabů pobřežních (*Carcinus maenas* Linnaeus 1758) z oblastí znečištěných polycyklickými aromatickými uhlovodíky oproti relativně čistým oblastem. Krabům ze znečištěných oblastí trvala manipulace s kořistí (tj. proniknutí do lastury srdcovek a odkrytí maso) až dvakrát déle oproti krabům z neznečištěných oblastí. Obdobně delší manipulace s potravou byla taktéž zaznamenána i při simulaci znečištění pyrenem (200 µg/l, 28 dní) v laboratorních podmínkách. Toto chování je pravděpodobně způsobeno problémy s

orientací v důsledku působení PAH. Výsledky byly zaznamenány po 72-hodinové depuraci, tudíž je velmi pravděpodobné, že rozdíly by byly významnější při měření krátce po expozici a u krabů vystavených neustálému působení PAH (tj. u těch žijících ve znečištěném prostředí). V obdobném experimentu byl krab pobřežní také vystaven pyrenu (200 µg/l), což vedlo ke změnám v agresivním chování. U krabů vystavených pyrenu byl pozorován výrazně kratší čas mezi jednotlivými souboji (Dissanayake et al. 2009). Další PAH, naftalen, ovlivnil chování při hledání partnera u tykadlovce tvořivého (*Corophium volutator* Pallas, 1766). Naftalen narušil chemickou komunikaci samců, tj. schopnost detekovat a následovat feromony vypouštěné zahrabanými samicemi (Krang 2007).

3.1.1.1 Syntetické hormony

Pro tuto skupinu endokrinních disruptorů, zřejmě jako jedinou, platí, že všechny syntetické hormony jsou endokrinními disruptory. Mezi běžné syntetické hormony patří 17 α -ethinylestradiol, diethylstilbesterol, mestranol, norgestrel a 19-norethindron (Cajthaml & Křesinová 2016). Všechny tyto látky jsou používané jako kontraceptiva, tzn. jsou obsažené v antikoncepčních pilulkách, kromě toho se užívají i při léčbě poruch menstruačního cyklu či při menopauze (Olejníčková 2015). Výjimku tvoří diethylstilbesterol, který sice byl používán jako orální kontraceptivum, avšak v roce 1971 byly zjištěné jeho teratogenní účinky (Veurink et al. 2005). Tyto hormony se také nazývají jako gestageny (též progestageny nebo progestiny), což jsou ženské pohlavní hormony, které jsou podobné progesteronu, steroidnímu hormonu účastnímu se ženského menstruačního cyklu, těhotenství a embryogeneze člověka i jiných druhů (Fent 2015). Přirozený progesteron se v organismu velmi rychle inaktivuje, proto bylo vyvinuto několik syntetických forem (Besse & Garric 2009). Gestageny patří do skupiny steroidních hormonů, o kterých je známo, že interagují se steroidními receptory a způsobují behaviorální a fyziologické změny, zejména u některých druhů ryb. Přítomnost těchto receptorů byla zjištěna i u bezobratlých, proto lze předpokládat podobné změny i u nich (Loganimoce 2016).

V současné době neexistují téměř žádné informace o účincích gestagenů na vodní bezobratlé živočichy (Loganimoce 2016; Svigruha et al. 2021). Nejvíce probíraným dopadem steroidních hormonů v prostředí je feminizace samců ryb, popřípadě žab či jiných obratlovců, což způsobuje změny v reprodukčním chování a úspěšnosti reprodukce. Lze tedy předpokládat podobný dopad i na vodní bezobratlé živočichy (Fent 2015). Goto a Hiromi (2003) testovali

účinky norethindronu (NOR) a 17 α -ethynylestradiolu (EE2) na plavání hrotnatky velké (*Daphnia magna* Straus, 1820). Vystavení (48h) koncentracím 1 – 5 mg/l EE2 nemělo žádný vliv, zatímco 6,41 mg/l NOR (akutní toxicita) imobilizovalo hrotnatky, což vedlo ke smrti v důsledku neschopnosti přijímat potravu. Nižší koncentrace NOR také omezovaly schopnost plavat, avšak je důležité zmínit, že podobně vysoké koncentrace se běžně v prostředí nevyskytují. Přítomnosti xenoestrogenů se věnovali i Watts et al. (2000), kteří použili ethinylestradiol (10 ng/l - 3.7 mg/l) a bisfenol A (4.6 ng/l - 8.4 mg/l, sloučeninu používanou při výrobě plastů napodobující estrogyeny (Steinmetz et al. 1998). U blešivce obecného (*Gammarus pulex* Linnaeus, 1758) v testu akutní toxicity (24h) byly pozorovány změny v předkopulačním obranném chování a ve tvoření párů (páry exponované xenoestrogenům se oddělily rychleji). Avšak toto chování bylo narušeno pouze při koncentracích blízkých těm, které způsobily akutní letální toxicitu, tedy při koncentracích vysokých a nerelevantních pro životní prostředí, a tudíž by bylo nereálné připisovat účinky na chování blešivců endokrinně zprostředkovanému procesu (Watts et al. 2000). Svigruha et al. (2021) při použití směsi čtyř gestagenů (progesteron, drospirenon, gestoden, levonorgestrel) v koncentracích (1, 10, 100 a 500 ng/l), tedy v koncentracích relevantních pro životní prostředí, pozorovala plovatky, které byly působení vystaveny 21 dnů. Všechny koncentrace urychlily embryonální vývoj. Byly pozorovány významné změny v krmení a pohybové aktivitě embryí i dospělců. Všechny koncentrace zvýšily pohybovou aktivitu (klouzáni) embryí a koncentrace 10, 100 a 500 ng/l zvýšily příjem potravy. Koncentrace gestagenů 1 a 10 ng/l u dospělých jedinců výrazně zvýšily příjem potravy, avšak koncentrace 100 a 500 ng/l příjem potravy výrazně snížily (cca o 40 %). Naopak, co se týče pohybové aktivity dospělců, koncentrace 1 a 10 ng/l ji výrazně snížily (zhruba na polovinu) a koncentrace 100 a 500 ng/l ji zvýšily. Protichůdné hodnoty (zvýšené krmení → snížená aktivita, a naopak) vysvětluje Pirger et al. (2021) tak, že provádění těchto dvou aktivit je propojeno přes jeden typ buňky (interneuronu), tzn. nemohou probíhat zároveň (aktivace určitého druhu motorické aktivity současně potlačuje probíhající potravní chování, a to i v přítomnosti potravy a naopak).

3.1.2 Pesticidy

Kubišová (2008) definuje pesticidy ve své práci jako organické či anorganické látky nebo směsi látek chemické či biologické povahy, které se používají především v zemědělství k ochraně rostlin před nežádoucími organismy. Chemické pesticidy jsou uměle syntetizovány, zatímco

biologické pesticidy jsou výsledkem činnosti určitých mikroorganismů. Funkcí pesticidů je kontrolovat a regulovat výskyt nežádoucích (nejčastěji přemnožených) organismů, přičemž jsou určeny hlavně k prevenci, mírnění, zapuzení či likvidaci těchto organismů nebo škod jimi způsobených. Zamezují tak ztrátám na zahradních, lesních, ale zejména kulturních zemědělských rostlinách, rovněž na zásobách potravin a krmiv. Pouze chemické pesticidy jsou pro ekosystém zcela cizorodé látky narušující jeho stabilitu. Mezi pesticidy náleží různé přípravky rozdělené podle toho, na jakou skupinu organismů jsou zaměřeny. Řadí se mezi ně hlavně insekticidy (proti hmyzu), herbicidy (na plevel) a fungicidy (proti houbám a plísním), ale existují například i rodenticidy (proti hlodavcům), akaricidy (proti roztočům) či moluskocidy (proti měkkýšům) a další (Gatidou and Stasinakis 2016). Pesticidy se v zemědělství nejčastěji aplikují jako kapaliny rozprašované na plodinu a/nebo půdu. Někdy se pesticidy také zapracovávají nebo injektují do půdy, aplikují se jako granule či jako ošetření semen (Helfrich et al. 2009). Aplikace pesticidu závisí na růstové fázi plodiny, složení přípravku, zamýšleném cíli, technice aplikace a povětrnostních podmínkách, a je rozdělena mezi půdu, listy rostlin nebo zbytky plodin a ztráty způsobené úletem (Van der Werf 1996). Avšak méně než 1 % pesticidů se dostane k cílovým škůdcům. Zbývajících 99 % kontaminuje půdu, zeleninu, ovoce, potravinářské obilí a vodu (Ali et al. 2019). K přesunu pesticidů do vodních útvarů nejvíce dochází prostřednictvím stékání při dešti a zavlažování (především z polí, sadů a zahrad). Dalšími cestami, kterými se dostávají do vody, jsou například unášení postřiků větrem, vyluhování a/nebo podpovrchové odvodňování (Mojiri et al. 2020). Rozsáhlý výskyt pesticidů ve vodě i v prostředí je způsoben jejich vysokým využíváním v zemědělství po celém světě v důsledku stále rostoucí lidské populace a tím i potřeby pěstování většího množství plodin (Mahmood et al. 2016; Mojiri et al. 2020). Masivní produkce a spotřeba těchto sloučenin způsobila vážné celosvětové problémy s kontaminací životního prostředí a škodlivými dopady na člověka i celé ekosystémy (Tosun et al. 2001; Gatidou a Stasinakis 2016).

Velká produkce syntetických organických sloučenin používaných pro hubení škůdců byla zahájena objevem insekticidní aktivity DDT v roce 1939 a pokračovala během a po druhé světové válce. V průběhu dalších desetiletí produkce a používání syntetických pesticidů po celém světě exponenciálně vzrůstaly (Mahmood et al. 2016). Dnes se používá mnoho různých tříd pesticidů, mimo jiné chlorované uhlovodíky, organofosforečné sloučeniny, substituované močoviny a triaziny (Gatidou & Stasinakis 2016). Nejvýznamnějším znečišťovatelem mezi pesticidy jsou chlorované organické pesticidy (OCP), které jsou velmi nebezpečné pro jejich

vysokou toxicitu a dlouhodobou perzistenci v životním prostředí. Chlorované pesticidy mají fatální toxické účinky pro vodní organismy (Ismail et al. 2014). Rovněž nebezpečné jsou i běžné organofosforové pesticidy, které se do prostředí dostávají v důsledku špatného zacházení, přímého úniku, z prázdných nádob, neopatrného zacházení s odpadem, atd (Gatidou & Stasinakis 2016). Tyto pesticidy jsou považovány za nebezpečné jak pro životní prostředí, tak pro člověka, jelikož mají schopnost bioakumulace a hromadí se v potravním řetězci (tzv. biomagnifikace), díky čemuž mohou mít karcinogenní účinky a dopad na reprodukci (Ismail et al. 2014; Pérez-Parada et al. 2018; Mojiri et al. 2020).

Bezobratlí živočichové jsou mimořádně důležitou součástí vodních ekosystémů. Hrají roli rozkladačů, spásačů, konzumentů sedimentu, parazitů a predátorů. Poskytují také velkou část potravy, kterou se živí obratlovci spojení s těmito systémy (Helfrich et al. 2009). Pesticidy přijímají skrze dýchání (žábry a průdušnice), kůži a příjmem potravy (Pérez-Parada et al. 2018). Na rozdíl od suchozemských organismů se vodní organismy obecně nemohou snadno vyhnout expozici kontaminantů přesunem do nekontaminovaných oblastí, zejména pokud jsou pesticidy rozpustné ve vodě (Pisa et al. 2015). Pesticidy mohou snížit dostupnost hmyzu, který slouží jako potrava, a rostlin, které slouží jako úkryt, životní prostor a zároveň produkují až 80 % rozpuštěného kyslíku ve vodě (Helfrich et al. 2009). Živočichové žijící v blízkosti polí a sadů jsou nejnáchylnější k vystavení menším opakovaným dávkám pesticidů, což může vést k menší produkci potomstva, opouštění hnízd, nižší rezistenci vůči nemocem, změnám chování, hormonálním změnám, snížení schopnosti vyhýbat se predátorům a dalším (Helfrich et al. 2009).

Dodson et al. (1995) testovali účinky insekticidu karbaryl na hrotnatku obecnou (*Daphnia pulex* Leydig, 1860). Karbaryl (koncentrace 1 µg/l a 40 µg/l) výrazně změnil způsob plavání. Hrotnatky vykazovaly točivé pohyby a nepřetržité únikové reakce. Díky tomu byly mnohem náchylnější k predaci. Hrotnatky jsou nedílnou součástí vodního ekosystému, protože slouží jako primární býložravci a udržují tak kvalitu vody (Boyd et al. 2002). Le Bris et al. (1995) pozorovali působení insekticidů dichlorvosu (insekticid) a metrifonátu (anthelmintikum, insekticid) na dva druhy mlže - tapesku filipínskou (*Ruditapes philippinarum* Adams & Reeve, 1850) a ústřici velkou (*Crusosrrea gigas* Thunberg, 1793). Mlži se po vystavení pesticidům chovali jako paralyzovaní. Před kontaminací byl počet otevřených a uzavřených mlžů přibližně stejný. Po 2 hodinách expozice 0,1 nebo 1 mg/l se všichni mlži výrazně otevřeli. Tento jev se zastavil na konci expozice u mlžů vystavených koncentraci

0,1 mg/l a pokračoval po dobu 12 hodin u mlžů vystavených 1 mg/l. Bolton-Wanberg et al. (2007) pozorovali stejné účinky u ústřic vystavených 96 hodin DDVP (insekticid) o koncentracích 10 a 100 µg/l. Svalovou paralýzu pozorovali i Chmist et al. (2019) při použití několika různých pesticidů (expozice 7 dní, koncentrace 10 µg/l) u velevruba nadmutého (*Unio tumidus* Philipsson in Retzius, 1788). U 8 jedinců vystavených DDVP (insekticid) byla pozorována celková svalová paralýza, která způsobila, že úroveň otevření schránek vzrostla na 100 %. Během tohoto experimentu všichni testovaní jedinci uhynuli. Tebukonazol (fungicid) způsobil významné snížení aktivity. Aplikace pesticidů způsobila výrazné změny i v rychlosti otevírání schránek, přičemž nejsilnější odezva byla zaznamenána u lenacilu (herbicid). DDVP způsobilo velmi výrazné změny v aktivitě, přičemž kontrolní aktivita byla 12±3 hodiny a aktivita po expozici DDVP se zvýšila na 22 hodin. Aktivita po vystavení tebukonazolu se snížila z 17±3 hodiny na 8 hodin. Snížení doby aktivity, a tím i doby filtrace, bylo pozorováno po expozici lenacilu, DDT, thiaclopridu (insekticid) a tebukonazolu. Nicméně statisticky významné rozdíly byly prokázány pouze pro DDT a tebukonazol. V případě DDVP zvýšení aktivity vyplynulo z ochrnutí svalů, a tedy neschopnosti uzavřít chránku. Změny v aktivitě zaznamenal i Donkin et al. (1997) při vystavení slávky jedlé (*Mytilus edulis* Linnaeus 1758) dichlorvosu. Tento insekticid snížil rychlost krmení slávek na přibližně 40 - 65 % kontrolní hodnoty při koncentraci 300 µg/l, přičemž zvyšování koncentrace až na 1000 µg/l nezpůsobilo žádné další snížení rychlosti krmení. Přestože dichlorvos inhibuje rychlost krmení, mušle kontaminované touto sloučeninou se zdály být velmi aktivní. Ještě významnější snížení rychlosti krmení bylo v této studii pozorováno u dvou dalších insekticidů, lindanu a karbarylu. Snížená rychlost krmení byla zaznamenána i u blešivce potočního (*Gammarus fossarum* Koch in Panzer, 1835) po sedmi dnech expozice 600 µg/l tebukonazolu. Při třítydenní expozici byly pozorovány stejné výsledky. Příjem potravy byl při 300 µg/l poloviční (Zubrod et al. 2010). Podobných výsledků dosáhli i Sancho et al. (2009) při experimentu s hrotnatkou velkou (*Daphnia magna*), která byla vystavena různým koncentracím (0,41 - 1,14 mg/l) tebukonazolu. Rychlost krmení u *D. magna* se snížila po pouhých 5 hodinách expozice fungicidu. Aktivita dafnií klesala se zvyšující se koncentrací tebukonazolu. Nyman et al. (2013) také sledovali krmení. V experimentu byli použiti blešivci (*Gammarus pulex*), kteří byli vystaveni po dobu 14 dní nízké konstantní koncentraci 15 µg/l imidaklopridu (insekticid). Krmení bylo významně sníženo v důsledku neschopnosti se pohybovat, což způsobilo vysokou úmrtnost. Pesticidy také prokazatelně snižují nebo úplně inhibují hrabací aktivity u bezobratlých (např. krabů) (Boyd et al. 2002).

3.1.3 Léčiva

Léčiva jsou látky sloužící k předcházení, léčení anebo zmírnění projevů chorob. Používají se kvůli jejich více či méně specifické biologické aktivitě (Kummerer 2010). Běžný lék ve formě pilulky či kapaliny sestává z jedné či více účinných látek a dalších přísad, jako jsou pomocné látky a aditiva, anorganické soli, cukry nebo pigmenty a barviva. Tyto přídavné látky většinou nejsou pro prostředí významnou hrozbou, avšak některé z nich mohou působit jako endokrinní disruptory (Kummerer 2010). Účinné látky se vyrábějí průmyslově a dochází k jejich rozsáhlému užívání a často i nadužívání (Kotyza a kol. 2009). Podstatné je, že léčiva vykazují vysokou biologickou aktivitu i při velmi nízkých koncentracích v prostředí, která může ovlivňovat nejrůznější fyziologické procesy vodních organismů, ale i zprostředkovaně ovlivnit další články potravních řetězců, popřípadě může ovlivňovat vlastnosti vody při dalším užívání, včetně úpravy na pitnou (Svoboda a kol. 2009). Léčiva jsou často alespoň mírně lypofilní (rozpuštěná v tucích), tudíž představují riziko zejména pro bentické a v sedimentu žijící organismy (Peter et al. 1994; Oetken et al. 2005). Léčiva se zařazují do skupiny polutantů často souhrnně označovaných jako PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products). Kromě nich jsou sem také řazeny například opalovací krémy, parfémy, rtěnky, mýdla, šampony, barvy na vlasy, deodoranty, zubní pasty a další (Boxall et al. 2012; Manna et al. 2020). Léčiva jsou na předpis či volně prodejné přípravky sloužící k léčbě a prevenci nemocí u lidí i zvířat, zatímco produkty osobní péče (PCP) se používají hlavně ke zlepšení kvality každodenního života (Ebele et al. 2017).

Rostoucí ekologické povědomí a regulace vyústili ve snížení koncentrací většiny „konvenčních“ znečišťujících látek (těžké kovy, organické kontaminanty, pesticidy) v prostředí (De Lange et al. 2006). To ovšem neplatí pro léčiva, která nejsou dobře prostudovaná ani vhodně regulovaná, a jejichž osud po použití je z velké části stále neznámý (De Lange et al. 2006; Koba et al. 2018). Seznam léčiv detekovaných ve vodních ekosystémech se neustále zvětšuje, avšak znalosti této problematiky už tak rozsáhlé nejsou (Svoboda a kol. 2009; Davison et al. 2021). Primárním zdrojem léčiv v odpadní vodě a jejich metabolitů jsou lidé a zvířata užívající léky (Kotyza a kol. 2009). Léčiva nejsou těly organismů, včetně člověka, zcela metabolizována, výsledkem čehož je, že jsou vylučována močí a stolicí jako nezměněná mateřská sloučenina a její metabolity (Gatidou & Stasinakis 2016). Míra vylučování ve velké míře závisí na sloučenině a způsobu aplikace (orální, dermální). Například u karbamazepinu

(antiepileptikum) se po perorálním podání vyloučí téměř 28% mateřské látky přes výkaly do prostředí, zatímco zbytek je absorbován a metabolizován játry. Metabolity karbamazepinu jsou vylučovány močí (Gatidou & Stasinakis 2016). Pokud jde o diclofenac (lék na bolest a zánět), téměř 65 % jeho perorální dávky se vyloučí prostřednictvím moči (Zhang et al. 2008). Dále například trimethoprim (antibiotikum) je vyloučen téměř z 80 % (Gatidou & Stasinakis 2016). Zhruba 75 % antibiotik je vyloučeno v nezměněné podobě (Kummerer 2010). Léčiva a jejich metabolity se poté dostávají kanalizací do čistíren odpadních vod (ČOV), kde však nejsou některé z nich dostatečně zachycovány (Gatidou & Stasinakis 2016). Jakmile se léčiva dostanou do životního prostředí, jejich koncentrace může být snížena ředěním, absorpcí a mikrobiální biodegradací (Shaliutina-Kolešová et al. 2020). V prostředí mohou působit na říční společenstva a také se transportovat do dalších částí ekosystému (Gatidou & Stasinakis 2016; Shaliutina-Kolešová a kol. 2020; Liu et al. 2021). Není tak vyloučena ani kontaminace podzemních vod a pitných zdrojů, čímž se vlastně pomyslný koloběh těchto látek uzavírá (Kotyza a kol. 2009). Bylo prokázáno, že produkty degradace a metabolity některých léčiv jsou dokonce toxičtější než původní látka (Davison et al. 2021). Významným zdrojem znečištění jsou také léky s proslou trvanlivostí, nesprávně zlikvidované léky (spláchnuté nebo vyhozené do běžného odpadu) a léky zneužitá k výrobě drog (Svoboda a kol. 2009). Mezi menší zdroje lze zařadit např. stabilizovaný kal z ČOV, farmaceutická výrobní zařízení a další (Kotyza a kol. 2009). Použití stabilizovaných čistírenských kalů jako druhotného hnojiva na zemědělských plochách může způsobit jejich kontaminaci a následné proniknutí odolných léčiv nebo jejich metabolitů do potravních řetězců (Kotyza a kol. 2009, Kummerer 2010).

Zjištěné koncentrace léčiv v povrchových vodách se značně liší. Pohybují se v řádech pikogramů až mikrogramů, přičemž nejčastěji měřené hodnoty jsou většinou v nanogramech na litr vody (Cunningham et al. 2006; aus der Beek 2016). Koncentrace léčiv ve vodě závisí na mnoha faktorech, jako jsou například roční období, propuknutí virózy, oblast, vzdálenost od místa znečištění, účinnost ČOV, dny v týdnu, způsob likvidace, rozkladné procesy a další (Backhaus & Karlsson 2014; Archer et al 2017; Zajíc 2017; Shaliutina-Kolešová et al. 2020). Typickým příkladem léku, jehož koncentrace v prostředí závisí na sezóně, jsou antialergika. Ta se nejvíce používají během tzv. pylové sezóny, tedy hlavně na jaře a v létě (Gaw et al. 2014). Avšak koncentrace léků v prostředí jsou obecně mnohem vyšší v zimní sezóně, zejména u nesteroidních protizánětlivých léků (NSAID) (Kot-Wasik et al. 2016). Podobné je to i s antibiotiky, jejichž vysoká spotřeba v tomto období je pravděpodobně způsobena nevhodným

používáním k léčbě infekcí dýchacích cest, včetně nachlazení a virových infekcí (Gaw et al. 2014). V posledních dvou letech ovlivnila konzumaci některých léčiv, a tím i jejich koncentrace v prostředí, pandemie viru COVID-19. Během této doby došlo ke zvýšení spotřeby léčiv pro dlouhodobé užívání sloužících k léčbě úzkostí, deprese a problémům se spánkem (Fernandes et al. 2021). Naopak konzumace léčiv ke krátkodobému užívání, jako jsou paracetamol (analgetikum, antipyretikum), kodein (analgetikum) a trimethoprim (antibiotikum), poklesla (Reinstadler et al. 2021). Během pandemie také došlo ke snížení koncentrací nelegálních drog (kokain, amfetamin, metamfetamin) v odpadních vodách. Je velmi pravděpodobné, že tyto změny souvisely se zrušením zábavních akcí, což vedlo ke snížení poptávky po těchto sloučeninách zejména o víkendech (Reinstadler et al. 2021). Koncentrace léčiv ve vodě ovlivňují i degradační procesy. Například obsah propranolu ve vodě se během 30 hodin sníží pomocí fotodegradace na méně než 1 %, obsah ifenprodilu a paracetamolu během 50 h na 20%. Oproti tomu například ibuprofen je velice stabilní (Yamamoto et al. 2009). Biodegradace mikroby je rovněž důležitá, a například pro trimethoprim je účinnější než fotodegradace (Yamamoto et al. 2009). Na druhou stranu karbamazepin je jedno z nejvíce odolných léčiv vůči degradaci prostředí a jeho koncentrace je během celého roku téměř neměnná (Kot-Wasik et al. 2016). Na rozklad léčiv mají pravděpodobně vliv i vlastnosti samotné vody, jako je salinita (Gaw et al. 2014).

3.1.3.1 Antiepileptika

Epilepsie je druhým nejčastějším neurologickým onemocněním (po mrtvici), kterým trpí okolo 50 milionů lidí na celém světě (WHO 2022). Toto onemocnění je charakterizováno opakujícími se záchvaty, stejně jako ztrátou vědomí a kontroly funkce střev. Pro léčbu a kontrolu záchvatů je schváleno více než 30 léků, tzv. antiepileptik (Cardoso-Vera et al. 2021). V posledních letech je však využívá stále více lidí pro jiné indikace, jako jsou: migréna, chronická neuropatická onemocnění, bolest a poruchy nálady, což znamená, že jejich spotřeba celosvětově roste (Druschky et al. 2018). Vzhledem k této spotřebě a malé degradaci v ČOV, jsou antiepileptika rozšířena v povrchových vodách po celém světě. Mezi nejčastěji detekovaná antiepileptika ve světových řekách a jezerech patří karbamazepin, gabapentin, lamotrigin a primidon (Cardoso-Vera et al. 2021).

Nejznámějším antiepileptikem, kterým se zabývá naprostá většina studií je karbamazepin. Tento lék se používá také k úlevě od určitých typů bolesti nervů (jako je

neuralgie trojklaného nervu). Působí tak, že snižuje šíření záchvatové aktivity v mozku a obnovuje normální rovnováhu nervové aktivity. Účinná látka karbamazepin se nejčastěji prodává v lécích pod obchodním názvem Tegretol, ale existuje i řada dalších (Equetro, Epitol, Carbatrol, ...) (Rxlist 2011). V České republice je výdej karbamazepinu vázán výhradně na lékařský předpis a užívá se pouze perorálně. Jeho spotřeba se v ČR pohybuje okolo 7,5 tun za rok (Váňa a kol. 2010). Hlavním mechanismem působení karbamazepinu je blokáda napětí senzitivních sodíkových kanálů (Mastík 2008). Díky své perzistenci je karbamazepin pravidelně detekován ve vodním prostředí (Nkoom et al. 2019). Byl označen jako chemická látka vzbuzující obavy kvůli svým subletálním účinkům a vysoce toxickým produktům rozkladu (zejména akridin, známý karcinogen a mutagen) (Davidson et al. 2021).

Nkoom a jeho kolegové (2019) prokázali několik negativních dopadů karbamazepinu na vodní bezobratlé živočichy. Experiment probíhal na modelovém organismu hrotnatce velké (*Daphnia magna*). Při expozici hrotnatek různým koncentracím karbamazepinu bylo prokázáno, že čím je vyšší koncentrace karbamazepinu, tím méně hrotnatky přijímají potravu (snižuje se jejich filtrace). Při době expozice 5 h a při různých koncentracích byl pokles filtrace ve srovnání s kontrolní skupinou následující: 5 µg/l – 16 %, 15 µg/l – 26 %, 50 µg/l – 61 % a 100 µg/l – 78 %, zatímco míra přijímání potravy byla snižena (ve stejném pořadí koncentrací) následujícím způsobem: 11 %, 26 %, 53 % a 70 %. To znamená, že se jedinci nebyli schopni správně krmit kvůli přítomnosti karbamazepinu, který působil jako environmentální stresor, což může snížit rychlost jejich reprodukce a růstu. Změny v příjmu potravy zaznamenali i Chen et al. (2014), kteří prováděli experiment na korbikule asijské (*Corbicula fluminea* O. F. Müller, 1774). Mlže vystavili po dobu 30 dní působení karbamazepinu v koncentracích 0,5, 5 a 50 µg/l. Vliv na krmení (rychlost filtrace) nebyla v nízkých koncentracích (0,5 a 5 µg/l) pozorována. Rychlost filtrace se pohybovala od 16,52 do 19,62 ml/jedinec/h. Nicméně při koncentraci 50 µg/l karbamazepinu byl pozorován významný rozdíl. Rychlost filtrace byla $3,45 \pm 0,82$ ml/jedinec/h, což je významné snížení oproti kontrolní skupině ($19,27 \pm 1,36$ ml/jedinec/h).

Nkoom et al. (2019) zjistili, že karbamazepin také významně snížil negativní fototaktické chování hrotnatek. Skupiny exponované 7 dní koncentracím karbamazepinu 5 a 15 µg/l vykazovaly největší dopady s procentuálním poklesem o 28 % a 47 %. Jinými slovy expozice karbamazepinu způsobila, že *D. magna* více přitahovalo světlo. Vysoké koncentrace karbamazepinu (50 a 100 µg/l) měly na chování hrotnatek menší dopad. Vysvětlením je, že

vysoké koncentrace mají za následek redukcí citlivosti neuroreceptorů. Pozměněné fototaktické chování hrotnatek vystavených karbamazepinu způsobuje jejich náchylnost k predaci. Obdobných výsledků dosáhla i Rivetti et al. (2016). Dle jejich výsledků karbamazepin snižoval negativní fototaktické chování *D. magna* při koncentracích 10 a 100 ng/l.

Další důkazy o negativním vlivu karbamazepinu na vodní bezobratlé poskytl také Ofoegbu s kolegy (2019), kteří zkoumali vliv karbamazepinu na pohyb sladkovodní ploštěnky *Schmidtea mediterranea* (Benazzi, Bagnà, Ballester, Puccinelli & Del Papa, 1975). Devítidenní expozice karbamazepinu způsobila zvýšení pohybové aktivity ploštěnek ve srovnání s kontrolní skupinou, přičemž největší rozdíly byly pozorovány při koncentracích 0,1 a 1 µg/l, které způsobily nárůst pohybové aktivity o 23,5 a 35,5 %. Oproti tomu ploštěnky vystavené koncentraci 10 µg/l vykazovaly podobné hodnoty jako kontrolní skupina. Aktivita v krmení se nijak výrazně nelišila od kontrolní skupiny. Expozice karbamazepinu dále přemohla antioxidační obranný systém u *D. magna* a jeho akumulace měla za následek neurotoxicitu a oxidační stres (Nkoom et al. 2019).

3.1.3.2 Analgetika

Analgetika jsou léky, které tlumí bolest (akutní i chronickou). Lze je rozdělit do tří základních skupin - neopioidní (na slabou bolest - paracetamol, metamizol), nesteroidní antiflogistika (protizánětlivé, slabá až střední bolest - diclofenac, ibuprofen, kyselina acetylsalicylová) a opioidní (střední až silná bolest - kodein, tramadol, morfin, fentanyl, oxykodon, ...) (Hakl 2013). První a druhá skupina, souhrnně označované jako nesteroidní protizánětlivé léky (NSAID), představují jednu z hlavních skupin léčiv kontaminující vodní ekosystémy po celém světě (Świacka et al. 2021). NSAID se běžně a široce používají pro své analgetické, antipyretické (ke snížení zvýšené tělesné teploty) a protizánětlivé vlastnosti k léčbě bolesti a zánětu v humánní a veterinární terapii. Přestože jejich koncentrace ve vodním prostředí je nízká (ng/l - µg/l), vysoká biologická aktivita může být hrozbou pro vodní organismy (Parolini 2020). Nejpoužívanější antiflogistika jsou ibuprofen a diclofenac. Ibuprofen je většinou užíván perorálně a jeho spotřeba v ČR činí cca 200 tun/rok (Váňa a kol. 2010). Diclofenac se přibližně ze 70 % používá ve formě mastí (volně prodejné), mimo Evropu je ale většina tohoto léčiva používána perorálně. Jeho spotřeba v ČR je cca 20 tun/rok. Nezbytné je také zmínit zneužívání léčiv pro výrobu drog. V ČR se dostává do odpadních vod ročně přes 10 tun ibuprofenu a zhruba stejné množství paracetamolu z ilegálních varen pervitinu a amfetaminu z

pseudoefedrinu obsaženého v některých volně dostupných lécích (Svoboda a kol. 2009; Váňa a kol. 2010).

V této kategorii léčiv je obzvláště obtížné najít studie, které by se zabývaly jejich působením na chování vodních bezobratlých organismů, jelikož se naprostá většina studií zabývá biomarkery, mortalitou, reprodukcí či růstem. Avšak příkladem konkrétního vlivu těchto látek na chování vodních bezobratlých může být studie De Lange et al. (2006), kteří provedli experiment na blešivci obecném (*Gammarus pulex*), jehož vystavili různým koncentracím ibuprofenu po dobu 1,5h. Expozice nízkým koncentracím (10–100 ng/l) vedla ke zvýšení ventilace a významnému poklesu aktivity, zatímco aktivita při vyšších koncentracích (1 µg/l – 1 mg/l) byla zvýšená. Expozice ibuprofenu vedla ke snížení aktivity *G. pulex* z 65 % u kontroly na 30 % při koncentracích 1 a 10 ng/l ibuprofenu. Pozorované snížení aktivity *G. pulex* v reakci na nízké hladiny ibuprofenu je v souladu s farmakologickým působením u lidí. Účinek léku je bipolární v závislosti na koncentraci – v případě nízkých koncentrací byla pozorována zvýšená ventilace, zatímco vyšší koncentrace vedly ke zvýšení pohybu (Świacka et al. 2021). K ovlivnění aktivity vedla také opioidní analgetika. Příkladem lze uvést studii Buřiče a kol. (2018), kteří testovali působení tramadolu na raku mramorovém (*Procambarus virginalis* Martin, Dorn, Kawai, van der Heiden & Scholtz, 2010). Tramadol je syntetické opioidní analgetikum používané k léčbě chronické a akutní bolesti (Ložek a kol. 2019). Raci byli vystaveni 7 dní působení analgetika o koncentraci 1 µg/l, která byla považována za environmentálně relevantní. Raci vystavení působení tramadolu a bez dostupného úkrytu se pohybovali na výrazně kratší vzdálenosti než kontrolní skupiny, a také vykazovali výrazně nižší rychlost. Doba trvání aktivity byla mírně vyšší než u kontroly. U raků s dostupným úkrytem nebyly zjištěny žádné rozdíly mezi exponovanými raky a kontrolní skupinou (Buřič a kol. 2018). Jedinci vystavení tramadolu strávili méně času mimo úkryt, což může odrážet vyšší plachost nebo sníženou mobilitu (Buřič a kol. 2018). Ložek s kolegy (2019) také pozoroval účinky tramadolu na aktivitu raků – konkrétně na raka signálního (*Pacifastacus leniusculus* Dana, 1852). Byl sledován pohyb během 21denní expozice 1 µg/l tramadolu s následnou 14denní depurací. Pohybová aktivita se během expozice tramadolu lišila od aktivity během depurace. Raci vystavení tramadolu vykazovali kratší čas strávený pohybem a pohyb na kratší vzdálenost, ale zároveň zvýšení rychlosti pohybu. Během depurace vykazovali raci vystavení tramadolu dvojnásobnou rychlost než v době expozice, zatímco pohybová rychlost kontrolních raků zůstala stejná. Během této studie byl také použit stresor ve formě pachu zraněné kořisti.

Účinek tramadolu narušil včasnost a adekvátnost reakce na pach, což by mělo za následek menší úspěšnost při lovu.

Pascoe et al. (2003) dále provedl experiment s nezmarem obecným (*Hydra vulgaris* Pallas, 1766), jehož vystavili ibuprofenu a kyselině acetylsalicylové v rozsahu koncentrací 10 µg/l - 10 mg/l po dobu 7 dní. Sledováno bylo krmení, přičemž bylo pozorováno, že průměrné množství požitá potravy bylo při nižších koncentracích (10 - 100 µg/l) výrazně vyšší pro obě látky než u kontroly. Naopak při vystavení nezmarů vyšším koncentracím došlo k poklesu příjmu potravy.

3.1.3.3 Antibiotika

Od doby, kdy Fleming v roce 1929 objevil penicilin, byly syntetizovány stovky dalších antibiotik, která se stále více používají k léčbě infekcí u lidí a zvířat (Fryčák 2020). Dnes již existuje široká škála antibiotik, jako jsou peniciliny, tetracykliny, sulfonamidy a fluorochinolony (Gatidou & Stasinakis 2016). Hlavním zdrojem kontaminace antibiotiky ve vodním prostředí jsou odpadní vody výrobců antibiotik, velkochovů zvířat a nemocnic. V odvětví akvakultury se antibiotika široce používají jako léky k prevenci bakteriálních infekcí a parazitárních onemocnění. Pouze malá část antibiotik je skutečně absorbována, přičemž většina z nich je vypouštěna do životního prostředí, což má za následek zbytky antibiotik ve vypouštěných odpadních vodách z akvakulturních chovů a akumulaci v okolních sedimentech (Liu et al. 2021). V chovu hospodářských zvířat jsou antibiotika důležitá pro prevenci infekčních onemocnění a jejich léčbu i pro podporu růstu hospodářských zvířat. Antibiotika aplikovaná na hospodářská zvířata a drůbež nejsou plně absorbována, většina je vylučována do prostředí zvířecími výkaly nebo močí. Zbytková antibiotika se dostávají odpadními vodami do řek, jezer a půdy, kde je přijímají rostliny a živočichové (Liu et al. 2021). Za environmentálně nejtoxičtější antibiotika jsou považována makrolidová antibiotika, zejména erythromycin, ale také klarithromycin či azithromycin, která se běžně předepisují a prostupují okolním prostředím (Zuccato et al. 2010; Davison et al. 2021).

Předpovědi naznačují, že celosvětová spotřeba antibiotik v roce 2030 vzroste až o 200 % oproti roku 2015 (Klein et al. 2018). V současné době je nadužívání antibiotik věnováno významné celosvětové pozornosti, jelikož vede k vytvoření rezistence patogenních bakterií a to nejen u lidí (Gatidou & Stasinakis 2016; Klein et al. 2018). Vytváření rezistence je pravděpodobně největší problém, který antibiotika způsobují. Bakterie potřebují stálou

přítomnost antibiotik, aby si vytvořily odolnost a udržely ji. Vě většině případů k tomu dochází v oblastech, kde se tato léčiva neustále používají, jako jsou okolí nemocnic nebo oblasti s intenzivním zemědělstvím. Jsou-li antibiotika přítomna v prostředí ve větší míře, je pravděpodobnější, že se u bakterií vyskytnou vícenásobné rezistence (Davison et al. 2021).

Je důležité neopomíjet ani nepřímé účinky antibiotik. Antibiotika narušují mikrobiální společenstva a mění ekosystémové služby, které mohou poskytovat, včetně rozkladu dalších znečišťujících látek (Hahn a Schulz 2007). Toto je pravděpodobně nejdůležitější způsob účinku na bezobratlé, protože změny v mikrobiálních společenstvech změny dostupnost živin pro rozkladače. Zdá se například, že ciprofloxacin má malý nebo žádný účinek na sladkovodní bezobratlé, ale významně narušuje společenství hub. To mění kvalitu stravy sladkovodních krevet a ovlivňuje jejich krmení a rychlost růstu (Konschak et al. 2020). Toto tvrzení dokazuje i studie Hahn a Schulze (2007), kteří provedli experiment s *Gammarus pulex*, u něhož sledovali rozdíly v příjmu potravy. *G. pulex* se živí spadáním listů na dně. Listů bylo ponecháno 14 dní ve vodě, do které byla přidána antibiotika (sulfadiazin – 20 µg/l a 200 µg/l, oxytetracyklin – 2µg/L a 20µg/l). Účinek antibiotik způsobil narušení kolonizace listů bakteriemi a houbami, které listy rozkládají. Méně rozložené listy byly pro *G. pulex* méně atraktivní, což způsobilo významně nižší příjem potravy. Lze předpokládat, že snížený příjem potravy souvisel i s horší žvýkatelností listů v důsledku nedostatečného rozkladu.

Co se týče hmyzu, kromě okamžitých toxických a chronických účinků, je velmi významný i dopad antibiotik na bakteriální společenstva, které žijí uvnitř hmyzích těl. Odhaduje se, že zhruba 50 % hmyzu je útočištěm symbiotických bakterií, které žijí v jejich tkáních a které lze dědit mezi generacemi. Tyto bakterie mohou hrát nesmírně důležitou roli při regulaci reprodukce, ochraně před přirozenými nepřáteli nebo zpracování živin (Oliver et al. 2009). Většina znalostí o symbiotických bakteriích pochází od suchozemských bezobratlých. Nedávné studie však naznačují, že symbiotické bakterie jsou podobně běžné ve sladké vodě. Bylo zjištěno, že u několika druhů vodních brouků, pakomárů, vážek a stejnokřídlic se ukrývají symbiotické bakterie, ačkoli jejich účel není dosud znám (Davison et al. 2021).

3.1.3.4 Antidepresiva

Antidepresiva se řadí mezi léky ovlivňující převážně příznaky deprese, nicméně používají se i k léčbě úzkostných poruch (sociální fobie, obsedantně kompulzivní porucha - OCD, posttraumatická stresová porucha – PTSD, atd.), chronické bolesti, nespavosti, ale i k léčbě

poruch příjmu potravy (Fujáková & Kopeček 2012). Většina antidepresiv (fluoxetine, fluvoxamin, venlafaxine, citalopram, ...) patří do skupiny léků známých jako selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI) (Pidrman 2004). Serotonin je důležitý neurotransmitter přítomný v organismech, jako jsou savci, nižší obratlovci a bezobratlí. Je zapojen do množství fyziologických procesů jak u ryb, tak u bezobratlých, souvisejícími s metabolismem, růstem, reprodukcí a chováním. Existence serotoninových receptorů byla popsána u ryb i bezobratlých, což naznačuje, že tyto organismy interagují se SSRI přítomnými v prostředí (Lopes et al. 2020). Nejčastěji předepisovaná antidepresiva jsou citalopram, fluoxetin a setralin. (Shaliutina-Kolešová a kol. 2020). Dokonce i při koncentracích relevantních pro životní prostředí vedou tato antidepresiva ke změnám v reprodukci, intracelulárních signálních drahách, paměti, kognitivních funkcích, aktivitě a vývoji u vodních organismů (Ford a Fong 2016).

Negativní účinky antidepresiv na vodní bezobratlé popisuje například Fong a Molnar (2013), kteří testovali účinky čtyř běžně předepisovaných antidepresiv - fluoxetin („Prozac“), fluvoxamin („Luvox“), venlafaxin („Effexor“) a citalopram („Celexa“) na mořské plže. Pozorován byl vliv na přilnavost nohy k substrátu. K experimentu bylo vybráno pět druhů plžů - tři z pobřeží Tichého oceánu (*Chlorostoma funebris* Adams, 1855, *Nucella ostrina* Gould, 1852, *Urosalpinx cinerea* Say, 1822) a dva druhy z atlantického pobřeží (*Tegula fasciatus* Born, 1778 a *Lithopoma americanum* Gmelin, 1791) v Severní Americe představující tři různé čeledi plžů (*Trochidae*, *Turbinidae* a *Muricidae*). Všechna testovaná antidepresiva vyvolala oddělení nohy od substrátu u všech druhů plžů. Nejnižší koncentrace pozorovaného účinku (LOEC) pro antidepresiva a hlemýžďe byly zaznamenány u *Lithopoma* ve 43,4 µg/l fluvoxaminu a u *Chlorostoma* ve 157 µg/l venlafaxinu a 217 µg/l fluvoxaminu. Čas do oddělení nohy od substrátu byl také závislý na dávce, s nejrychlejšími průměrnými odloučení pozorované u *Chlorostoma* a *Lithopoma* (7,33 a 13,16 minut u 3,13 µg/l venlafaxinu). Fong a Hoy (2012) také zjistili oddělení nohy od substrátu u sladkovodních plžů *Leptoxis carinata* (Bruguière, 1792) a *Stagnicola elodes* (Say, 1821) při koncentracích venlafaxinu 31,3 ng/l. Mořští plži v této studii jsou tedy méně citliví na venlafaxin, než jsou sladkovodní plži testováni stejným způsobem. Jakýkoli plž, kterému se oddělí noha od substrátu (sama nebo s pomocí vln či vlnových nárazů), spadne a nemůže se znovu připojit, může být vystaven predaci, vysychání nebo být odnesen do nepříznivých stanovišť. Oddělení nohy může mít tedy smrtelné

a ekologicky závažné následky, jelikož hustoty populací některých plžů jsou vysoké a jsou významnými spásáči či predátory (Fong & Molnar 2013) .

Neuparth et al. (2019) sledovali juvenilní blešivce *Gammarus locusta* (Linnaeus, 1758) z trvalé laboratorní kultury vystavené nízkým koncentracím setralinu (8–1000 ng/l) v testu trvajícím 48 dní, což umožnilo pozorovat celý životní cyklus, včetně účinků na reprodukci. Při nejnižších a enviromentálně relevantních koncentracích setralinu (8, 40 a 200 ng/l) nebyly zjištěny žádné významné změny v klíčových ekologických parametrech (přežití, růst, reprodukční a pohybové chování). Nicméně při koncentraci 1000 ng/l setralinu (koncentrace o řád vyšší než nalezené ve vodním prostředí) samice vykazovaly výrazné zvýšení pohybu oproti kontrole, zatímco u samců nebyly pozorovány žádné změny aktivity. Samice se také pohybovaly na delší vzdálenosti než samice v kontrolní skupině a samci. Celkově tato zjištění naznačují, že samice *G. locusta* jsou potenciálně náchylnější k chronickým účinkům setralinu. Není však pravděpodobné, že by koncentrace setralinu přítomné v prostředí různonožce (*Amphipoda* Latreille, 1816) ovlivňovala. Nicméně je velmi důležité sledovat chronická rizika užívaných antidepresiv, jelikož se jejich spotřeba stále zvyšuje a tím i jejich koncentrace v prostředí (Neuparth et al. 2019). Chabenat et al. (2021) zkoumali účinky dvou z nejvíce předepisovaných antidepresiv, fluoxetin (FLX) a venlafaxin (VEN) v ekologicky relevantních koncentracích na predační chování vylíhnutých mláďat sépie obecné (*Sepia officinalis* Linnaeus, 1758). Nově vylíhlé sépie byly vystaveny od 1 hodiny (tj. dne 1) do 5 dnů po vylíhnutí buď samotnému fluoxetinu (5 ng/L) nebo v kombinaci s venlafaxinem (2,5 ng/l nebo 5 ng/l obě). Predační chování sépií bylo analyzováno pomocí několika parametrů: detekce kořisti, motivace krmení a úspěch při chytání kořisti. Všechny parametry se zlepšily u kontrolních zvířat během prvních pěti dnů. U sépií exponovaných kombinací FLX a VEN při 5 ng/l u obou změnila predační chování vylíhnutých mláďat zvýšením latence před útokem na kořist, tj. snížením motivace ke krmení, stejně jako snížením počtu úspěšných útoků. Změny způsobily snížení příjmu potravy a významně ovlivnily růst 28 dnů po vylíhnutí. U expozice buď FLX při 5 ng/l nebo FLX + VEN při 2,5 ng/l každý byly pozorovány podobné účinky, ale ne statisticky významné. Je pravděpodobné, že antidepresiva ovlivňují vývoj predačního chování a/nebo procesy učení spojené s jeho rozvojem. I nejmenší zpoždění vývoje může mít škodlivé důsledky pro růst a zdatnost populace (Chabenat et al. 2021).

Buřič a jeho kolegové (2018) testovali působení citalopramu na raku mramorovém (*Procambarus virginalis* Martin, Dorn, Kawai, van der Heiden & Scholtz, 2010), který byl

vystaven 21 dní antidepressivu o koncentraci 1 µg/l, která byla považována za environmentálně relevantní. Ve skupině bez dostupného úkrytu se raci vystavení citalopramu pohybovali na výrazně kratší vzdálenosti oproti kontrolní skupině, přičemž vykazovali i významně nižší rychlost než kontrolní skupina. Aktivita se nelišila. U skupin s úkrytem se pohybová vzdálenost od kontroly příliš nelišila, stejně jako rychlost pohybu, aktivita a čas mimo úkryt. Velmi podobný experiment také s rakem mramorovaným provedl Hossain et al. (2019). Raci vystavení sertralinu (1 µg/l) byli významně aktivnější, bez ohledu na dostupný úkryt, a pohybovali se na větší vzdálenosti, když byl úkryt k dispozici, ve srovnání s kontrolními raky. Raci také trávili výrazně více času mimo úkryty ve srovnání s kontrolami a vykazovali větší reprodukční úsilí.

Rivetti et al. (2016) vystavili *Daphnia magna* působení fluoxetinu, který po 8denní expozici 1 ng/l způsobil významný pokles negativního fototaktického chování. Jinými slovy, *D. magna* byly více přitahovány ke světlu a tím i náchylnější k predaci. Obdobných výsledků se stejným antidepressivem dosáhli i Guler a Ford (2010) s *Echinogammarus marinus* (Leach, 1815).

3.1.4 Mikroplasty

Doba plastů začala na počátku 20. století výrobou prvního syntetického polymeru, bakelitu. Masivní produkce plastů začala ovšem až po roce 1950 a od té doby neustále roste (Chamas et al. 2020). Dnes si většina lidí nedokáže svůj život bez zdánlivě nenahraditelných plastů představit. Nedostatečný management produkce plastů a plastového odpadu se stal jedním z největších problémů a hrozeb pro životní prostředí (Gola et al. 2021). Ročně se po celém světě vyrobí více než 300 milionů tun plastů, avšak méně než 10 % je zrecyklováno. Polovina těchto plastů je určena pouze k jednorázovému použití (UNEP 2022). Nezrecyklované plasty se dostávají do životního prostředí a do oceánů, kde za spolupůsobení vody, větru, UV záření a dalších vlivů pomalu degradují (Kožíšek & Kazmarová 2019). Odhaduje se, že 50 až 90 % celkového plastového odpadu se nachází v oceánech, na jeho dně a pobřeží (Gunaalana et al. 2020). Předpokládaný poločas rozpadu plastů je 58 let (láhve) až 1200 let (trubky) (Chamas et al. 2020). Degradaci plastů v prostředí vznikají tzv. mikroplasty (Zhang et al. 2021). Neexistuje žádná ujednocená definice, co to vlastně mikroplasty jsou (Kožíšek & Kazmarová 2019). Většinou se za ně považují plastové částičky, kuličky či nitky o velikosti 5 mm a menší, přičemž spodní hranice není pevně stanovena (Foley et al. 2018; Zhang et al. 2021). Někdy je za spodní

hranici považována hodnota 100 nm, přičemž menší částice jsou považovány za tzv. nanoplasty (Zhang et al. 2021). Většinou se uvádí pouze výše zmíněná horní hranice. Mikroplasty jsou různého původu a složení. Například lze jmenovat polyethylen (PE), polypropylen (PP), polystyren (PS), nylon (PA), termoplastický polyester (PET), poly(vinylchlorid) (PVC), celulóza, atd (Zhang et al. 2019; Gola et al. 2021). Tyto částice jsou nerozpustné ve vodě, nedegradovatelné (podle standardizovaných testů) a mají různé fyzikálně-chemické vlastnosti, které určují biologickou dostupnost pro organismy (Zhang et al. 2019).

Většina mikroplastů pochází z domácností, skládek, stavebnictví, zemědělství, továren nebo lodí (Zhang et al. 2019). Zdroje mikroplastů v prostředí lze rozdělit na primární a sekundární. Primárním zdrojem jsou záměrně vyráběné mikroplasty přidávané do kosmetických přípravků (mýdla, peelingy, dekorativní kosmetika), zubních past nebo používané pro mnohé technické účely. Sekundárním zdrojem je mechanická nebo chemická degradace vyrobených plastových předmětů (Raju et al. 2018; Kožíšek & Kazmarová 2019). Do této kategorie spadá i běžné opotřebovávání plastových předmětů či nošení a praní syntetických textilií a manipulace s nimi (ECHA 2022). Pračky mohou vyrobit více než 1900 vláknitých mikroplastů v jednom pracovním cyklu (Zhang et al. 2021). Nejběžnějším typem plastového odpadu v prostředí jsou nedopalky cigaret, jejichž filtry obsahují tenká vlákénka plastu. Dalším častým odpadem jsou nejrůznější obaly, plastové láhve, igelitové tašky, brčka, víčka, plastové příbory, kelímky a mnoho dalších (UNEP 2022). V zemědělství jsou kromě průmyslových kalů a skleníkových materiálů významným zdrojem i plastové folie, kterými se pokrývá povrch pole za účelem snížení výparu a zvýšení teploty vedoucích ke zvýšenému výnosu (Zhang et al. 2019). Mikroplasty z těchto materiálů se tedy hromadí především v zemědělské půdě a dále prostupují do plodin, které se zde pěstují (Zhang et al. 2019; UNEP 2022).

Při výrobě plastů se do hmoty často přimíchávají různá aditiva. Aditiva jsou přísady, které se přidávají za účelem získání požadovaných vlastností, zlepšení zpracovatelnosti, ochrany před degradací, nebo aby se snížila jeho cena (Kotasová 2020). Těmito přísadami mohou být různé druhy stabilizátorů, barviva, plniva, opticky zjasňující látky, maziva, změkčovadla (např. ftaláty), bisfenol A, antistatika, atd. (Gunaalan et al. 2020; Kotasová 2020). Navíc se výše uvedené přísady i ostatní látky znečišťující vodu, jako jsou barviva, těžké kovy a další chemické sloučeniny, mohou snadno k mikroplastům připojit. Částičky plastu pak slouží

jako nosiče znečišťujících látek v tělech organismů a dále vstupují do potravního řetězce (Gola et al. 2021). Významnou skupinu aditiv tvoří organické látky, jako jsou bisfenol A (BPA), ftaláty a bromované zpomalovače hoření, u kterých byly prokázány škodlivé účinky na živé organismy (Gunaalan et al. 2020). Častými přísadami jsou také kovy jako je hliník, chrom, kobalt, olovo, nikl, cín a zinek (Capolupo et al. 2020). Fragmentace a degradace plastů může usnadnit uvolňování aditivních chemikálií do prostředí (Gunaalan et al. 2020). Aditiva se mohou vyluhovat do vody a ovlivnit chování vodních živočichů, což dokazuje i studie Seuronta (2018). V tomto experimentu byl použit výluh z polypropylenových pelet, které, mimo jiných aditiv, obsahovaly i UV stabilizátory a antimikrobiální látky. Tomuto výluhu byla následně vystavena plážovka vejcorodá (*Littorina littorea* Linnaeus, 1758). Vyluhovaná aditiva negativně ovlivnila bdělost plže a schopnost reagovat na predátory.

Mikroplasty jsou přítomny ve vodních ekosystémech po celém světě a mohou ovlivnit krmení, růst, reprodukci a přežití sladkovodních a mořských živočichů (Foley et al. 2018; Damaris et al. 2020). Byla prokázána zvýšená kumulace mikroplastů ve tkáních vodních živočichů žijících poblíž měst (Gola et al. 2021). Široká škála vodních organismů zaměňuje mikroplasty za přirozenou potravu, což má za následek poškození a/nebo zablokování trávicího traktu, falešný pocit sytosti, snížení chuti k jídlu, snížení příjmu potravy nebo imobilizaci (Rehse et al. 2016; Gunaalan et al. 2020). Snížený příjem potravy vede k nedostatku energie, následkem čehož je snížený růst a negativní dopad na reprodukci (Cole et al. 2015). Částice mikroplastů mohou být pozřeny i pasivně skrze filtraci (např. mlži) (Foley et al. 2018). Po konzumaci nebo jiném požití mohou mikroplasty zůstat uvnitř trávicího traktu vodních organismů po dobu dnů až týdnů, než je tělo vyloučí. Částice plastů mohou být také vstřebány skrze stěny střev (Foley et al. 2018). Se snižující se velikostí plastových částic vzrůstá čas, po který se mikro/nanoplasty zdrží ve střevě, a také se zvyšuje riziko jejich akumulace ve tkáni (Wegner et al. 2012; Van; Cauwenberghe et al. 2015). Tvar mikroplastů by také mohl hrát důležitou roli v tom, jaký mají částice dopad na organismy (Foley et al. 2018). Bentické organismy (např. mlži) jsou pravděpodobně těmi nejohroženějšími, neboť mikroplasty ve vodě pomalu klesají na dno, kde se mohou hromadit. Nicméně tyto částice se ze dna dostávají opět do vodního sloupce silnými mořskými proudy nebo pomocí živočichů (Bergami et al. 2016).

To, jak mikroplasty ovlivňují příjem potravy u vodních bezobratlých živočichů, dokazují výsledky studie Wegner et al. (2012), kteří k experimentu použili slávky jedlé (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758) vystavené nanočásticím polystyrenu (30 nm). Filtrační aktivita výrazně

závisela na jeho koncentraci. Před přidáním částic do vody měly slávky otevřené schránky na 4 mm. Po přidání se na 20 minut úplně zavřely a poté otevřely schránky pouze na 1 mm, čímž byl výrazně snížen příjem potravy. To znamená že slávky jsou pravděpodobně schopné detekovat nanopolystyren ve vodě a v důsledku toho snížit filtrační aktivitu (Wegner et al. 2012). Podobných výsledků dosáhl i Xu et al. (2017) při experimentu s mlžem klínovkou rýhovanou (*Atactodea striata* Gmelin, 1791). Bylo pozorováno významně snížené množství přefiltrované vody. Při koncentraci 1000 částic/l, která je v porovnání s koncentrací řas naprosto zanedbatelná, byla filtrace snížena více než dvojnásobně. Obdobných výsledků dosáhl Rist et al. (2016) se slávkou zelenou (*Perna viridis* Linnaeus, 1758). Při nejvyšší testované expozici 2160 mg PVC/l bylo množství přefiltrované vody sníženo o 21 %. O 97 % klesla také produkce byssových vláken (tenká vlákna, kterými se někteří mlži přichycují k podkladu) a o 36 % se snížila rychlost dýchání. Snížený příjem potravy pozoroval i Cole et al. (2015) při použití směsi polystyrenových kuliček (20 μm) a řas na klanonožce vznášivku helgolandskou (*Calanus helgolandicus* Claus, 1863). Během 24 hodin expozice bylo pozorováno významné snížení příjmu potravy. V této studii bylo sledováno i ovlivnění reprodukce. Nakladená vajíčka byla zřetelně menší, a také se jich vylíhlo významně menší množství. Mikroplasty mohou ovlivňovat kromě potravní aktivity i pohyb. Gambardella et al. (2017) sledovali dopad polystyrenových mikrokuliček o velikosti 100 nm na plavání larev *Amphibalanus amphitrite* (Darwin, 1854) a *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906). U obou druhů byla výrazně snížena rychlost plavání po 48h expozice mikroplastům. Důsledkem sníženého pohybu byla i nižší konzumace potravy.

4 Shrnutí literární rešerše a testované hypotézy

Z výše uvedené literární rešerše jednoznačně vyplývá, že vliv mikropolutantů na chování, fyziologii a související životní projevy vodních bezobratlých živočichů je závažný. U karbamazepinu, který je považován za jedno z nejčastěji detekovaných antiepileptik, které je zároveň odolné vůči degradaci prostředí, bylo obecně pozorováno snížení intenzity různých životních projevů bezobratlých živočichů jako je aktivita, nebo fototaktické chování. Reakce se zároveň lišila v závislosti na testované koncentraci. Na základě těchto předpokladů byla formulována hypotéza, že karbamazepin bude způsobovat změny v pohybové aktivitě a

využívání úkrytu u sladkovodních krevetek *Neocardina heteropoda* (De Haan, 1844) a tyto změny budou závislé na testované koncentraci (5 µg/l a 10 µg/l).

5 Materiál a metody

5.1 Pokusná zvířata a denní režim

Pro experimenty bylo celkem použito 135 jedinců sladkovodních krevetek *Neocardina heteropoda* (De Haan, 1844) o průměrné délce 9 mm. Pro každou ze tří experimentálních skupin (kontrola, koncentrace karbamazepinu 5 µg/l a 10 µg/l) bylo náhodně vybráno 45 jedinců. Každá skupina byla dále rozdělena do tří shodných samostatných nádrží o objemu 30 l s identickým denním režimem (12 h světlo, 12 h tma; stabilní teplota 24°C; vzduchování). V každé nádrži byl u dna po celé délce kratší stěny umístěný úkryt široký cca. 5 cm. Úkryt byl naddimenzovaný tak, aby pojal několikanásobně vyšší počet krevetek, než kolik jich bylo v nádrži (15 ks). Každý třetí den proběhla výměna dvou třetin vody (odstátá voda z vodovodního řádu o odpovídající teplotě), přičemž u exponovaných akvárií byla doplněna odpovídající koncentrace karbamazepinu (5 a 10 µg/l). Denně bylo ve stejný čas podáváno komerčně dostupné krmivo.

5.2 Realizace experimentu

Experimentu, který trval celkem 14 dnů, předcházela stejně dlouhá habitační fáze, ve které byly krevetky ve shodných skupinách i režimu, pouze jim nebyl podáván karbamazepin. Sledování chování v nádržích probíhalo 1., 4., 7., 10. a 13. den expozice. Každý den bylo nahráváno chování krevetek ve všech nádržích pomocí kamery GoPro HD Hero (<https://gopro.com/>). Vždy bylo nahráváno chování 10 minut před podáním krmení a 10 minut po něm. Čtrnáctý den experimentu probíhalo ještě individuální sledování chování jedinců, které ale nebylo zahrnuté do této práce.

5.3 Analýza dat

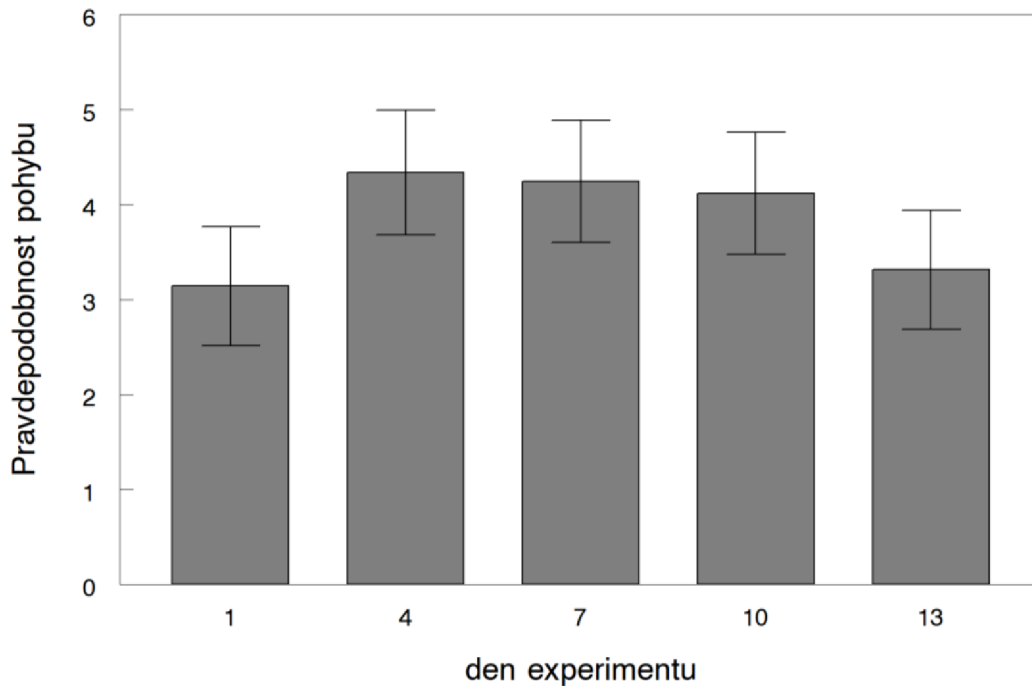
Celkem bylo pořízeno 90 videí. Z nahrávek byly následně vyhodnocovány vybrané projevy chování (pohybová aktivita; vzdálenost od úkrytu; počet jedinců mimo úkryt). Získaná data byla uložena do programu Excel, odkud byla dále exportována do programu SAS (Statistical Analyses System; www.sas.com) k následné statistické analýze. Jednotlivé proměnné byly

vyhodnocené samostatnými modely. Data o pohybové aktivitě sledovaných jedinců v experimentálních nádržích byla analyzována jako binární proměnná (0 – žádný pohyb; 1 – pohyb alespoň jednoho jedince během 15 s intervalu) a následně byla vyhodnocená procedurou GLIMMIX s binomiálním rozdělením. Data o počtu jedinců mimo úkryt během 15 s intervalů byla vyhodnocená pomocí procedury GLIMMIX s Poissonovým rozdělením. Data o vzdálenosti od úkrytu (průměrná vzdálenost všech jedinců od úkrytu zaznamenaná během 15 s intervalu) byla vyhodnocená pomocí procedury MIXED s normálním rozdělením. Společně se závislými proměnnými byly modelovány i náhodné faktory identifikující experimentální nádrž v průběhu testu. Pro výpočet stupňů volnosti byla použita metoda dle Kenwarda a Rogera (1997).

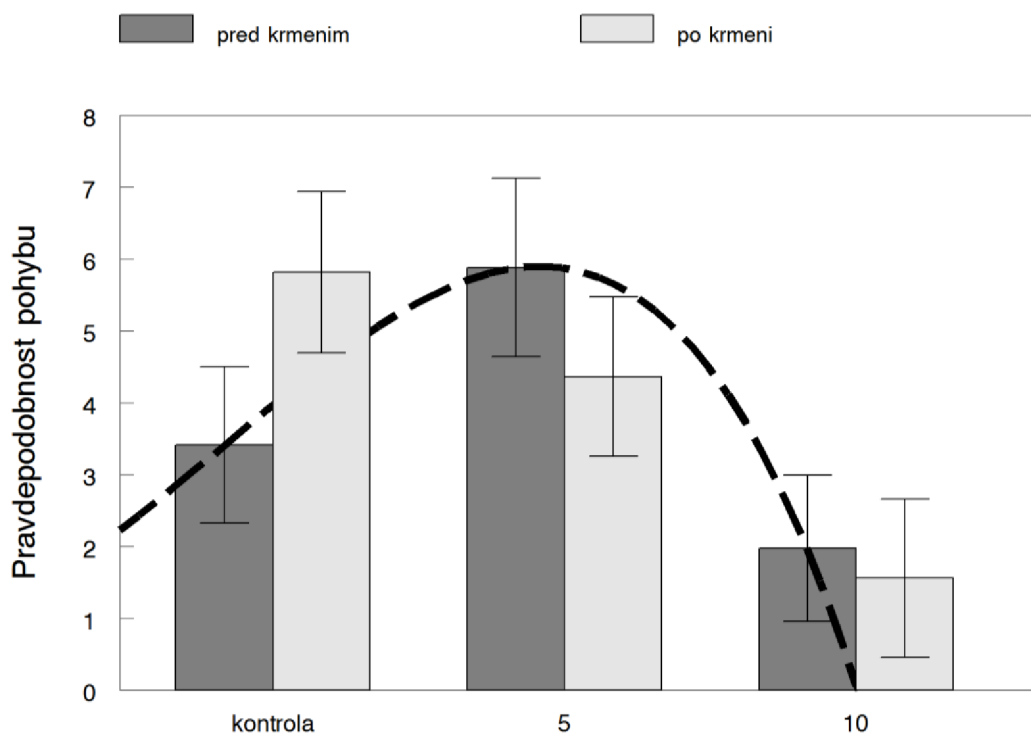
6 Výsledky

Expozice karbamazepinem vyvolala u krevetek poměrně rozsáhlé změny chování, související s pohybovou aktivitou a využíváním úkrytu. Základní dataset, který byl v různých úpravách použitý pro jednotlivé analýzy, obsahoval více než 3500 záznamů shrnujících jednotlivé projevy chování.

Pravděpodobnost pohybu se obecně lišila v průběhu experimentu ($F_{4, 3172} = 10.55$, $P < 0.0001$). Mezi prvním až desátým dnem experimentu byl dokumentovaný signifikantní nárůst pohybové aktivity (Obr. 1; Adj. $P < 0.01$), zatímco třináctý den pohybová aktivita opět poklesla na původní úroveň (Adj. $P < 0.9$). Pohybová aktivita se lišila i v kontextu podávání potravy a expozici karbamazepinu ($F_{5, 21.13} = 12.18$, $P < 0.0001$). Zatímco u kontrolních jedinců pohybová aktivita po podání potravy signifikantně vzrostla (Adj. $P < 0.01$), u exponovaných jedinců nebyl u obou koncentrací rozdíl mezi pohybovou aktivitou před a po podáním potravy signifikantní (Adj. $P < 0.3$). Z grafu je rovněž patrné snížení pohybové aktivity se zvyšující se koncentrací karbamazepinu (Obr. 2).

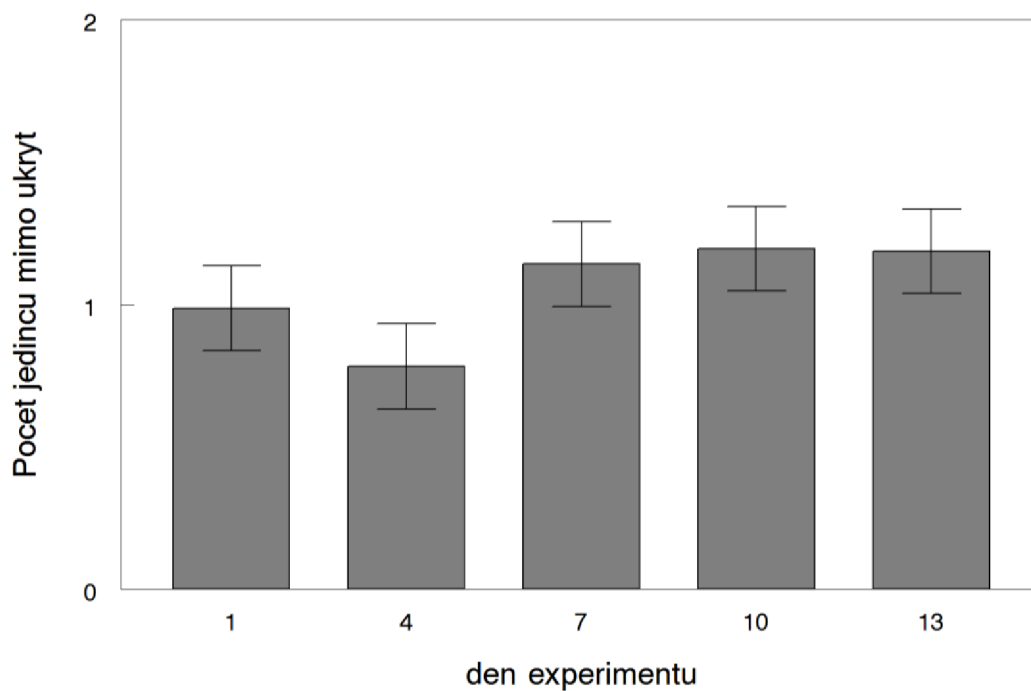


Obr. 1: Pravděpodobnost pohybu ve vztahu ke dnu experimentu.

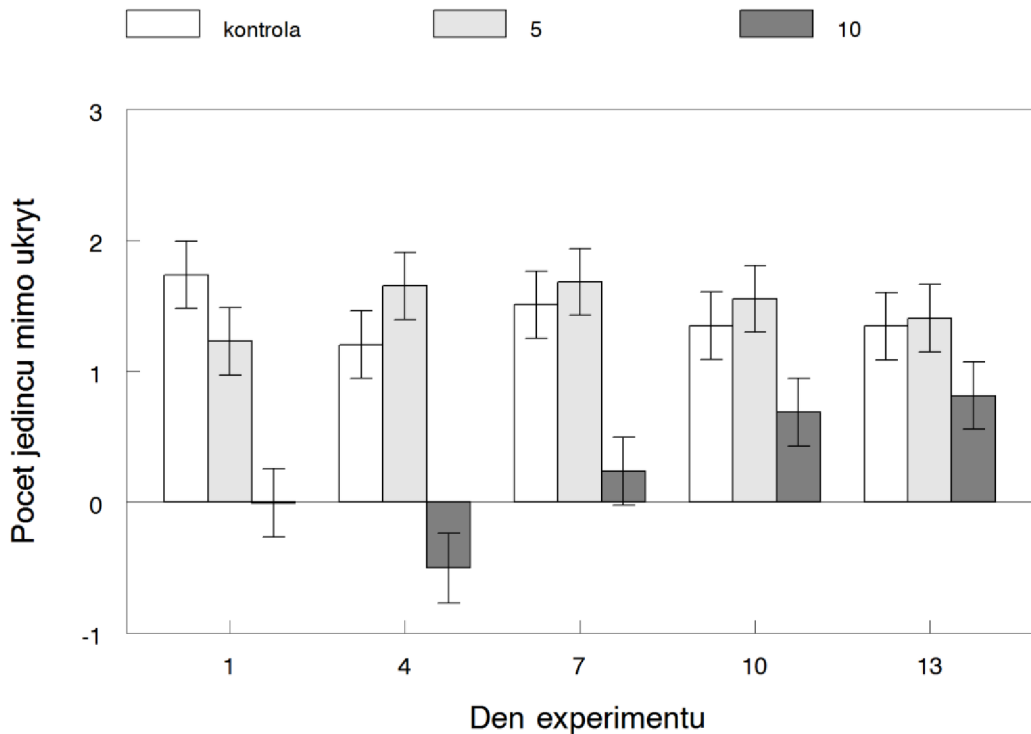


Obr. 2: Pravděpodobnost pohybu ve vztahu k fázi podávání potravy (tmavé sloupce - před krmením; světlé sloupce – po krmení) a expozici karbamazepinem (skupiny kontrola - 5 $\mu\text{g/l}$ - 10 $\mu\text{g/l}$).

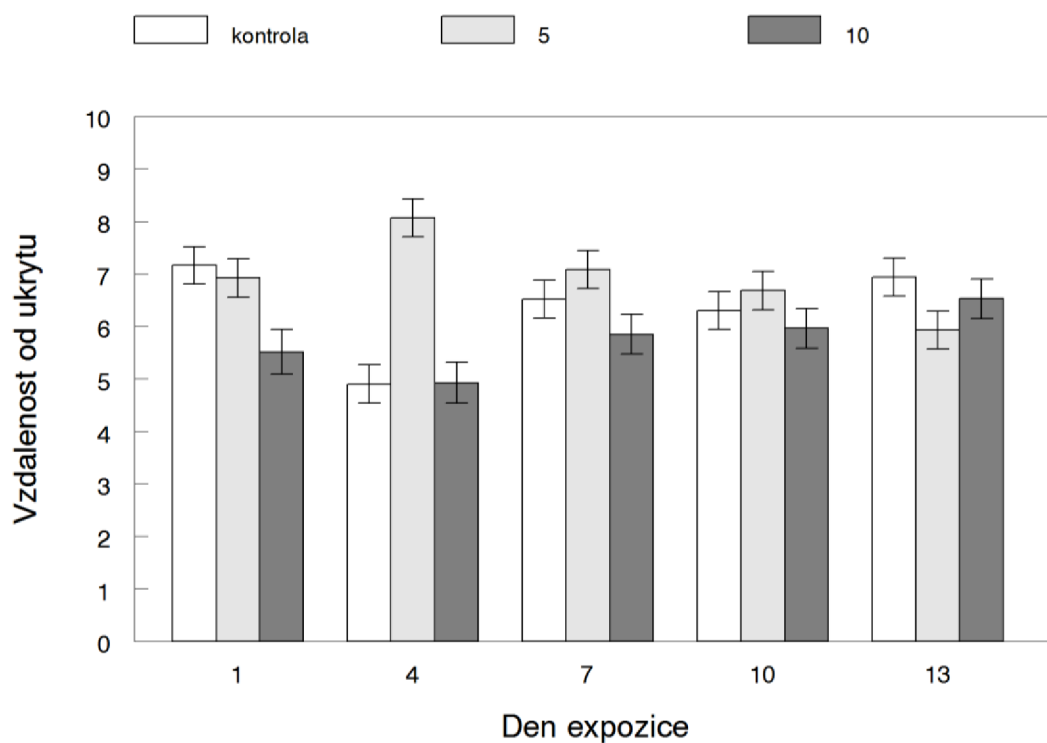
Odlišnosti související s expozicí karbamazepinu byly pozorované i u úkrytového chování vyjádřeného jako počet jedinců mimo úkryt a jejich průměrná vzdálenost od úkrytu. Počet jedinců mimo úkryt se obecně lišil v průběhu experimentu ($F_{4, 3521} = 43.55$, $P < 0.0001$). Po drobném poklesu čtvrtý den opět narostl a dále se držel na stabilní úrovni, která byla vyšší než první den experimentu (Obr. 3; Adj. $P < 0.01$). S průběhem experimentu v interakci s úrovní expozice se lišil počet jedinců mimo úkryt ($F_{8, 3521} = 77.43$, $P < 0.0001$) i vzdálenost od úkrytu ($F_{12, 2674} = 38.92$, $P < 0.0001$). Počet jedinců mimo úkryt byl ve srovnání s kontrolou významným způsobem snížený u expozice 10 $\mu\text{g/l}$ a to od prvního do sedmého dne (Obr. 4; Adj. $P < 0.05$). Dále již rozdíl nebyl významný. Mezi kontrolou a expozicí 5 $\mu\text{g/l}$ nebyl v průběhu experimentu nalezen žádný signifikantní rozdíl (Obr. 4; Adj. $P > 0.1$). I když byl ve vzdálenosti od úkrytu po většinu dnů patrný podobný trend nižší vzdálenosti se vzrůstající koncentrací expozice (Obr. 5), rozdíly mezi kontrolou a koncentrací 10 $\mu\text{g/l}$ nebyly signifikantní (Adj. $P > 0.05$). Jediný statisticky významný rozdíl byl nalezený čtvrtý den expozice, kdy jedinci exponovaní 5 $\mu\text{g/l}$ měli vyšší vzdálenost od úkrytu než kontrola (Adj. $P < 0.01$). Vzdálenost od úkrytu byla obecně vyšší po podání potravy ($F_{1, 2686} = 17.68$, $P < 0.0001$; Obr. 6). Tento trend byl platný u kontroly ($F_{2, 2686} = 5.09$, $P < 0.01$; Adj. $P < 0.01$; Obr. 7) i expozice 10 $\mu\text{g/l}$ (Adj. $P < 0.01$), zatímco u expozice 5 $\mu\text{g/l}$ nebyl rozdíl mezi vzdáleností od úkrytu před a po krmení signifikantní (Adj. $P > 0.9$). Počet jedinců mimo úkryt (Obr. 7) i jejich vzdálenost od úkrytu ($F_{2, 5,933} = 7.62$, $P < 0.03$; Obr. 8) se snižovaly s rostoucí koncentrací karbamazepinu, přičemž signifikantní rozdíly byly nalezené pouze mezi kontrolou a koncentrací 10 $\mu\text{g/l}$ (Adj. $P < 0.05$).



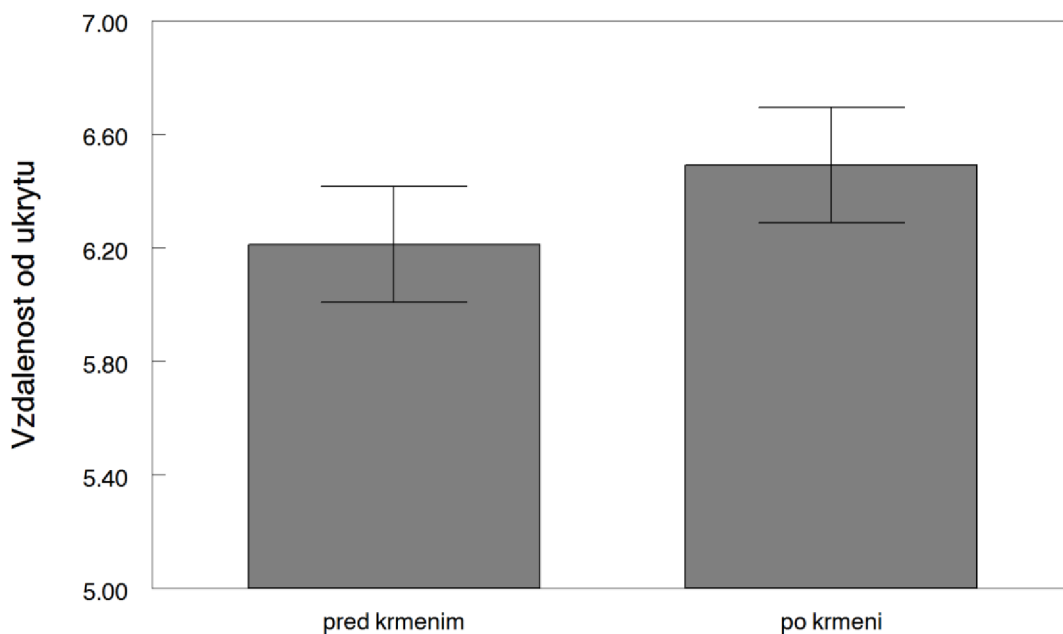
Obr. 3: Počet jedinců mimo úkryt ve vztahu ke dnu experimentu.



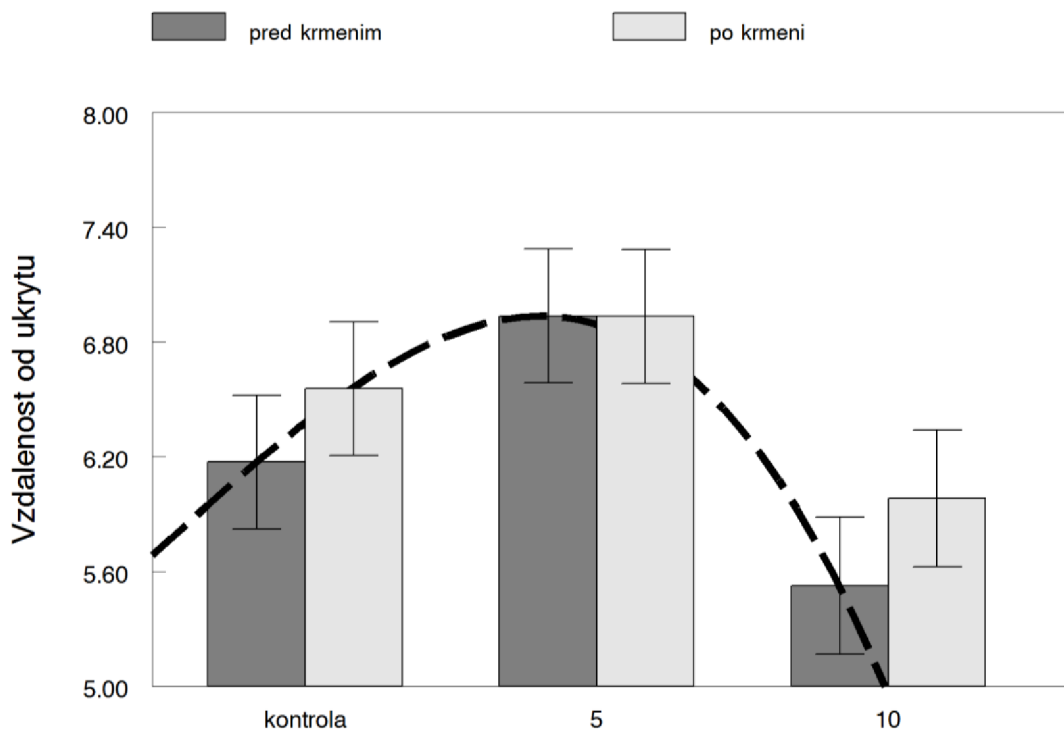
Obr. 4: Počet jedinců mimo úkryt ve vztahu ke dnu experimentu a expozici karbamazepinem (bílé sloupce – kontrola; světle šedé sloupce - 5 µg/l; tmavě šedé sloupce - 10 µg/l).



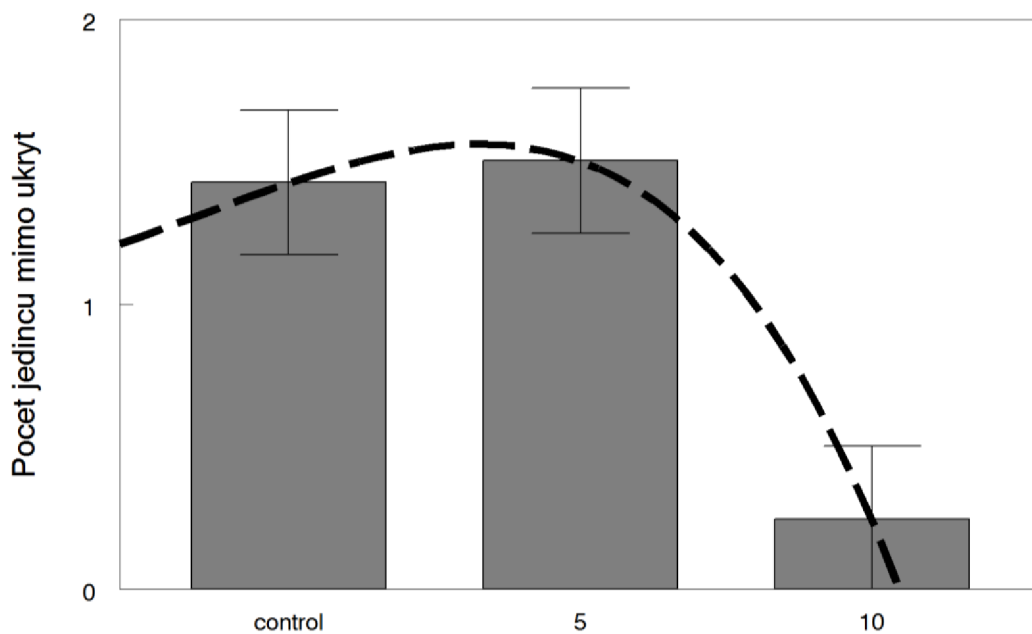
Obr. 5: Vzdálenost od úkrytu ve vztahu ke dnu experimentu a expozici karbamazepinem (bílé sloupce – kontrola; světle šedé sloupce - 5 µg/l; tmavě šedé sloupce - 10 µg/l).



Obr. 6: Vzdálenost od úkrytu ve vztahu k fázi podávání potravy.



Obr. 7: Vzdálenost od úkrytu ve vztahu k fázi podávání potravy (tmavé sloupce - před krmením; světlé sloupce – po krmení) a expozici karbamazepinem (skupiny kontrola - 5 µg/l - 10 µg/l).



Obr. 8: Počet jedinců mimo úkryt ve vztahu k expozici karbamazepinem (skupiny kontrola - 5 µg/l - 10 µg/l).

7 Diskuze

Znečištění mikropolutanty je významným celosvětovým problémem (Luo et al. 2014). Navzdory vzrůstajícím znalostem o jejich různorodých dopadech na živé organismy (Kabir et al. 2015; Gatidou & Stasinakis 2016), je stále nedostatek studií o detailních účincích léčiv, pesticidů a dalších látek v životním prostředí, a především o jejich vlivu na vybrané skupiny organismů, jako jsou vodní bezobratlí živočichové. Výsledky prezentované v této bakalářské práci potvrdily předchozí obecné předpoklady (Davison et al. 2021), že léčiva mohou mít významný dopad na chování vodních organismů. Konkrétně byla potvrzena hypotéza, že karbamazepin způsobuje změny v pohybové aktivitě a využívání úkrytu u sladkovodních krevetek a tyto změny jsou závislé na jeho koncentraci. V prvních deseti dnech experimentu došlo u krevetek k obecnému nárůstu pohybové aktivity, zatímco 13. den klesla na původní úroveň. Podstatné rozdíly ve vztahu k expozici karbamazepinem byly nalezeny v souvislosti s podáváním potravy. Pohybová aktivita byla u exponovaných skupin stejná před i po podání potravy, narozdíl od kontrolní skupiny, u které byla aktivita po krmení významně vyšší. Lze tedy konstatovat, že exponovaní jedinci nereagovali na přítomnost potravy změnou aktivity. Sníženou potravní aktivitu hrotnatek velkých v důsledku expozice karbamazepinem pozorovali i Nkoom a kol. (2019). Na základě této shody lze usuzovat, že vliv karbamazepinu na snížení potravní aktivity může být obdobný napříč různými druhy vodních bezobratlých živočichů. Pokud by tomu tak skutečně bylo, mohla by expozice karbamazepinem vést až ke změnám ve vývoji celých společenstev. Dále v našem experimentu obecně klesala pohybová aktivita se zvyšující se koncentrací (5 a 10 µg/l) karbamazepinu. Naopak u korýše blešivce obecného bylo v souvislosti se zvyšující se koncentrací (0.1, 1, 10 a 1000 µg/l) karbamazepinu zaznamenáno zvýšení pohybové aktivity (De Lange et al. 2009). Nárůst pohybové aktivity byl v důsledku expozice karbamazepinem popsán i u ploštěnky *Schmidtea mediterranea* (Ofoegbu et al. 2019). Na základě toho lze usuzovat, že změny aktivity ve vztahu k expozici karbamazepinem a jeho měnící se koncentraci mohou být druhově specifické. Dále byly v našem experimentu pozorovány změny v úkrytovém chování. Z grafů je patrné, že počet jedinců mimo úryt byl u koncentrace 5 µg/l od čtvrtého dne vyšší než u kontroly. Naopak u expozice 10 µg/l byl počet jedinců mimo úkryt od prvního dne významně nižší oproti kontrole, přičemž rozdíl byl největší prvních sedm dní. Možným vysvětlením by mohlo být, že vyšší koncentrace karbamazepinu měla tlumivý efekt na organismus krevet (Nkoom et al. 2019). Lišila se také vzdálenost krevet

od úkrytu. Počet jedinců mimo úkryt i jejich vzdálenost od úkrytu se snižovaly s rostoucí koncentrací karbamazepinu, přičemž signifikantní rozdíly byly nalezené pouze mezi kontrolou a koncentrací 10 µg/l. Ke všem výsledkům je nutno dodat, že experiment byl prováděn na organismech, které byly vystaveny působení karbamazepinu poprvé, a tudíž může být jejich odezva odlišná od organismů, které se s touto látkou již setkaly nebo jsou vystavené její konstantní expozici. Obecně lze shrnout, že karbamazepin ovlivňuje řadu životních projevů vodních bezobratlých organismů, jak bylo prokázáno ve výsledcích této bakalářské práce, ale i v jiných studiích (např. Chen et al. 2014; Rivetti et al. 2016; Nkoom et al. 2019; Ofoegbu et al. 2019).

Z výsledků jsou patrné jedny z mnoha dopadů léčiv na vodní organismy. V zájmu zdraví ekosystémů a tím i celého životního prostředí je nutné výskyt těchto látek v prostředí regulovat. To je možné provést v podstatě dvěma způsoby. Prvním je regulace výroby a spotřeby léčiv, podobně jako je tomu nově s plastovými jednorázovými výrobky (např. brčka). Druhou možností je zlepšení procesů čištění odpadních vod, jelikož voda odtékající z ČOV je považována za hlavní zdroj léčiv v prostředí (Gatidou & Stasinakis 2016; Karungamye 2020). V evropských ČOV se používá například sorpce na aktivovaný kal, čímž je možno vázat lipofilní léčiva (Kotzya a kol. 2009). Při využití tohoto procesu by bylo k zajištění větší účinnosti vhodné zakázat použití čistírenských kalů jako hnojiva zemědělských ploch. Dalším používaným procesem je použití aktivního kalu, tedy rozklad pomocí mikroorganismů. Nicméně tyto i jiné používané procesy vykazují poměrně malou účinnost při odstraňování léčiv. I při optimalizaci čistících procesů však lze dosáhnout pouze 90-99% účinnosti. Hlavní problém spočívá v tom, že neexistuje žádný plošně aplikovatelný proces, který by byl schopen z vody odstranit všechna v současnosti významná léčiva. Navíc některé látky, jako je například právě karbamazepin, jsou vůči čistícím procesům prakticky rezistentní (Váňa a kol. 2010). V současnosti je proto odstraňování léčiv i jiných mikropolutantů z vody předmětem intenzivního výzkumu. Jednou z možností je například využití ozonizace, kterou lze označit za poměrně spolehlivou a slibnou metodu. Ozonizací lze s účinností přes 95 % odstranit například karbamazepin, ethinylestradiol nebo diclofenac (Snyder et al. 2006). Kromě toho je výhodným vedlejším účinkem ozonizace odstranění patogenů. Je však nutné zmínit, že i s účinností čistících procesů přes 99 % se do prostředí stále dostává významné množství léčiv, tedy biologicky aktivních látek, které mohou mít negativní dopad na vodní společenstva. V kontextu prohlubujících se znalostí o dopadech léčiv a jiných mikropolutantů v prostředí je také nesmírně důležité

informovat o této problematice širokou veřejnost. Kromě vytváření tlaku na politiky s důrazem na zlepšení čistírenských procesů je možné informováním veřejnosti snížit i nadužívání léčiv (např. analgetika, antibiotika), protože nejlepší polutant je ten, který se nedostane do životního prostředí. Odpovědné užívání léčiv je nejsnazší, nejlevnější a zároveň nejrychlejší způsob, jak snížit jejich koncentraci v životním prostředí.

8 Závěr

Na základě výsledků experimentu i dalších dostupných studií je zřejmé, že léčiva i ostatní mikropolutanty představují významnou hrozbu pro vodní organismy. Tyto sloučeniny ovlivňují všechny aspekty života vodních organismů včetně příjmu potravy, pohybové aktivity, reprodukčního chování, růstu a mnohých dalších. Při řešení této problematiky je nutné neopomenout ani fakt, že vodní organismy žijící v kontaminovaném prostředí jsou vystaveny nejen jednotlivým kontaminantům, ale i jejich kombinacím, které by mohly vést k antagonistickým, aditivním nebo zvětšeným účinkům. Je tedy velmi důležité klást důraz nejen na omezení produkce těchto kontaminantů, ale hlavně na zlepšení čistících procesů. Dle mého názoru je velmi zarážející, že produkce a spotřeba léčiv, pesticidů i jiných mikropolutantů zůstává téměř bez jakýchkoliv omezení i přes fakt, že již existují stovky studií nepochybně prokazujících významný negativní dopad těchto kontaminantů na širokou škálu organismů.

9 Literatura

Ali I., Alharbi O. M., AlOthman Z. A., Al-Mohaimed A. M., Alwarthan A. 2019. Modeling of fenuron pesticide adsorption on CNTs for mechanistic insight and removal in water. *Environmental research* 170: 389-397

Archer E., Petrie B., Kasprzyk-Hordern B., Wolfaardt G.M. 2017. The fate of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), endocrine disrupting contaminants (EDCs), metabolites and illicit drugs in a WWTW and environmental waters. *Chemosphere* 174: 437-446

aus der Beek T., Weber F. A., Bergmann A., Hickmann S., Ebert I., Hein A., & Küster A. 2016. Pharmaceuticals in the environment—Global occurrences and perspectives. *Environmental toxicology and chemistry* 35(4): 823-835

Backhaus T., Karlsson M. 2014. Screening level mixture risk assessment of pharmaceuticals in STP effluents. *Water Research* 49: 157-165

Bergami E., Bocci E., Vannuccini M. L., Monopoli M., Salvati A., Dawson K. A., Corsi I. 2016. Nano-sized polystyrene affects feeding, behavior and physiology of brine shrimp *Artemia franciscana* larvae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 123: 18-25

Besse J.P., Garric J. 2009. Progestagens for human use, exposure and hazard assessment for the aquatic environment. *Environmental Pollution* 157: 3485-3494

Bolton-Warberg M., Coen L.D., Weinstein J.E. 2007. Acute toxicity and acetylcholinesterase inhibition in grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) and oysters (*Crassostrea virginica*) exposed to the organophosphate dichlorvos: laboratory and field studies. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 52: 207–216

Boxall A. B., Rudd M. A., Brooks B. W., Caldwell D. J., Choi K., Hickmann S., ... a Van Der Kraak G. 2012. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: what are the big questions ?. *Environmental health perspectives* 120(9): 1221-1229

Boyd W.A., Brewer S.K., Williams F. 2002. Altered Behaviour of Invertebrates Living in Polluted Environments. *Behavioural Ecotoxicology* 8: 294-336

Buřič M., Grabicová K., Kubec J., Kouba A., Kuklina I., Kozák P., Grabic R., Randák T. 2018. Environmentally relevant concentrations of tramadol and citalopram alter behaviour of an aquatic invertebrate. *Aquatic Toxicology* 200: 226–232

Cajthaml T., Křesinová Z. 2016. Hormonální látky kolem nás: hrozba 21. století. Academia, Praha.

Capolupo M., Sørensen L., Jayasena K. D. R., Booth, A. M., & Fabbri E. 2020. Chemical composition and ecotoxicity of plastic and car tire rubber leachates to aquatic organisms. *Water Research* 169: 115270

Cardoso-Vera J.D., Elizalde-Velázquez G.A., Islas-Flores H., Mejía-García A., Ortega-Olvera J.M., Gómez-Oliván L.M. 2021. A review of antiepileptic drugs: Part 1 occurrence, fate in aquatic environments and removal during different treatment technologies. *Science of the Total Environment* 768: 145487

Chabenat A., Bidel F., Knigge T., Bellanger C. 2021. Alteration of predatory behaviour and growth in juvenile cuttlefish by fluoxetine and venlafaxine. *Chemosphere* 277: 130169

Chamas A., Moon H., Zheng J., Qiu Y., Tabassum T., Jang J. H., Abu-Omar M., Scott S.L., Suh S. 2020. Degradation rates of plastics in the environment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 8(9): 3494-3511

Chavoshani A., Hashemi M., Mehdi Amin M., Ameta S. C. 2020. Micropollutants and Challenges. *Emerging in the Aquatic Environments and Treatment Processes* 1: 1-9

Chen H., Zha J., Liang X., Li J., Wang Z. 2014. Effects of the human antiepileptic drug carbamazepine on the behavior, biomarkers, and heat shock proteins in the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Aquatic Toxicology*: 155:1-8

Chmist J., Szoszkiewicz K., Drożdżyński D. 2019. Behavioural Responses of *Unio tumidus* Freshwater Mussels to Pesticide Contamination. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 77: 432–442

Cole M., Lindeque P., Fileman E., Halsband C., Galloway T. S. 2015. The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. *Environmental science & technology* 49(2): 1130-1137

Damaris B.D. Muhamed A., Saly T. 2020. Abundance, characteristics and seasonal variation of microplastics in Indian white shrimps (*Fenneropenaeus indicus*) from coastal waters off Cochin, Kerala, India. *Science of The Total Environment* 737: 139839

Davison H., Macadam C.R., Smith D. 2021. Pharmaceuticals in freshwater environments and their potential effects on freshwater invertebrates. Peterborough.

De Lange H.J., Peeters E.T.H.M., Lürling M. 2009. Changes in Ventilation and Locomotion of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) in Response to Low Concentrations of Pharmaceuticals. *Human and Ecological Risk Assessment* 15(1): 111-120

De Lange H.J., Noordoven W., Murk A.J., Lürling M., Peeters E.T.H.M. 2006. Behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) to low concentrations of pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* 78: 209–216

Dissanayake A., Galloway T.S., Jones M.B. 2009. Physiological condition and intraspecific agonistic behaviour in *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 375: 57–63

Dissanayake A., Piggott C., Baldwin C., Sloman K.A. 2010. Elucidating cellular and behavioural effects of contaminant impact (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) in both laboratory-exposed and field-collected shore crabs, *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda). *Marine Environmental Research* 70: 368-373

Dodson S.I., Hanazato T., Gorsk P.R. 1995. Behavioral responses of *Daphnia pulex* exposed to carbaryl and *Chaoborus kariomone*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14: 43-50

Donkin P., Widdows J., Evans S.V., Staff F.J., Yan T. 1997. Effect of Neurotoxic Pesticides on the Feeding Rate of Marine Mussels (*Mytilus edulis*). *Pesticide Science* 49: 196-209

Druschky K., Bleich S., Grohmann R., Engel R.R., Kleimann A., Stübner S., Greil W., Toto S. 2018. Use and safety of antiepileptic drugs in psychiatric inpatients—data from the AMSP study. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 268: 191–208

Ducrot V., Teixeira-Alves M., Lopes C., Delignette-Muller M.L., Charles S., Lagadic L. 2010. Development of partial life-cycle experiments to assess the effects of endocrine disruptors on the freshwater gastropod *Lymnaea stagnalis*: a case-study with vinclozolin. *Ecotoxicology* 19: 1312-1321

Ebele A. J., Abdallah M. A. E., Harrad, S. 2017. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging contaminants* 3(1): 1-16

ECHA - Evropská agentura pro chemické látky. Mikroplasty [online]. 2022. [cit. 2021-11-06]. Dostupné z: <https://echa.europa.eu/cs/hot-topics/microplastics>

Federal Office for the Environment (FOEN). 2009. Micropollutants in the aquatic environment - Assessment and reduction of the pollutant load due to municipal waste water. Bern.

Fent K. 2015. Progestins as endocrine disrupters in aquatic ecosystems: Concentrations, effects and risk assessment. *Environment International* 84: 115-130

Fernandes S., Sosa-Napolskij M., Lobo G., Silva I. 2021. Impact of the COVID-19 pandemic in the Portuguese population: Consumption of alcohol, stimulant drinks, illegal substances, and pharmaceuticals. *PLoS ONE* 16(11): e0260322

Foley C. J., Feiner Z. S., Malinich T. D., Höök T. O. 2018. A meta-analysis of the effects of exposure to microplastics on fish and aquatic invertebrates. *Science of the total environment* 631: 550-559

Fong P.P., Hoy C.M. 2012. Antidepressants (venlafaxine and citalopram) cause foot detachment from the substrate in freshwater snails at environmentally relevant concentrations. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 45: 145–153

Fong P.P., Molnar N. 2013. Antidepressants cause foot detachment from substrate in five species of marine snail. *Marine Environmental Research* 84: 24-30

Ford A.T., Ågerstrand M., Brooks B.W., Allen H.J., Bertram M.G., Brodin T., Dang Z.C., Duquesne S., Sahm R., Hoffmann F. et al. 2021. The role of behavioral ecotoxicology in environmental protection. *Environ. Sci. Technol.* 55: 5620–5628

Ford A.T., Fong P.P. 2016. The Effects of Antidepressants appear to be rapid and at environmentally relevant concentrations. *Environmental Toxicology and Chemistry* 35: 794–798

Fryčák P. 2020. Vztah výskytu reziduí antibiotik a bakteriální rezistence v odpadních a přírodních vodách. *Chemické listy* 114: 815-822

Fujáková M., Kopeček M. 2012. Antidepressiva – od teorie ke klinické praxi. *Klinická farmakologie a farmacie* 26: 29-37

Gambardella C., Morgana S., Ferrando S., Bramini M., Piazza V., Costa E., Garaventa F., Faimali, M. 2017. Effects of polystyrene microbeads in marine planktonic crustaceans. *Ecotoxicology and environmental safety* 145: 250-257

Gatidou G., Stasinakis A.S. 2016. Micropollutants and aquatic environment. *Treat Micropol Water Wastewater: Integ Environ Tech Se*: 1-51

Gaw S., Thomas K.V., Hutchinson T.H. 2014. Sources, impacts and trends of pharmaceuticals in the marine and coastal environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 369: 20130572

Gola D., Tyagi P. K., Arya A., Chauhan N., Agarwal M., Singh S. K., Gola, S. 2021. The impact of microplastics on marine environment: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* 16: 100552

Goto T., Hiromi J. 2003. Toxicity of 17 α -ethynylestradiol and norethindrone, constituents of an oral contraceptive pill to the swimming and reproduction of cladoceran *Daphnia magna*, with special reference to their synergetic effect. *Marine Pollution Bulletin* 47: 139–142

Guler Y., Ford A.T. 2010. Anti-depressants make amphipods see the light. *Aquatic Toxicology* 99: 397–404

Gunaalan, K., Fabbri, E., & Capolupo, M. (2020). The hidden threat of plastic leachates: A critical review on their impacts on aquatic organisms. *Water Research*, 184, 116170.

Hahn T., Schulz R. 2007. Indirect Effects of Antibiotics in the Aquatic Environment: A Laboratory Study on Detritivore Food Selection Behavior. *Human and Ecological Risk Assessment* 13: 535–542

Hakl M. 2013. Zásady podávání analgetik. *Praktické lékařství* 9: 173-176

Halm-Lemeille M.P., Fard E.A., Latire T., Ferard J.F., Costil K., Lebel J.M., Bureau R., Serpentine A. 2014. The effect of different polychlorinated biphenyls on two aquatic models, the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata* and the haemocytes from the European abalone *Haliotis tuberculata*. *Chemosphere* 110: 120-128

Helfrich A.L., Weigmann D.L., Hipkins P., Stinson E.R. 2009. *Pesticides and Aquatic Animals: A Guide to Reducing Impacts on Aquatic Systems*. Virginia Polytechnic Intitut and State University. Dostupné z: <https://vtechworks.lib.vt.edu/handle/10919/48060>

Hossain M.S., Kubec J., Grabicová K., Grabic R., Randá T., Guo W., Kouba A., Buřič M. 2019. Environmentally relevant concentrations of methamphetamine and sertraline modify the behavior and life history traits of an aquatic invertebrate. *Aquatic Toxicology* 213: 105222

Ismail M., Sayed M., Khan H.M., Cooper W.J. 2014. Analysis of Pesticides in Water Samples and Removal of Monocrotophos by γ -Irradiation. *Journal of Analytical and Bioanalytical Technology* 5: 181

Kabir E.R., Rahman M.S., Rahman I. 2015. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 40: 241-258

Karungamye P.N. 2020. Methods used for removal of pharmaceuticals from wastewater: A review. *Applied Journal of Environmental Engineering Science* 6(4): 412-428

Kenward M.G., Roger J.H. 1997. Small sample inference for fixed effects from restricted maximum likelihood. *Biometrics* 53: 83-997

Klein E.Y., Van Boeckel T.P., Martinez E.M., Pant S., Gandra S., Levine S.A., Goossens H., Laxminarayan R. 2018. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115: E3463–E3470

Koba O., Grabicova K., Cervený D., Turek J., Kolarova J., Randak T., Zlabek V., Grabic R. 2018. Transport of pharmaceuticals and their metabolites between water and sediments as a further potential exposure for aquatic organisms. *Journal of Hazardous Materials* 15(342): 401-407

Konschak M., Zubrod J.P., Baudy P., Fink P., Kenngott K., Lüderwald S., Englert K., Jusi C., Schulz R., Bundschuh M. 2020. The importance of diet-related effects of the antibiotic ciprofloxacin on the leaf-shredding invertebrate *Gammarus fossarum* (Crustacea; Amphipoda). *Aquatic Toxicology* 222: 105461

Kot-Wasik A., Jakimska A., Śliwka-Kaszyńska M. 2016. Occurrence and seasonal variations of 25 pharmaceutical residues in wastewater and drinking water treatment plants. *Environmental Monitoring and Assessment* 188(12): 661

Kotasová E. 2020. Problematika mikroplastů v životním prostředí. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice. Fakulta chemicko-technologická. Pardubice.

Kotyza J., Soudek P., Vaněk T. 2009. Pharmaceuticals - New Environmental Pollutants. *Chemické Listy* 103: 540-547

Kožíšek F., Kazmarová H. 2019. Mikroplasty v životním prostředí a zdraví. *Vodní hospodářství*, 69(9): 1-3

Krang A.S. 2007. Naphthalene disrupts pheromone induced mate search in the amphipod *Corophium volutator* (Pallas). *Aquatic Toxicology* 85: 9-18

Kubišová J. 2008. Charakteristika organofosforových látek v rámci všech pesticidů (rigorózní práce). Univerzita Karlova. Praha.

Kummerer K. 2010. Pharmaceuticals in the Environment. *Annual Review of Environment and Resources* 35: 57-75

Lawal A.T. 2017. Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. *Cogent Environmental Science* 3(1): 1339841

Liu C., Tan L., Zhang L., Tian W., Ma L. 2021. A Review of the Distribution of Antibiotics in Water in Different Regions of China and Current Antibiotic Degradation Pathways. *Frontiers in Environmental Science* 9: 692298

Le Bris H., Maffart P., Bocquené G., Buchet V., Galgani F., Blanc G. 1995. Laboratory study on the effect of dichlorvos on two commercial bivalves. *Aquaculture* 138: 139–144

Loganimoce E.M. 2016. Combined effects of warming, acidification and the synthetic progestin levonorgestrel on the fitness of the marine amphipod *Gammarus locusta* (Crustacea). Diplomová práce. University of Porto. Institute of Biomedical Science. Porto.

Lopes D.G., Duarte I.A., Antunes M., Fonseca V.F. 2020. Effects of antidepressants in the reproduction of aquatic organisms: a meta-analysis. *Aquatic Toxicology* 227: 105569

Ložek F., Kuklina I., Grabicová K., Kubec J., Buřič M., Grabic R., Randák T., Císař P., Kozák P. 2019. Behaviour and cardiac response to stress in signal crayfish exposed to environmental concentrations of tramadol. *Aquatic Toxicology* 213: 105217

Luo Y., Guo W., Ngo H. H., Nghiem L. D., Hai F. I., Zhang J., Liang S., Wang, X. C. 2014. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the total environment* 473: 619-641

Mahmood I., Imadi S.R, Shazadi K., Gul A., Hakeem K.R. 2016. Effects of Pesticides on Environment. *Plant, Soil and Microbes*: 253-269

Manna S., Roy, U. Biswas, A., Sengupta S., Basak P., Das, P. 2021. Review on Trends in the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) from Water and Wastewater. *Contaminants in Drinking and Wastewater Sources*: 225-250

Mastík J. 2008. Antikonvulziva v terapii bolesti - Mechanismy účinku. *Neurologia pre prax* 1: 39-43

Mojiri A., Zhou J. L., Robinson B., Ohashi A., Ozaki N., Kindaichi T., Farraji H., Vakili M. 2020. Pesticides in aquatic environments and their removal by adsorption methods. *Chemosphere* 253: 126646

Moon-Kyung K., Kyung-Duk Z. 2016. Occurrence and removals of micropollutants in water environment. *Environ. Eng. Res.* 21(4): 319-332

Neuparth T., Lopes A.I., Alves N., Oliveira J.M.A., Santos M.M. 2019. Does the antidepressant sertraline show chronic effects on aquatic invertebrates at environmentally relevant concentrations? A case study with the keystone amphipod, *Gammarus locusta*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 183: 109486

Nkoom M., Lua G., Liua J., Yanga H., Donga H. 2019. Bioconcentration of the antiepileptic drug carbamazepine and its physiological and biochemical effects on *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172: 11–18

Nyman A.M., Hintermeister A., Schirmer K., Ashauer R. 2013. The Insecticide Imidacloprid Causes Mortality of the Freshwater Amphipod *Gammarus pulex* by Interfering with Feeding Behavior. *PLOS One* 8 (5): e62472

Oetken M., Nentwig G., Lçffler D., Ternes T., Oehlmann J. 2005. Effects of Pharmaceuticals on Aquatic Invertebrates. Part I. The Antiepileptic Drug Carbamazepine. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 49: 353 - 361

Ofoegbu P.U., Lourenço J., Mendo S., Soares A.M.V.M., Pestana J.L.T. 2019. Effects of low concentrations of psychiatric drugs (carbamazepine and fluoxetine) on the freshwater planarian, *Schmidtea mediterranea*. *Chemosphere* 217: 542-549

Olejníčková Z. 2015. Studium degradace léčiv s využitím pokročilých oxidačních procesů. Dizertační práce. Vysokoškolské učení technické v Brně. Fakulta chemická. Brno.

Oliver K.M., Degnan P.H., Burke G.R., Moran N.A. 2009. Facultative symbionts in aphids and the horizontal transfer of ecologically important traits. *Annual Review of Entomology* 55: 247-66

Parolini M. 2020. Toxicity of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) acetylsalicylic acid, paracetamol, diclofenac, ibuprofen and naproxen towards freshwater invertebrates: A review. *Science of the Total Environment* 740: 140043

Pascoe D., Karntanut W., Muller C.T. 2003. Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. *Chemosphere* 51: 521-528

Pérez-Parada A., Goyenola G., de Mello F.T., Heinzen H. 2018. Recent advances and open questions around pesticide dynamics and effects on freshwater fishes. *Current Opinion in Environmental Science & Health* 4: 38-44

Pidrman V. 2004. Antidepressiva SSRI v léčbě deprese a úzkostných poruch. *Interní medicína pro praxi* 4: 200-204

Pirger Z., László Z., Naskar S., O'Shea M., Benjamin P.R., Kemenes G., Kemenes I. 2021. Interneuronal mechanisms underlying a learning-induced switch in a sensory response that anticipates changes in behavioural outcomes. *Current Biology* 31: 1754–1761

Pisa L.W., Amaral-Rogers V., Belzunces L.P., Bonmatin J.M., Downs C.A., Goulson D., Kreuzweiser D.P., Krupke C., Liess M., McField M., Morrissey C.A., Noome D.A., Settele J., Simon-Delso N., Stark J.D., Van der Sluijs J.P., Van Dyck H., Wiemers M. 2015. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 68-102

Porte C., Janer G., Lorusso L.C., Ortiz-Zarragoitia M., Cajaraville M.P., Fossi M.C., Canesi L. 2006. Endocrine disruptors in marine organisms: Approaches and perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology (C 143)*: 303 – 315

Raju S., Carbery M., Kuttykattil A., Senathirajah K., Subashchandrabose S. R., Evans G., Thavamani, P. 2018. Transport and fate of microplastics in wastewater treatment plants: implications to environmental health. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 17(4): 637-653

Rehse S., Kloas W., Zarfl C. 2016. Short-term exposure with high concentrations of pristine microplastic particles leads to immobilisation of *Daphnia magna*. *Chemosphere* 153:91–99

Reinstadler V., Ausweger V., Grabhler A.L., Kreidl M., Huber S., Grander J., Haslacher S., Singer K., Schlapp-Hackl M., Sorg M., Erber H., Oberacher H. 2021. Monitoring drug consumption in Innsbruck during coronavirus disease 2019 (COVID-19) lockdown by wastewater analysis. *Science of the Total Environment* 757: 144006

Rist S. E., Assidqi K., Zamani N. P., Appel D., Perschke M., Huhn M., Lenz, M. 2016. Suspended micro-sized PVC particles impair the performance and decrease survival in the Asian green mussel *Perna viridis*. *Marine pollution bulletin* 111(1-2): 213-220

Rivetti C., Campos B., Barata C. 2016. Low environmental levels of neuro-active pharmaceuticals alter phototactic behaviour and reproduction in *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology* 170: 289-296

RxList. Carbamazepine [online]. 2011. [cit. 2022-02-03]. Dostupné z: https://www.rxlist.com/consumer_carbamazepine_tegretol/drugs-condition.htm

Sancho E., Villarroel M.,J, Andreu E., Ferrando M.D. 2009. Disturbances in energy metabolism of *Daphnia magna* after exposure to tebuconazole. *Chemosphere* 74(9):1171–1178

Seuront L. 2018. Microplastic leachates impair behavioural vigilance and predator avoidance in a temperate intertidal gastropod. *Biology letters* 14(11): 20180453

Shaliutina-Kolešová A., Shaliutina O., Nian R. 2020. The effects of environmental antidepressants on macroinvertebrates: a mini review. *Water and Environment Journal* 34: 153-159

Simao F.C.P., Gravato C., Machado A.L., Soares A.M.V.M. 2020. Toxicity of different polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to the freshwater planarian *Girardia tigrina*. *Environmental Pollution* 266: 115185

Snyder S. A., Wert E. C., Rexing D. J., Zegers R. E., Drury D. D. 2006. Ozone oxidation of endocrine disruptors and pharmaceuticals in surface water and wastewater. *Ozone: Science and Engineering* 28(6): 445-460

Steinmetz R., Mitchner N.A., Grant A., Allen D.L., Bigsby R.M., Ben-Jonathan N. 1998. The xenoestrogen bisphenol A induces growth, differentiation, and c-fos gene expression in the female reproductive tract. *Endocrinology* 139(6): 2741-7274

Svgruha R., Fodor I., Padisak J., Pirger Z. 2021. Progesterone-induced alterations and their ecological relevance in different embryonic and adult behaviours of an invertebrate model species, the great pond snail (*Lymnaea stagnalis*). *Environmental Science and Pollution Research* 28: 59391–59402

Svoboda J., Fuks J.K., Matoušová L., Schönbauerová L., Svobodová A., Váňa M., Šťastný V. 2009. Léčiva a čistírny odpadních vod – možnosti odstraňování a reálná data. *Příloha Vodního hospodářství* 59: 9-12

Świacka K., Michnowska A., Maculewicz J., Cabana M., Smolarz K. 2021. Toxic effects of NSAIDs in non-target species: A review from the perspective of the aquatic environment. *Environmental Pollution* 273: 115891

Tosun N., Karabay N.U., Sayim F. 2001. Pesticide usage and their potential adverse impacts on living organisms. *ANADOLU* 11: 113-125

UNEP. Our planet is choking on plastic [online]. 2022. [cit. 2022-03-09]. Dostupné z: <https://www.unep.org/interactives/beat-plastic-pollution/>

Van Cauwenberghe, L. Claessens, M., Vandegehuchte M. B., Janssen, C. R. 2015. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environmental pollution* 199: 10-17

Van der Werf, H.M.G. 1996. Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture Ecosystems and Environment* 60: 81-96

Van der Zandt P.T.J., Heinis F., Kikkert A. 1994. Effects of narcotic industrial pollutants on behaviour of midge larvae (*Chironomus riparius* (Meigen), Diptera): a quantitative structure-activity relationship. *Aquatic Toxicology* 28(3-4): 209-221

Váňa M., Wanner F., Matoušová L., Fuksa J.K. 2010. Možnosti odstraňování vybraných specifických polutantů v ČOV. *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace* 52: 1-3

Veurink M., Koster M., Berg L.T. 2005. The history of DES, lessons to be learned. *Pharmacy World & Science* 27(3): 139-43

Watts M.M., Pascoe D., Carroll K. 2000. Survival and precopulatory behaviour of *Gammarus pulex* (L.) exposed to two xenoestrogens. *Water Research* 35(10): 2347-2352

Wegner A., Besseling E., Foekema E. M., Kamermans P., Koelmans, A. A. 2012. Effects of nanopolystyrene on the feeding behavior of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.). *Environmental Toxicology and Chemistry* 31(11): 2490-2497

WHO. Epilepsy [online]. 2022. [cit. 2022-02-18]. Dostupné z: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>

Xu X. Y., Lee W. T., Chan A. K. Y., Lo H. S., Shin P. K. S., Cheung S. G. 2017. Microplastic ingestion reduces energy intake in the clam *Atactodea striata*. *Marine Pollution Bulletin* 124(2): 798-802

Yamamoto H., Nakamura Y., Moriguchi S., Nakamura Y., Honda Y., Tamura I., Sekizawa J., Hirata Y., Hayashi A. 2009. Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments. *Water research* 43(2): 351-362

Zajíc M. 2017. Posuzování vlivu léčiv v prostředí na fyziologické procesy řas. Bakalářská práce. Masarykova Univerzita. Přírodovědecká fakulta. Brno.

Zhang K., Hamidian A. H., Tubic A., Zhang Y., Fang J.K.H., Wu C., Lam P.K.S. 2021. Understanding plastic degradation and microplastic formation in the environment: A review. *Environmental Pollution* 274: 116554

Zhang S., Wang J., Liu X., Qu F., Wang X., Wang X., Li Y., Sun, Y. 2019. Microplastics in the environment: A review of analytical methods, distribution, and biological effects. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 111: 62-72

Zhang Y., Geißen S.U., Gas C. 2008. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere* 73: 1151-1161

Zubrod J.P., Bundschuh M., Schulz R. 2010. Effects of subchronic fungicide exposure on the energy processing of *Gammarus fossarum* (Crustacea; Amphipoda). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73 (7): 1674–1680

Zuccato E., Castiglioni S., Bagnati R., Melis M., Fanelli R. 2010. Source, occurrence and fate of antibiotics in the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials* 179: 1042-1048

