

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra Ekologie a životního prostředí



**Bioakumulace těžkých kovů ve škeblici asijské (*Sinanodonta woodiana*)  
a její využití pro hodnocení znečištění vod**

**Bc. Marcela Janků**

Diplomová práce

předložená

na Katedře ekologie a životního prostředí

Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

jako součást požadavků

na získání titulu Mgr. v oboru

Hydrobiologie

Vedoucí práce: doc. RNDr. Martin Rulík, PhD.

Olomouc 2020

..

Janků M. (2020): Bioakumulace těžkých kovů ve škeblici asijské (*Sinanodonta woodiana*) a její využití pro hodnocení znečištění vod. Diplomová práce, Katedra ekologie a životního prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, 74 s., v češtině.

## Abstrakt

Mlži jsou organismy citlivé na znečištění a již řadu let se používají jako sentinelové organismy pro monitoring kvality vodního prostředí. Asijský druh mlže *Sinanodonta woodiana* je v České republice relativně nový a globálně se rozšiřuje posledních pár let. Vzhledem k jeho výrazné velikosti a dalším vlastnostem se jeví jako druh vhodný pro bioakumulační a ekotoxikologické studie. V této práci jsme se zaměřili na studium množství těžkých kovů (Ni, Zn, Cu, Pb, Cd, Cr) v jednotlivých orgánech *S. woodiana* v závislosti na místě výskytu, velikosti organismu a typu prostředí. Zkoumaní jedinci pocházeli z řeky Moravy, Hradeckého rybníka u Tovačova a řeky Kyjovky. Výsledky ukazují, že z vybraných těžkých kovů se nejvíce kumuloval zinek, který je prvek esenciální, podílí se na tvorbě enzymů a má velký význam pro metabolismus. Nejvyšší množství zinku se prokázalo u všech orgánů kromě lastury, kde koncentrace zinku naopak patřila k nejnižším ze všech prvků. Jiné kovy se výrazně nelišily ani mezi sebou ani v jednotlivých orgánech. Všechny sledované lokality dosahovaly podobných obsahů těžkých kovů, signifikantně méně bylo mědi v rybníce oproti řekám. Nebyl prokázán rozdíl v množství kumulovaných kovů mezi jednotlivými velikostními kategoriemi. Při srovnání obsahu těžkých kovů ve škeblici s obsahem v okolním prostředí bylo zjištěno, že ve vodě byla zřetelně nižší koncentrace kovů než v orgánech *S. woodiana*, naopak v sedimentu byl obsah kovů vyšší než v měkkých tkáních tohoto druhu. Druh *S. woodiana* se prokázal být prakticky využitelný a vhodný pro biomonitoring a hodnocení znečištění vod.

Klíčová slova: biomonitoring, *Sinanodonta woodiana*, povodí Moravy, těžké kovy, ekotoxikologie

Janků M. (2020): Heavy metals bioaccumulation in Chinese Pond Mussel (*Sinanodonta woodiana*) and its utilization in the assessment of water pollution. Master's thesis, Department of Ecology and Environmental Sciences, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc, 74 pp., in Czech.

### **Abstract**

Bivalves is a class of animals sensitive to environmental pollution, and for many years they have been used as sentinel organisms for water quality monitoring. The Asian species *Sinanodonta woodiana* is relatively new in the Czech Republic, and for the past few years, it has been expanding globally. Due to its excessive size and other attributes, it seems to be a suitable species for bioaccumulation and ecotoxicology studies. In this study, we focused on the amounts of heavy metals (Ni, Zn, Cu, Pb, Cd, Cr) in particular tissues of *S. woodiana* depending on the effects of habitat, mussel size, and the type of environment. Examined samples came from the Morava river, the Hradecký pond near Tovačov, and the Kyjovka river. The results show a strong cumulation of zinc, which is essential, participates in the enzyme constitution and has great importance for the animal's metabolism. The highest amount of zinc has been observed in all the tissues except for the shell, where zinc concentration was almost the lowest of all elements. Other heavy metals did not differ from each other or within particular tissues. All of the examined habitats appeared to be similar in their heavy metals content, only the copper concentration was lower in the pond than in the two rivers. No significant correlation between the size classes was found. When comparing the heavy metals amount in *S. woodiana* and the amount in the environment, it was observed that there were significantly lower concentrations of heavy metals in the water than in the tissues. However, the sediment heavy metals content was higher than in soft tissues. *S. woodiana* proved to be practical and suitable for biomonitoring and water quality evaluation.

Key words: biomonitoring, *Sinanodonta woodiana*, The Morava River basin, heavy metals, ecotoxicology

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením doc. RNDr.  
Martina Rulíka, PhD. a jen s použitím citovaných literárních pramenů.

V Olomouci dne:

.....

.....

podpis

## Obsah

Seznam tabulek .....	viii
Seznam obrázků .....	ix
Poděkování .....	xi
1. Úvod .....	12
1.1 Cíle .....	13
2. Škeblice asijská .....	14
2.1 <i>Sinanodonta woodiana</i> jakožto invazní druh .....	14
2.2 Reprodukce a vývoj <i>S. woodiana</i> .....	17
3. Biomonitoring .....	19
3.1 Mlži jako bioakumulační organismy .....	21
4. Těžké kovy .....	24
4.1 Nikl .....	26
4.2 Zinek .....	26
4.3 Měď .....	27
4.4 Olovo .....	28
4.5 Kadmium .....	29
4.6 Chrom .....	30
5. Metody .....	32
5.1 Odběr jedinců .....	33
5.2 Histologický rozbor .....	35
5.3 Chemická analýza .....	38
5.4 Statistické zpracování dat .....	39
6. Výsledky .....	40
6.1 Obsah těžkých kovů v jednotlivých orgánech <i>S. woodiana</i> .....	40
6.2 Obsah těžkých kovů v jedincích ze stojatých a tekoucích vod .....	44
6.3 Obsah těžkých kovů v různých velikostních kategoriích .....	46
6.4 Obsah těžkých kovů ve vodě a v sedimentech .....	50
7. Diskuze .....	53
7.1 Kumulace těžkých kovů v <i>S. woodiana</i> .....	53
7.2.1 Kumulace těžkých kovů do jednotlivých orgánů .....	56
7.2.2 Kumulace těžkých kovů na různých lokalitách .....	58

7.2.3 Vliv tělesné velikosti na bioakumulaci .....	59
7.2.4 Další faktory ovlivňující bioakumulaci .....	60
7.3 Využitelnost druhu <i>S. woodiana</i> pro hodnocení kvality vod .....	61
8. Závěr .....	65
9. Citované literární zdroje.....	67

## Seznam tabulek

Tabulka 1. Normy environmentální kvality pro specifické znečišťující látky pro útvary povrchových vod a hodnoty přípustného znečištění povrchových vod. Zdroj: Nařízení vlády č. 401/2015 Sb., o přípustném znečištění povrchových a odpadních vod.

Tabulka 2. Průměrné koncentrace těžkých kovů v orgánech *S. woodiana*, ve vodě a v sedimentu. Zdroj dat: Povodí Moravy, s.p., Český hydrometeorologický ústav.

Tabulka 3. Průměrné koncentrace těžkých kovů v různých druzích mlžů [mg/kg], srovnání s jinými pracemi.

Tabulka 4. Srovnání průměrné koncentrace těžkých kovů ve vodě s limitními koncentracemi [ $\mu\text{g/l}$ ] z Nařízení vlády č. 401/2015 Sb a zařazení do třídy kvality dle Normy ČSN 75 7221.



## Seznam obrázků

Obrázek 1. Původní geografický výskyt škeblice *S. woodiana*. Zdroj: WWW1, upraveno.

Obrázek 2. Rozšiřování *S. woodiana* během let 1996–2014. Zdroj: Lorencová et al. (2015).

Obrázek 3. Současné lokality výskytu *S. woodiana* v ČR. Zdroj: Beran (2019).

Obrázek 4. *Sinanodonta woodiana* v Hradeckém rybníku u Tovačova.

Obrázek 5. Lokalita odběru 1, řeka Morava u Kroměříže. Zdroj: WWW1, upraveno.

Obrázek 6. Lokalita odběru 2, Hradecký rybník u Tovačova. Zdroj: WWW1, upraveno.

Obrázek 7. Lokalita odběru 3, řeka Kyjovka u Tvrdomic. Zdroj: WWW1, upraveno.

Obrázek 8. Měření velikosti lastury mlže. Zdroj: Aldridge (1999), upraveno.

Obrázek 9. Histologický rozbor orgánů *S. woodiana*.

Obrázek 10. Jednotlivé orgány *S. woodiana* po histologickém rozboru. Zleva: žábry, srdce, noha, hepatopankreas a žaludek, gonády, lastura.

Obrázek 11. Celkové koncentrace těžkých kovů, souhrn všech jedinců, logaritmicke transformované.

Obrázek 12. Průměrné koncentrace těžkých kovů v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 13. Koncentrace niklu v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 14. Koncentrace zinku v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 15. Koncentrace mědi v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 16. Koncentrace kadmia v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 17. Koncentrace chromu v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 18. Koncentrace niklu na jednotlivých lokalitách [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 19. Koncentrace zinku na jednotlivých lokalitách [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 20. Koncentrace mědi na jednotlivých lokalitách [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 21. Průměrné koncentrace těžkých kovů na jednotlivých lokalitách [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 22. Koncentrace niklu v jednotlivých velikostech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 23. Koncentrace zinku v jednotlivých velikostech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 24. Koncentrace mědi v jednotlivých velikostech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 25. Koncentrace kadmia v jednotlivých velikostech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 26. Koncentrace chromu v jednotlivých velikostech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 27. Průměrné koncentrace těžkých kovů u jednotlivých velikostních kategorií [mg/l], souhrn všech jedinců.

Obrázek 28. Dlouhodobé koncentrace těžkých kovů v Moravě u Kroměříže [mg/l].  
Zdroj dat: Povodí Moravy, s. p.

Obrázek 29. Dlouhodobé koncentrace těžkých kovů v Moravě u Tovačova [mg/l].  
Zdroj dat: Povodí Moravy, s. p.

Obrázek 30. Dlouhodobé koncentrace těžkých kovů v Kyjovce [mg/l].  
Zdroj dat: Povodí Moravy, s. p.

Obrázek 31. Dlouhodobé koncentrace těžkých kovů v sedimentech Moravy [mg/kg].  
Zdroj dat: Český hydrometeorologický ústav.

Obrázek 32. Dlouhodobé koncentrace těžkých kovů v sedimentech Kyjovky [mg/kg].  
Zdroj dat: Povodí Moravy, s. p.

## **Poděkování**

Tímto bych ráda mnohokrát poděkovala vedoucímu mé práce doc. RNDr. Martinu Rulíkovi, Ph.D. za obrovskou podporu při studiu, pomoc s řešením problémů, za jeho ochotu a trpělivost. Dále děkuji RNDr. Petru Hekerovi, Ph.D. za pomoc při práci v laboratoři a odborné konzultace. Další dík patří Ing. Karlu Doudovi, Ph.D. za poskytnutí vzorků a RNDr. Aloisi Čelechovskému, Ph.D. za pomoc při jejich zpracování. Dále také Mgr. Martinu Bitomskému za pomoc při statistické analýze. Chci také poděkovat všem vyučujícím z Katedry ekologie a životního prostředí a studijního oboru Hydrobiologie za prohloubení zájmu, inspiraci a mnoho příjemných zážitků při studiu. V neposlední řadě děkuji mým blízkým a rodině, za jejich podporu a pochopení.

## 1. Úvod

Škebllice asijská (*Sinanodonta woodiana*) je nepůvodní druh mlže, který se v České republice rozšiřuje od konce minulého století (Beran 1997). Od ostatních druhů se odlišuje především nadprůměrnou velikostí, tolerancí ke znečištění prostředí nebo rychlou expanzí (Douda et al. 2012). Mlž není chráněn zvláštními předpisy a jeho lokality výskytu jsou sledovány. Vzhledem k těmto a dalším skutečnostem se proto nabízí využití tohoto druhu při ekotoxikologických výzkumech a hodnocení znečištění vod.

Měkkýši (a zvláště mlži) jsou pro studie kvality tekoucích i stojatých vod využíváni hojně již řadu let (Goldberg et al. 1978). Prostřednictvím biomonitoringu se dají změřit látky kumulované v organismech a na základě toho pak lze zhodnotit míru znečištění okolního prostředí. *S. woodiana* je pro použití v biomonitoringu druhem prozatím málo využívaným (Królak & Zdanowski 2001; Liu et al. 2010).

Do skupiny těžkých kovů náleží chemické prvky, které mají v přírodě částečně přirozený a částečně antropogenní původ (Pitter 2009). Stejně je tomu i v tělech živočichů a rostlin – v určité míře jsou některé těžké kovy pro metabolismus důležité až nepostradatelné, ale nad tuto mez mohou být nebezpečné, toxické či dokonce karcinogenní. Jednotlivé těžké kovy mohou mít různé vlastnosti a účinky, projevují se podle aktuálních podmínek a specificky pro daný druh (Pitter 2009). Vzhledem k riziku kontaminace prostředí z průmyslových, dopravních a zemědělských zdrojů je potřeba tyto látky sledovat a kontrolovat jejich množství v prostředí.

Tato diplomová práce se věnuje druhu *S. woodiana* jakožto nepůvodnímu mlži, který je na našem území relativně nový a může představovat hrozbu pro původní a chráněné druhy (Douda et al. 2016). Studuje jeho potenciál pro biomonitoring vodního prostředí a hledá odpovědi na otázku míry kumulace těžkých kovů z okolního prostředí do organismu. Zjišťuje, jestli je prokazatelný rozdíl v kumulaci kovů do jednotlivých orgánů či jaké další faktory mají na bioakumulaci vliv – místo výskytu, velikost organismu nebo okolní znečištění. V neposlední řadě porovnává získané výsledky se závěry jiných autorů ve snaze posoudit, zda je druh *S. woodiana* vhodný pro hodnocení znečištění vod těžkými kovy.

## 1.1 Cíle

Pro tuto diplomovou práci byly vytyčeny následující cíle:

1. Studium kumulace těžkých kovů škeblíci *S. woodiana*, zjištění rozdílů mezi obsahem jednotlivých kovů v organismu
2. Zjištění rozdílů v kumulaci těžkých kovů do jednotlivých orgánů *S. woodiana* a rozložení těžkých kovů v orgánech
3. Zhodnocení míry kumulace mezi lokalitami výskytu (tekoucí a stojatá voda)
4. Zhodnocení míry kumulace v jednotlivých velikostních kategoriích
5. Srovnání množství těžkých kovů v organismu s okolním prostředím (s vodou a sedimentem)
6. Porovnání kumulovaných těžkých kovů ve vodě s limitními koncentracemi stanovenými zákonem
7. Zhodnocení metodiky a posouzení bioakumulačního potenciálu *S. woodiana*

## 2. Škeblice asijská

Škeblice *Sinanodonta woodiana* je druh velkého sladkovodního mlže z čeledi velevrubovití (Unionidae). Původně se vyskytovala ve sladkých vodách východní a jihovýchodní Asie, v povodí řek Amur a Yangtze (Kraszewski 2007). V druhé polovině 20. století se začala šířit do různých koutů světa, přes západ Asie, Evropu, až po Latinskou a Severní Ameriku (Douda et al. 2012). Intenzivně expanduje v Evropě, kde se považuje za invazní (např. Cappelletti et al. 2009; Klenovšek et al. 2012; Douda 2018). Stále se objevují nové lokality výskytu a předpokládá se, že rychlá expanze bude pokračovat. Jedná se o velmi charakteristického mlže, snadno rozpoznatelného od ostatních druhů této čeledi. Má kulatější tvar, s výrazněji vystouplou lasturou, barvy nápadně hnědo-červené, uvnitř lastury jemně narůžovělé. Dosahuje také podstatně větších velikostí než její příbuzné druhy. Lastura měří průměrně 120–200 mm na délku a 90–125 mm na výšku a v našich podmínkách dosahuje maximální velikosti až 250 mm (Beran 2002; Douda et al. 2016). Velikostní rozpětí je široké (Demayo et al. 2012), škeblice se snadno přizpůsobují podmínkám prostředí, což může být jeden z důvodů jejich rychlého rozšiřování (Guarneri et al. 2014). Vyskytuje se v biotopech pomalu tekoucích a stojatých vod, obývá jak oligotrofní, tak eutrofizovaná a znečištěná prostředí (Welter-Schultes 2012). Kromě řek a rybníků ji můžeme najít v tůních, umělých kanálech, kultivačních nádržích pro chov ryb a podobně (Kraszewski 2007). Živí se filtrováním potravy na dně vodních nádrží a toků.

### 2.1 *Sinanodonta woodiana* jakožto invazní druh

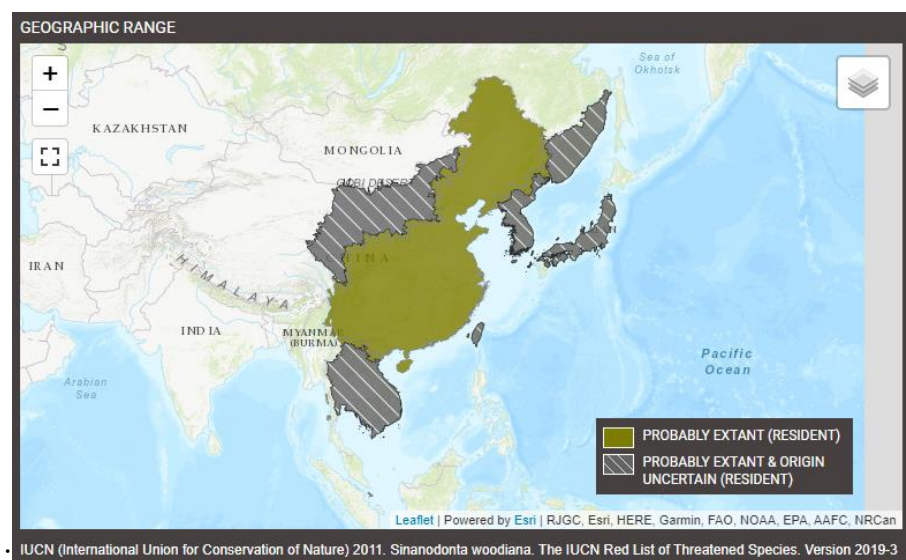
Škeblice asijská se do Evropy začala rozšiřovat spolu s chovnými rybami, nejčastěji s amurem bílým (*Ctenopharyngodon idella*), tolstolobikem bílým (*Hypophthalmichthys molitrix*) a tolstolobcem pestrým (*Hypophthalmichthys nobilis*), jak uvádí např. Beran (2008). Nálezy tohoto druhu v Evropě začaly v 80. letech minulého století. První populace byla nalezena v Rumunsku roku 1979, odkud se *S. woodiana* dále šířila na západ a na sever (Sárkány-Kiss 1986; Beran 2008). V Polsku se první populace objevily kolem roku 1990, nejspíš jako důsledek dovozu chovných ryb z Maďarska (Soroka et al. 2014). V Itálii byla první *S. woodiana* zaznamenána v roce 1996 a od té doby rychle kolonizovala italské řeky i jezera (Manganelli et al. 1998; Cianfanelli et al. 2007; Cappelletti et al. 2009). Do Švédska se dostala po roce 2000 spolu s karpem a karasem

(Welter-Schultes 2012). V Evropě je dnes dále rozšířena například v Rakousku, Belgii, Bulharsku, České republice, Srbsku, Španělsku či Ukrajině (Kraszewski 2007; Cummings 2011) a nové lokality stále přibývají.

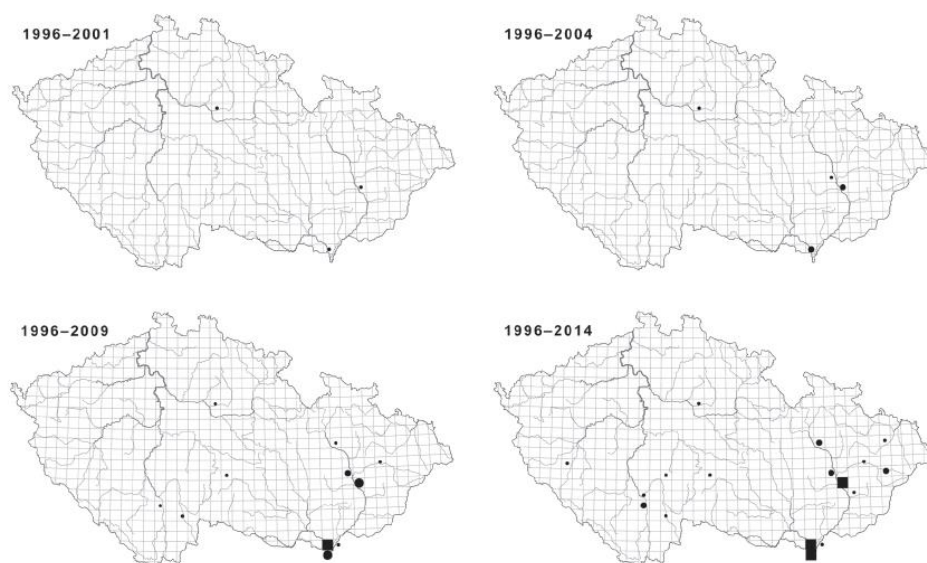
V České republice je *S. woodiana* rozšířena v Čechách i na Moravě. Prvně byla zaznamenána v roce 1996, v mrtvém rameni řeky Dyje poblíž města Břeclav na jižní Moravě (Beran 1997). O pět let později (2001) byli další jedinci nalezeni v Žehuňském rybníku ve východních Čechách (Beran 2002). Třetí potvrzený nález byl roku 2003 v NPP Chropynský rybník v okrese Kroměříž (Novák 2004). Objevování tohoto druhu dále pokračovalo například rybníkem Vilímek u Humpolce, vodní nádrží Hněvkovice v jižních Čechách, řekou Moravou a jejími přítoky (Beran 2008). Nepůvodní druhy obecně osidlují spíše nížiny a velké řeky, v horských oblastech jsou celkově méně rozšířeny (Lorencová et al. 2015). Velké řeky fungují jako biokoridory, kudy se k nám druhy dostávají (Horsák 2018). Významná je například expanze v povodí řeky Dunaj (Kraszewski 2007). Škeblice preferují spíše teplejší vody, než ty chladné, proto jejich expanze může souviset také s globálními změnami teplot (Spyra et al. 2016). Častěji také osidlují prostředí s vyšším množstvím živin (Paunović et al. 2006). V České republice je *S. woodiana* rozšířena v povodí Moravy, Labe i Odry (Obr. 3). V Čechách jsou její nálezy zatím relativně ojedinělé, ale na Moravě (a především jihu Moravy) se druh vyskytuje častěji a populace jsou hojné a stabilní (Beran 2008). V některých lokalitách se již stala dominantním druhem měkkýšů (Kraszewski 2007).

Šíření nepůvodních organismů je jedním z velkých problémů naší přírody. V Česku jsou původní druhy mlžů vzácné a často zákonem chráněné, kdežto nepůvodní druhy se rychleji rozmnožují a šíří, mají nižší nároky na podmínky prostředí, lépe se přizpůsobují. Potravně i prostorově konkurují původním druhům, proto je mohou ze stanoviště vytlačit. V Česku máme 8 nepůvodních druhů měkkýšů, z toho 3 mlže: slávičku mnohotvárnou (*Dreissena polymorpha*), korbikulu asijskou (*Corbicula fluminea*) a zmíněnou *S. woodiana* (Šefrová & Laštůvka 2005; Horsák 2018). Druhy, které se v nepůvodním areálu rychle rozmnožují a způsobují ekonomické či ekosystémové škody, nazýváme invazní. Škeblice asijská může být ohrožením pro středoevropskou faunu z mnoha důvodů: konkuruje jiným druhům v získávání potravy a mění tak trofický systém a snižuje biodiverzitu prostředí, při výskytu ve velkých množstvích zabírá prostor a mění charakter substrátu, filtrací může ovlivňovat množství planktonu ve vodě, a může tak mít vliv na úživnost i průhlednost vody (Lorencová et al. 2015). Nejde ovšem pouze o konkurenci dospělců, ale i jejich larválních stádií –

glochidií. Glochidie škeblice se podobně jako u jiných nepůvodních druhů dostává do nových areálů na kůži ryb, během jejich umělého transportu či přirozené migrace (Douda 2018). Hlavním důvodem antropogenního dovozu ryb je sportovní rybolov, akvaristika, vysazování ryb a jiných vodních živočichů do jezírek (Douda 2018).

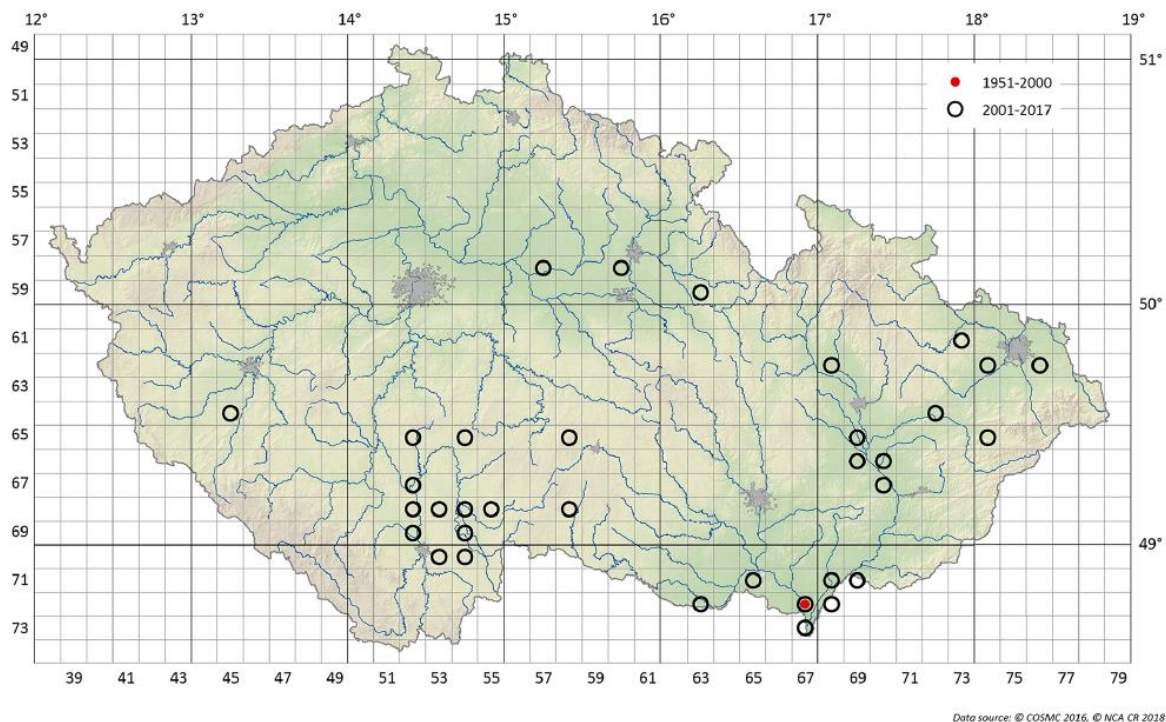


Obrázek 1. Původní geografický výskyt škeblice *S. woodiana*. Zdroj: WWW1, upraveno.



Obrázek 2. Rozšiřování *S. woodiana* během let 1996–2014. Zdroj: Lorencová et al. (2015).





**Obrázek 3.** Současné lokality výskytu *S. woodiana* v ČR. Zdroj: Beran (2019).

## 2.2 Reprodukce a vývoj *S. woodiana*

Životní cyklus škeblice asijské zahrnuje několik životních fází. Larvální fáze, zvaná glochidium, je po dozrání v těle samice vypuštěna volně do vody, kde po setkání se s rybou přisedne na její tkáň (kůži, žábry, ploutve) a infikuje tak svého hostitele (Douda et al. 2012; Douda et al. 2016; Labecka & Domagala 2016). Schopnost larvy přisednout na hostitele závisí na více faktorech, například na imunologické reakci ryb (Douda et al. 2012). Vývoj škeblíc v ektoparazitické fázi trvá 4–20 dní, podle teploty vody a dalších vnějších faktorů (Douda et al. 2012; Douda et al. 2016). Po dokončení metamorfózy larvy odpadnou od těla svého hostitele. Odloučené glochidie začínají juvenilní fázi, ve které žijí maximálně 1 rok (Douda et al. 2016) a poté se mění v dospělé. Jako dospělec žije *S. woodiana* sedentárně (Labecka & Domagala 2016), což znamená, že se vyskytuje na dně substrátu, s malým domovským okrskem, téměř bez možnosti migrace a změny habitatu (Jakrlová & Pelikán 1999). Živiny získává primárně filtrací z vody (Douda et al. 2012). Vzácně se vyskytují hermafrodité, většina škeblíc je však odděleného pohlaví (Douda et al. 2016; Labecka a Domagala 2016). Při rozmnožování samci vypustí spermie volně do vody a ty jsou nasáty samicemi. K oplození a vývoji larev dochází

uvnitř těla samic, v žaberních lupenech zvaných marsupia (Douda et al. 2016). *S. woodiana* je schopna reprodukce v širokém rozpětí environmentálních faktorů, i v areálu, který pro ni není původním areálem výskytu (Douda et al. 2012). Toleruje širokou škálu teplot, živin, přítomných látek, kyslíku. K reprodukční aktivitě může dojít opakovaně několikrát za sezónu. Hlavní období vypouštění glochidií samicemi je během léta (červen až září, Douda et al. 2016). Právě během této doby může dojít k transferu ryby společně s nevídanými mlži. Výzkumy ukazují, že klíčovým faktorem v jejím vývoji a reprodukci je teplota vody (Kraszewski 2007). Při vyšších teplotách probíhá vývoj rychleji (Douda et al. 2016). Dospělci škeblíc *S. woodiana* žijí v rozpětí 2–15 let (Douda et al. 2016).

Glochidie škeblice dokáží ke svému vývoji využít široké spektrum ryb, přes již zmíněné amury a tolstolobiky, až po evropské druhy, jako je například plotice obecná (*Rutilus rutilus*), parma obecná (*Barbus barbus*) či jelec tloušť (*Leuciscus cephalus*), a proto je označujeme jako hostitelské generalisty (Douda et al. 2012; Douda 2018). Zvládnou se vyvíjet na druzích pro ni původních i na těch, se kterými se v místě svého přirozeného výskytu nesetkává. Předpokládá se, že se tento asijský druh zvládne vyvíjet na všech českých druzích ryb (Douda et al. 2016). Mnohdy jsou dokonce larvy mlžů při interakci hostitel–parazit úspěšnější u druhů alochtonních než u druhů autochtonních, se kterými dlouhodobě koexistují (Reichard et al. 2007). Larvální fáze je pro populační dynamiku zcela zásadní. Právě díky tomu, že glochidie *S. woodiana* dokáží ke svému vývoji využívat mnoho druhů ryb, je expanze škeblice asijské natolik úspěšná (Douda et al. 2016).



Obrázek 4. *Sinanodonta woodiana* v Hradeckém rybníku u Tovačova.

### 3. Biomonitoring

Pozorování změn a jevů v přírodě prostřednictvím reakcí živých organismů je častým výzkumným prostředkem již mnoho let. Různé úkazy mohou odkazovat na rozličné příčiny a faktory, a právě na tom je založen princip biomonitoringu. Biologický monitoring je definován jako pozorování a hodnocení stavu ekosystémů, biodiverzity krajiny, populací a druhů organismů (Bondaruk et al. 2015). Encyklopedie Britannica jej definuje jako měření chemických látek nebo metabolitů v biologických vzorcích, tedy pomocí živočichů a rostlin (WWW2). Živé organismy, jejichž výskyt svědčí o přítomnosti některého faktoru na stanovišti, nazýváme bioindikátory (Jakrllová & Pelikán 1999). Bioindikace je jedna z nejčastějších forem biomonitoringu, je také významná pro hodnocení kvality prostředí. Bioindikační organismy se vyskytují nebo absentují na určitém místě v závislosti na sledovaném faktoru. Jev, kdy jsou organismy schopny shromažďovat (kumulovat) chemické látky z okolního prostředí do svých těl, nazýváme bioakumulací. Druhům, které slouží jako ukazatelé toxického znečištění, se jinak také říká sentinelové organismy. Jsou to druhy, které akumulují polutanty ve svých orgánech bez zjevného poškození (Beeby 2001) a jsou vhodné i pro zjišťování malých koncentrací polutantů. Ke kumulaci látek dochází na úrovni buněk, orgánů i celých těl (Markert et al. 2003). Projevy mohou být mikroskopické a nezřetelné nebo patrné na první pohled. Organismy dostávají chemické látky do svých těl při dýchání a příjmu potravy a poté látky prochází jejich metabolismem a potravním řetězcem. Pro biomonitoring jsou významné i sedimenty, kam se látky často nejdříve usazují a potom jsou zpětně uvolněny a navázány do organismů. Takovéto sedimenty pak mohou být velkým zdrojem cizorodých látek (Zarull et al. 1999). V rámci potravního řetězce je důležitá i biomagnifikace – nárůst koncentrace toxických látek v jedné úrovni (kořist) vede k ještě většímu vzrůstu koncentrace v další úrovni potravního řetězce (predátor) kvůli nahromadění těchto látek v potravě, a nejvyšší koncentrace jsou proto v tělech vrcholových predátorů (Jakrllová & Pelikán 1999; Newman & Unger 2003). Monitoringem můžeme odhalit změny okamžité i dlouhodobé. Pozorování chemických látek v organismech je dobrý prostředek pro pochopení fungování ekologických systémů. Biomonitoring poskytuje zhodnocení kontaminace prostředí i v případech, kdy klasické metody monitoringu nedokážou zachytit nízké hodnoty (Richman & Somers 2005).

Rozlišujeme biomonitoring aktivní a pasivní (Markert et al. 2003). Aktivní znamená, že zkoumané organismy umístíme do konkrétního prostředí, za jasně definovaných podmínek, na určitou dobu, a sledujeme, jak daný faktor na organismus působí. Pasivní biomonitoring označuje pozorování organismů v jejich běžném stanovišti a zaznamenávání jejich reakcí v přirozeném místě výskytu (Markert et al. 2003). Chemické látky v prostředí mohou být buďto přirozené, nebo antropogenního původu, tedy způsobené člověkem. Obecně můžeme říct, že antropogenní zdroje chemikálií převyšují ty přírodní (Liu et al. 2005; Rodríguez et al. 2008). Hlavními zdroji toxických nepřírodních látek jsou především průmysl a zemědělství (Markert et al. 2003). Některé látky jsou snadno odbouratelné, jiné perzistentní, s dlouhodobým výskytem v přírodě. Některé látky mají větší tendenci hromadit se v tělech živých organismů. Stejně tak určité organismy kumulují určité látky lépe než jiné. Schopnost bioakumulace se dá vyjádřit pomocí biokoncentračního (bioakumulačního) koeficientu (BCF), což je poměr mezi koncentrací látky v organismu a koncentrací látky v prostředí (třeba ve vodě) za rovnovážných podmínek (Pitter 2009). Obvykle se vyjadřuje v jednotkách mg/kg a mg/l. Závisí na mnoha dalších faktorech a podmínkách prostředí. Prostřednictvím biomonitoringu nezjistíme pouze obsah určitých látek v tělech živočichů a rostlin, ale také jejich kontaminaci, míru stresu či znečištění okolního prostředí (Kraak 1991; Markert et al. 2003).

Bioakumulace je dynamický proces, její rychlost závisí na mnoha faktorech. Například formě a dostupnosti dané látky v prostředí, fyzikálních podmínkách vody (teplota, salinita), velikosti a stáří jedince, sezóně, pozici jedince ve vodním sloupci, způsobu příjmu potravy a postavení v potravním řetězci, biochemických a metabolických možnostech vyloučení toxických látek, genetických předpokladech a tak dále (Borchardt et al. 1988). Velikost jedince je jeden z nejdůležitějších faktorů pro bioakumulaci chemických látek a jejich odbourávání (Zhong et al. 2013). Mezi další faktory se ve vodním prostředí řadí také proudění vody, které zapříčiňuje nerovnoměrné rozložení chemických látek ve vodě (Borchardt et al. 1988). V prostředí tekoucích vod je tento vliv mnohem významnější než ve stojatých vodách. Velmi také záleží na chemických vlastnostech cizorodých látek, jejich biodostupnosti, kumulaci v tkáních, remobilizaci. Pouhá koncentrace toxických látek v orgánech nemusí ještě vypovídat o toxicitě dané látky, záleží také na regulacích a prostředcích, které organismy využijí k detoxikaci (Cain et al. 2004). V různých ročních obdobích může být naměřeno odlišné množství chemických látek (Wiesner et al. 2001). Maximum koncentrací těžkých kovů

bylo zjištěno v zimě a minimum v létě a na podzim (Borchardt et al. 1988). Signifikantní rozdíly v obsahu těžkých kovů byly také zjištěny například v mlžích různých velikostí, ale stejně tak i v různých tkáních v rámci jednoho organismu (Gundacker 1999; Wiesner et al. 2001). Ukázalo se, že těžké kovy mají větší tendenci se kumulovat v měkkých tkáních, u slávičky mnohotvárné (*Dreissena polymorpha*) převážně v bysových vláknech (Gundacker 1999). Některé chemické látky jsou esenciální, běžně se vyskytují v tělech organismů, a často jsou pro biochemické procesy nezbytné. Například měď a zinek jsou součástí těl mlžů, a i přesto mohou jakožto těžké kovy ve zvýšených koncentracích organismy poškodit (Eisler 1993; Eisler 1997). Schopnost shromažďovat látky z prostředí a kumulovat je ve svých tělech je nejen druhově specifická, ale může se lišit i u konkrétních jedinců ve stejném prostředí (Lobel et al. 1982). Pro pochopení toxického znečištění v životním prostředí musíme sledovat nejen samotnou míru koncentrace dané látky, ale i vedlejší faktory, které biodostupnost látky významně ovlivňují.

### **3.1 Mlži jako bioakumulační organismy**

Kumulace chemických látek v organismech se studuje u mnoha druhů živočichů i rostlin. Výzkum přítomnosti těžkých kovů a dalších látek již probíhal u mechů, řas, vyšších rostlin, bezobratlých i obratlovců, a některé organismy byly pro monitoring více vhodné, jiné méně (Markert et al. 2003). Skupina měkkýšů je početná a druhově bohatá a také je často využívána pro výzkum bioakumulačních schopností. Mlži mívají důležitou roli v ekosystému, jsou globálně rozšířeni a relativně dobře prozkoumáni, význam mají i v potravním řetězci či koloběhu prvků v přírodě (Oehlmann & Schulte-Oehlmann 2003; Królak & Zdanowski 2007). Pro ekotoxikologii (věda studující jedovaté látky v prostředí, zvláštní odvětví ekologie a toxikologie – Jakrlová & Pelikán 1999) jsou to také významné druhy. Potravu získávají filtrací velkého množství vody přímo z vodního sloupce, čímž do svého metabolismu dostanou mnoho látek a živin z okolí, a i z tohoto důvodu jsou vhodnými bioindikátory (Richman & Somers 2005). Používají se jak při aktivním, tak i pasivním biomonitoringu (Markert et al. 1999; Oehlmann & Schulte-Oehlmann 2003).

Řádný sentinelový organismus by měl splňovat tyto podmínky: přímý vztah mezi koncentrací polutantu v těle a v prostředí, početné populace, větší velikost, delší životnost, lehká determinace, dobrá znalost druhu a fyziologie (Beeby 2001).

Sladkovodní i mořští mlži splňují požadavky kladené na vhodné bioakumulační organismy. Mají relativně dlouhou životnost, jsou sedentární, snadno se sbírají, mají široký areál rozšíření (Goldberg et al. 1978; Kraak et al. 1991). Mnoho predátorů využívá mlže jako svou potravu, proto v případě zvýšeného znečištění toxickými látkami mlžů může dojít ke kumulaci jedovatých látek v potravním řetězci (Kraak et al. 1991). Z těchto důvodů jsou mlži (a měkkýši obecně) vhodné organismy pro indikaci znečištění vodního prostředí (Goldberg et al. 1978). Kromě těžkých kovů jsou mlži kontinuálně zkoumáni také na přítomnost halogenderivátů, chlorovaných uhlovodíků, radionuklidů, PAHs a POPs, pesticidů jako DDT a dalších toxických látek (Goldberg et al. 1978; Chau 2005; Bian et al. 2009). Bioakumulační výzkum těžkých kovů již probíhá na různých druzích měkkýšů, ze sladkovodních mlžů je to např. rod škeble (*Anodonta sp.*), velevrub (*Unio sp.*) či hojně využívaná invazní slávička mnohotvárná (*Dreissena polymorpha*) a mnoho dalších (Kraak 1991; Jamil et al. 1999; Pourang et al. 2010).

Pro náš výzkum byl asijský druh mlže *S. woodiana* vybrán z více důvodů, praktických i teoretických:

- globální rozšíření *S. woodiana* a aktuální expanze v ČR
- znalost a dostupnost lokalit
- snadná determinace druhu
- velikost – vhodné pro rozčlenění na jednotlivé orgány, jednodušší pro analýzu
- jednoduchá fyziologie a histologie, jednoduché orgánové soustavy (Oehlmann & Schulte-Oehlmann 2003)
- méně mechanismů vyloučení toxických látek oproti složitějším organismům, limitovanější detoxikace
- kvůli absenci exoskeletu větší kontakt tkání s okolní vodou (Oehlmann & Schulte-Oehlmann 2003), přímé vstřebání cizorodých látek do tělesných orgánů
- filtrátor, přefiltrování velkého množství vody a kontakt s cizorodými látkami
- tolerance vyššího znečištění vody u *S. woodiana* oproti jiným druhům mlžů v ČR
- možnost porovnání různých prostředí (výskyt v tekoucích i stojatých vodách)
- invazní druh, nejde o zranitelný druh, nevztahuje se na něj zákon č. 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny

Druh *S. woodiana* není pro biomonitoring využíván tak často jako jiné druhy mlžů (např. jako zmíněná *D. polymorpha*). Ekotoxikologické výzkumy tohoto druhu nejsou nijak početné ani obsáhlé. Ovšem v posledních letech bylo publikováno několik studií, které popisují bioakumulaci stopových prvků, těžkých kovů, pesticidů nebo cizorodých organických látek škeblicí asijskou (Królak & Zdanowski 2001; Królak & Zdanowski 2007; Yang et al. 2008; Liu et al. 2010; Qu et al. 2016). Právě její nadprůměrné rozměry mohou být pro výzkum kumulovaných látek stěžejní, jelikož velikost organismu je rozhodující faktor pro biodostupnost a bioakumulaci (Zhong et al. 2013). *S. woodiana* se jeví jako vhodný organismus pro biomonitoring z výše uvedených důvodů, ale začala se využívat až v nedávné době, právě kvůli současnému šíření na nové lokality. Co se týče těžkých kovů ve škeblici asijské, ukázala se jako efektivní pro sledování kumulace např. manganu a kadmia i v extrémních koncentracích (Liu et al. 2010). Při srovnání s jiným druhem sladkovodního mlže (*D. polymorpha*) se rovněž ukázalo, že *S. woodiana* je schopna kumulovat vyšší koncentrace těžkých kovů, a to z důvodu její delší životnosti (Królak & Zdanowski 2001). Výzkum bioakumulace těžkých kovů ve škeblici asijské je ale zatím v začátcích.

## 4. Těžké kovy

Chemické látky se ve vodním prostředí vyskytují v mnoha formách. Látky organické a anorganické mohou být ve vodě rozpuštěné či nerozpuštěné, nebo vázané na jiné částice, a jednotlivé prvky se pak mohou vyskytovat jako kationty, anionty či neelektrolyty (Pitter 2009). Chemické složení vod se může lišit v závislosti na zdrojích původu, proto ve vodách atmosférických, minerálních a mořských bude odlišné množství a jiný druh anorganických látek (Tölgyessy 1989). Jedna z nejvýznamnějších skupin polutantů ve vodě jsou kovy a polokovy. Kovy a jejich sloučeniny tvoří přirozenou součást životního prostředí, jsou součástí zemské kůry a uvolňují se například při vulkanických a půdotvorných procesech. Přítomnost kovů v přírodě je ovšem výrazně zvyšována lidskou činností. Do půdy, vody a ovzduší se dostávají jako vedlejší produkty z průmyslového provozu, těžby, dopravy či zemědělství – konkrétně prostřednictvím odpadních vod, zpracováním rud, z hutí, povrchových úprav kovů nebo textilního a kožedělného průmyslu (Newman & Unger 2003; Pitter 2009). Forma výskytu záleží na různých faktorech, například na teplotě, pH, oxidačně-redukčním potenciálu nebo přítomnosti ostatních látek (Pitter 2009). Ve směsích kovů může docházet k tomu, že se jejich účinky mohou zesilovat (synergismus) nebo zeslabovat (antagonismus) podle přítomnosti jednotlivých složek (Pitter 2009). To pak může mít zásadní vliv na toxicitu a zdravotní závadnost těchto látek.

Kovy ve vodě mají význam v geochemických cyklech, potravním řetězci, při znečištění terestrického i vodního prostředí. Kovové látky mohou být dále řazeny do skupin toxických, těžkých nebo esenciálních kovů. Těžké kovy jsou takové, které mají objemovou hmotnost větší než  $5000 \text{ kg/m}^3$  a jejich soli se srážejí sulfidem sodným za vzniku málo rozpustných sulfidů (Pitter 2009). Často mívají toxické účinky a některé jsou karcinogenní (Newman & Unger 2003). Dále mohou být teratogenní, toxické pro vodní prostředí, ovlivňující organoleptické vlastnosti vody (Pitter 2009). Jejich ionty jsou schopny navázat se na buněčné membrány a tím zastavit transport přes buněčnou stěnu (Manahan 2010). Ovšem ne vždy jsou těžké kovy nebezpečné pro živé organismy. Některé z nich jsou esenciální, běžné se vyskytují v tělech zvířat a rostlin a často bývají nezbytné pro fungování jejich biologických funkcí (Newman & Unger 2003; Pitter 2009). I tyto esenciální kovy však mohou být toxické při vyšších koncentracích. Kovy neesenciální se nedají snadno metabolicky vyloučit a způsobují otravu rychleji než esenciální (Kraak et al. 1994). Mezi esenciální kovy patří například vápník, hořčík,



draslík, zinek nebo nikl. Do skupiny těžkých kovů se pak řadí zinek, nikl, měď, olovo, kadmium, chrom. Efekt působení kovů na organismy nezáleží jen na koncentraci, ale i na délce a opakování expozice (Kraak et al. 1994). Vodní organismy mají vysokou schopnost kumulovat kovy z okolní vody a při dlouhodobém vystavení polutantům mohou vykazovat fyziologické poškození.

V akvatických systémech se mohou kovy hromadit v sedimentech a plaveninách, volně ve vodě, ale také v orgánech vodních organismů (Pitter 2009). Ve volné vodě mohou být kovy přítomny ve formě iontů nebo jako komplexy s organickými nebo anorganickými ligandy (Pitter 2009). V tělech organismů se mohou vyskytovat například jako aminokyseliny a aminokomplexy, které jsou součástí důležitých biologických enzymů (Pitter 2009). Zadržování kovů v sedimentech popisuje distribuční koeficient ( $K_D$ ), což je poměrné zastoupení kovu v sedimentu a ve vodě (Pitter 2009). Organokovové látky jsou ty, ve kterých je atom kovu vázán kovalentní vazbou s organickou složkou (Newman & Unger 2003). Často se kumulují v tělech organismů. Lépe se vážou na lipidy, jednodušeji prochází membránami, mohou být snadněji kumulovány v tukové tkáni, a tím se zvyšuje jejich schopnost bioakumulace a toxicita (Newman & Unger 2003). Kontaminací jsou více ohroženy druhy bentické než pelagické, kvůli vyšší hustotě těžkých kovů a sorpci na částicích mají totiž polutanty tendenci usazovat se na dně a v sedimentech (Ciftci et al. 2011). Některé kovy mají schopnost biomagnifikace, jejich koncentrace se zvyšuje v rámci potravního řetězce od nižších po vyšší trofické úrovně, jelikož se hromadí v potravě (Newman & Unger 2003). V životním prostředí mají těžké kovy velký význam, a to hlavně ty antropogenního původu. V pitné i povrchové vodě jsou stanoveny hygienické mezní hodnoty kovových prvků a pravidelně se sledují jejich koncentrace v povrchové i podzemní vodě, v sedimentech i v tělech živočichů a rostlin. Normy environmentální kvality znečišťujících látek pro povrchové vody byly stanoveny nařízením vlády č. 401/2015 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „nařízení vlády č. 401/2015 Sb., o přípustném znečištění povrchových a odpadních vod“). Normy vybraných těžkých kovů jsou uvedeny v Tabulce 1.

Skupina těžkých kovů je velmi početná. V přírodě jsou významné především ty kovy, které mají toxické vlastnosti nebo jsou důležité pro správnou funkci organismu. Pro tuto práci byla zvolena šestice těžkých kovů, jimiž se výzkum zabývá, a to z důvodu

jejich možné detekce použitou laboratorní technikou a kvůli srovnání s pracemi, které se zabývaly právě těmito prvky. Pro tuto práci byly vybrány tyto těžké kovy: nikl, zinek, měď, olovo, kadmium a chrom.

#### **4.1 Nikl**

Nikl je bílý, kujný a tažný kov. Je součástí mnohých slitin a slouží i jako katalyzátor či antikorozi prostředek kvůli své dobré chemické stálosti. Přírozeně se vyskytuje v minerálech (například v nikelinu, v některých hlinitokřemičitanech) a ve vodě hlavně jako jednoduchý iont  $\text{Ni}^{2+}$  nebo ve formě hydrokomplexů (Pitter 2009). Nikl je jeden z nejčastějších prvků vyskytujících se v biosféře (Chau & Kulikovskyy-Cordeiro 1995). Antropogenně je využíván ve sklářském, keramickém, metalurgickém a chemickém průmyslu (Pitter 2009). Do přírodních vod se dostává především prostřednictvím odpadních vod z povrchových úpraven kovů (Tölgyessy 1989). Pro člověka není nikl toxický, může ale působit jako kontaktní alergen a potenciální karcinogen, a to i pro člověka (Pitter 2009). Pro některé živočichy a rostliny je esenciální, pomáhá udržovat normální růst (Eisler 1998). Je perzistentní v terestriálním i akvatickém prostředí a dobře se kumuluje (Chau & Kulikovskyy-Cordeiro 1995; Eisler 1998). Orální příjem niklu je méně nebezpečné než vdechnutí jeho prachu, to pak může způsobit akutní zápal plic, poruchu nervového systému, či dokonce rakovinu plic a nosní dutiny (Eisler 1998). Vodní organismy mohou vykazovat zvýšené množství niklu v orgánech, jestliže jsou vystaveny jeho umělým zdrojům. Různé druhy mohou přijímat odlišné množství niklu (například u myši byla zjištěna vyšší kumulace niklu než u jiných hlodavců — Chau & Kulikovskyy-Cordeiro 1995), a to podle druhu tkání, stáří organismu, schopnosti odbourávat kovy a dalších faktorů (Eisler 1998). Mezní přípustné hodnoty v pitné či povrchové vodě jsou nízké, ale nepatří k těm nejnižším (viz Tab. 1).

#### **4.2 Zinek**

Zinek je lehce tavitelný kov modrobílé lesklé barvy. Patří mezi esenciální prvky, je součástí některých enzymů a je důležitý pro biologické a biochemické funkce v tělech organismů (Pitter 2009). Ve vodách je zinek málo závadný pro člověka, pro ryby a vodní organismy je ovšem toxický (Pitter 2009). V životním prostředí je běžnou součástí hornin v podobě zinkových rud. Průmyslově vzniká při výrobě slitin,

galvanizaci, spalování fosilních paliv. V zemědělství se používá jako fungicid a přidává se i do půdy, aby zde nedocházelo k jeho deficitu (Eisler 1993). Ve vodě se vyskytuje především ve formách jednoduchých iontů  $Zn^{2+}$ , hydrokomplexů a kyanokomplexů a zdrojem jsou především průmyslové odpadní vody, splach hnojiv do vody, čistírenské kaly (Pitter 2009; Manahan 2010). Nejčastěji je zinek ve vodě uložen v sedimentech a jeho uvolnění záleží na pH, salinitě, množství rozpuštěného kyslíku a dalších faktorech (Eisler 1993). Zinek vykazuje synergické působení ve směsích s kadmíem a niklem, takže se jednotlivé složky projevují ještě toxicitěji (Pitter 2009). U ryb se kumuluje ve tkáních žaber (Eisler 1993). Zinek hraje podstatnou roli v metabolismu, když interaguje s mnohými látkami, a někdy to pro organismus bývá přínosné, jindy škodlivé (Eisler 1993). Nedostatek zinku může na jednu stranu způsobit chromozomální odchylky a zpomalený růst, přebytek zinku zase na druhou stranu například teratogenní účinky na žáby a ryby (Eisler 1993). Měkkýši patří mezi druhy citlivé na množství zinku ve vodě (Eisler 1993). Obecně jsou esenciální látky v organismech přítomny ve vyšších koncentracích než neesenciální (Kraak et al. 1994). V ekotoxikologii zinku jsou významné metalothioneiny, nízkomolekulární látky ovlivňující detoxikaci (Eisler 1993). Zinek je méně toxický než ostatní těžké kovy (Newman & Unger 2003). Z trojice zinek—kadmium—měď vyšel jako nejméně toxický, a to až čtyřikrát méně než měď (Ahsanullah et al. 1988). Toxicita však značně závisí na minerálním složení vod (Pitter 2009). Pro zachování metabolické rovnováhy zinku je důležité v potravě přijímat dostatek zinku, ale ne nadbytek (Eisler 1993). Hygienický obsah zinku v povrchových a pitných vodách se sleduje, normy ale nejsou tak přísné v porovnání s jinými těžkými kovy (Tab. 1).

### 4.3 Měď

Měď je ušlechtilý kov červeno-zlaté barvy. Přirozeně se vyskytuje hlavně ve formě sulfidů, ve vodě pak jako organické komplexy s aminokyselinami a huminovými látkami (Tölgyessy 1989). Antropogenním zdrojem mědi v prostředí je opět povrchové zpracování kovů, dále elektronický průmysl, měď je obsažena i v alcigidních a fungicidních přípravcích či některých hnojivech (Nor 1987; Pitter 2009). Je esenciální, v malých koncentracích se běžně vyskytuje v živých organismech (Amiard et al. 1987). Měď není toxická pro lidský organismus, ale v pitných vodách může zhoršovat organoleptické vlastnosti a pro vodní organismy může být velmi nebezpečná.

Sloučeniny mědi jsou toxické pro ryby, sinice a řasy (Tölgyessy 1989) a síran měďnatý se používá jako algicid pro potlačení růstu a vývoje řas, bakterií a hub (Newman & Unger 2003; Pitter 2009). Některé druhy mají vyšší toleranci na přítomnost mědi, jiné jsou citlivější. Vodní řasy například vykazují symptomy otrav mědí při nižších koncentracích než makrofyta (Nor 1987). V zooplanktonu bylo naměřeno více kumulované mědi než ve fytoplanktonu na stejném biotopu (Vinot & Pihan 2005). Při srovnání běžných druhů různých skupin ve vodní nádrži měl nejvyšší bioakumulační faktor mlž *Dreissena polymorpha* (Vinot & Pihan 2005). Mlži obecně projevují velkou schopnost kumulovat měď už při nízkých koncentracích (Nor 1987). Z jednotlivých orgánů u cejna *Abramis brama* bylo nejvíce mědi zjištěno v játrech, a to několikanásobně více oproti třeba svalovině (Vinot & Pihan 2005). Z trojice měď—zinek—kadmium se ukázala měď jako nejvíce toxická, oproti zinku dokonce čtyřikrát více (Ahsanullah et al. 1988). Měď působí synergicky ve směsi se rtutí, čímž se zesiluje toxicita obou látek (Pitter 2009). Mechanismus příjmu mědi do organismu závisí také na velikosti těla jedince, při zvyšující se velikosti se snižuje koncentrace mědi ve tkáních (Zhong et al. 2013). Esenciální měď se v organismu detoxikuje lépe než jiné neesenciální těžké kovy, například kadmium (Kraak et al. 1992). Ve formě iontů je měď pro vodní organismy více toxická, při zvyšujícím se pH toxicita roste, a snižuje se naopak přítomností rozpuštěného uhlíku ve vodě (Nor 1987; Meador 1991; Vinot & Pihan 2005). Při aplikaci sloučenin mědi do vody ovšem nelze dlouho udržet rozpuštěnou formu. Snadno se sráží, tvoří komplexy a akumuluje se v sedimentech (Newman & Unger 2003; Pitter 2009). Předpokládá se, že některé druhy jsou schopny rozpoznat měď ve vodě pomocí svých chemoreceptorů (Kraak et al. 1992). Mezní limity výskytu mědi ve vodě jsou z důvodu toxicity pro vodní prostředí nižší pro povrchové vody než pro ty pitné (Pitter 2009). Norma přípustného znečištění povrchových vod je uvedena v Tabulce 1.

#### 4.4 Olovo

Olovo je šedý těžký kov se silnými toxickými účinky. Ve vodě se hromadí v plaveninách, sedimentech, kalech a v biomase vodních organismů (Pitter 2009). V přírodních vodách se vyskytuje rozpuštěné nebo v komplexech (Tölgyessy 1989), má vysoký akumulační koeficient (Pitter 2009). Tento kov je obsažen v bateriích, barvivech či akumulátorech (Newman & Unger 2003). Dříve se olovo používalo také na výrobu

potrubí pro rozvod vody a bývalo obsaženo i v benzínu, dnes už se obojí vyrábí „lead free“ — bezolovnaté (Newman & Unger 2003; Tölgyessy 1989). Olovo je ve vodě zkoumáno méně než třeba zinek nebo měď (Bleeker et al. 1992). Primárně je transportováno ovzduším a do vodního prostředí se dostává prostřednictvím atmosférických vod (Newman & Unger 2003; Pitter 2009). Do podzemních vod se dostává při kontaktu těchto vod s olověnými rudami (Pitter 2009). Je toxické již při nízkých koncentracích a jelikož to není esenciální prvek, nedá se z organismu snadno odbourat (Bleeker et al. 1992; Kraak et al. 1994). Jeho přítomnost v organismu závisí čistě na koncentraci v prostředí (Amiard et al. 1987). U lidí způsobuje chronické otravy, selhání ledvin a jater, poškození nervového a reprodukčního systému (Manahan 2010). Olovo je schopno tvořit methylderiváty a inhibovat některé enzymy, způsobit zastavení tvorby hemoglobinu a červených krvinek (Pitter 2009). Jedná se také o potenciální karcinogen (Pitter 2009). Olověné broky a závaží používané při lovu a rybářství způsobují přímé i nepřímé otravy vodních ptáků a jiných živočichů a také zvyšují množství olova v prostředí (Newman & Unger 2003). Pro svou toxicitu je olovo ve vodním prostředí považováno za velmi nebezpečné i v malých dávkách a jsou pro něj stanoveny přísné hygienické limity (Tab. 1).

#### **4.5 Kadmium**

Kadmium je lehce tavitelný kovový prvek stříbřitě lesklé barvy. Jedná se o silně toxický kov, který se dobře kumuluje v orgánech i v sedimentech (Tölgyessy 1989). Považuje se také za karcinogen a teratogen (Newman & Unger 2003; Pitter 2009). Je nesnadno odbouratelný, po vniknutí do organismu v něm zůstává velmi dlouho i v porovnání s jinými těžkými kovy (Bias & Karbe 1985). Neesenciální kadmium je v organismech hromaděno při všech koncentracích, v jakých se v prostředí vyskytuje (Kraak et al. 1992). V nízkých koncentracích se přirozeně vyskytuje v půdách a horninách a uvolňuje se při těžbě zinkových rud, se kterými má podobné chemické vlastnosti a vyskytuje se ve stejných formách (Newman & Unger 2003). Z organických složek tvoří významné sloučeniny huminové látky (Tölgyessy 1989). Hlavními zdroji kadmia v prostředí jsou průmyslové odpadní vody, polygrafický a elektrotechnický průmysl, barviva, fosforečnanová hnojiva, atmosférické depozice (Tölgyessy 1989; Newman & Unger 2003; Pitter 2009). Zvýšené množství kadmia může být přítomno v estuáriích a mořských vodách, a mořské plody proto mohou být zdrojem kadmia v lidské potravě

(Eisler et al. 1972). Kadmium je také součástí tabákových výrobků (Newman & Unger 2003). V živých tkáních se ukládá v kůře nadledvinek a způsobuje například odvápnění kostí, poškození varlat, destrukci červených krvinek (Pitter 2009; Manahan 2010). V biologických enzimech může nahradit zinek a způsobit chronickou otravu (Manahan 2010). Ve slávičce *D. polymorpha* bylo nejvyšší množství kadmia zjištěno v byssových vláknech, poté v lastuře, nejméně v tělní tekutině (Bias & Karbe 1985). V lastuře byl rozdíl mezi kumulací kadmia v periostraku a vápenaté vrstvě – periostrakum kumulovalo více kadmia (Bias & Karbe 1985). Ve vodě se často vyskytuje společně se zinkem, avšak kadmium bývá přítomno v podstatně nižších koncentracích (Tölgyessy 1989; Pitter 2009) a jeho přítomnost je alarmující. Škodlivé projevy na zooplankton a ryby byly zjištěny již při malém množství a největší poškození bylo pozorováno u lososovitých ryb (Pitter 2009). Kadmium také působí synergicky – zesiluje toxické účinky jiných kovů, například zinku a mědi (Pitter 2009). Environmentální normy kadmia v pitných a povrchových vodách patří k těm nejpřísnějším (Tab. 1).

#### 4.6 Chrom

Chrom je tvrdý a zároveň křehký kov bílé barvy. V přírodě se vyskytuje jako minerál chromit nebo krokoit a v minerálech obsahujících hliník (Pitter 2009). Hlavním antropogenním zdrojem v prostředí je povrchová úprava kovů, kožedělný a textilní průmysl (Tölgyessy 1989). Chromit je nejvýznamnější ruda chromu, používá se například na výrobu nerezové oceli, chromování kovů, v barvivech a pro výrobu širokého spektra chemikálií (Eisler 1986). Do ovzduší se dostává také při spalování uhlí a komunálního odpadu, z chladicích věží; do vodního prostředí pak především z textilního a koželužského průmyslu a během galvanického pokovování (Towill et al. 1978). Atmosférické emise přispívají několikrát více chromu do akvatických ekosystémů než tekutý odpad z výroby (Eisler 1986). Chrom patří mezi esenciální prvky, jeho funkce v organismu jsou například syntéza nukleových kyselin, regulace glukózy v krvi či metabolismus tuků a bílkovin (Pitter 2009; Ciftci et al. 2011). Ve vyšších koncentracích je ovšem toxický. Jeho toxicita záleží na oxidačním stupni. Toxické formy, které se mohou vyskytovat ve vodě, mají oxidační stupeň III nebo VI a právě sloučeniny  $\text{Cr}^{\text{VI}}$  jsou nejvíce toxické a působí i karcinogenními a genotoxickými účinky (Tölgyessy 1989; Newman & Unger 2003; Pitter 2009).  $\text{Cr}^{\text{III}}$  má zase poměrně velkou komplexační schopnost, váže se na nerozpustné látky, a proto

je značná část chromu v přírodních vodách vázána v sedimentech a v nerozpuštěných látkách (Pitter 2009). U lidí, kteří pracují v závodech na zpracování chromu, byl prokázán vyšší výskyt rakoviny plic a respiračních onemocnění při dlouhodobém působení (Eisler 1986; Towill et al. 1978). Samotná přítomnost trojmocného chromu v pracovním prostředí není ještě nebezpečná, ovšem expozice prachu a párám může být příčinou mnoha vážných nemocí – kromě onemocnění plic taky kůže, nosní přepážky, jater a ledvin (Towill et al. 1978). U vodních živočichů způsobuje zvýšená koncentrace chromu inhibici enzymatické aktivity, histopatologické změny, dokonce až vyšší mortalitu (Ciftci et al. 2011). Při výzkumu působení na jednotlivé orgány u kraba *Callinectes sapidus* se chrom kumuloval nejvíce do žáber, pak hepatopankreatu a méně do svaloviny (Ciftci et al. 2011). Zbytky ze závodů na zpracování chromu mohou způsobit znečištění podzemních vod; únik chromu do povrchových vod může vyvolat kontaminaci vodních ekosystémů a otravy živých organismů (Eisler 1986). Chrom ve vodě ovlivňuje také sensorické vlastnosti vody, tedy chuť a barvu (Tölgyessy 1989; Pitter 2009). Při běžných rozborech vod se chrom obvykle nestanovuje, ale mezní hodnoty v pitné vodě jsou nízké (Pitter 2009).

Tabulka 1. Normy environmentální kvality pro specifické znečišťující látky pro útvary povrchových vod a hodnoty přípustného znečištění povrchových vod. Zdroj: Nařízení vlády č. 401/2015 Sb., o přípustném znečištění povrchových a odpadních vod.

<b>prvek</b>	<b>limitní koncentrace [µg l<sup>-1</sup>]</b>
zinek	92
nikl a jeho sloučeniny – rozpuštěné	34
měď	14
olovo a jeho sloučeniny – rozpuštěné	14
kadmium a jeho sloučeniny – rozpuštěné	0,45–1,5 (v závislosti na tvrdosti vody)
chrom	18

## 5. Metody

Škeblice asijská (*Sinanodonta woodiana*) byla jako modelový organismus zvolena především z důvodu její snadné determinace a relativně hojného výskytu v české přírodě, dále pro její velikost, která je v porovnání s ostatními mlži nadprůměrná. Druh *S. woodiana* má lasturu průměrné délky 120–200 mm a výšky 90–125 mm, v našich podmínkách dosahuje maximální velikosti až 250 mm (Beran 2002; Douda et al. 2016). Dalším důvodem výběru je fakt, že tento druh je nepůvodní, není chráněn zákonem a nevztahuje se na něj § 48 zákona č. 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny, jelikož není uveden v přílohách vyhlášky č. 395/1992 Sb., kterou se provádí zákon o ochraně přírody a krajiny.

Lokality odběru jedinců byly vybrány na základě potvrzeného výskytu tohoto druhu a období odběru kvůli snadnému přístupu k cílovým organismům, které žijí v sedimentu (vypuštění jezové zdrže, výlov a vypuštění rybníka, snížené stavy vody). Prvotním záměrem bylo srovnání obsahu vybraných těžkých kovů u jedinců z biotopů tekoucích a stojatých vod. Vybrány byly lokality: řeka Morava u Kroměříže, Hradecký rybník u Tovačova, Kyjovka u Tvrdomic.

Na každé lokalitě bylo odebráno 30 jedinců škeblíc *S. woodiana*. Po odběru následovalo rozřídění jedinců do 3 velikostních kategorií a zmrazení vzorků až do následné histologické analýzy – rozboru mlže na jednotlivé orgány. Ty byly jednotlivě zpracovány a mineralizací za působení mikrovlňného záření převedeny na formu roztoku. Pomocí atomové spektrometrie bylo v těchto vzorcích zjištěno množství těžkých kovů. Zkoumalo se 6 prvků: nikl, zinek, měď, olovo, kadmium a chrom. Poté bylo provedeno statistické vyhodnocení naměřených hodnot.

Těžké kovy kumulované v organismu byly porovnány mezi sebou a následně s okolním prostředím, tedy s vodou a sedimentem. Data týkající se množství těžkých kovů ve volné vodě a v dnových sedimentech poskytl Povodí Moravy, s. p. a Český hydrometeorologický ústav. Data pochází z různých období od roku 2013 až do 2019. Ve vodě byly sledované veličiny měřeny až na výjimky každý měsíc, a to na měrných profilech: Morava–Kroměříž, Morava–Tovačov a Kyjovka–Lanžhot. Data z Hradeckého rybníka u Tovačova nebyla k dispozici. V sedimentech byly těžké kovy sledovány podstatně méně často, a to dvakrát ročně na lokalitách Kyjovka a Morava. Údaje pro Hradecký rybník opět nebyly dostupné. Všechna získaná data byla porovnána statistickou analýzou.

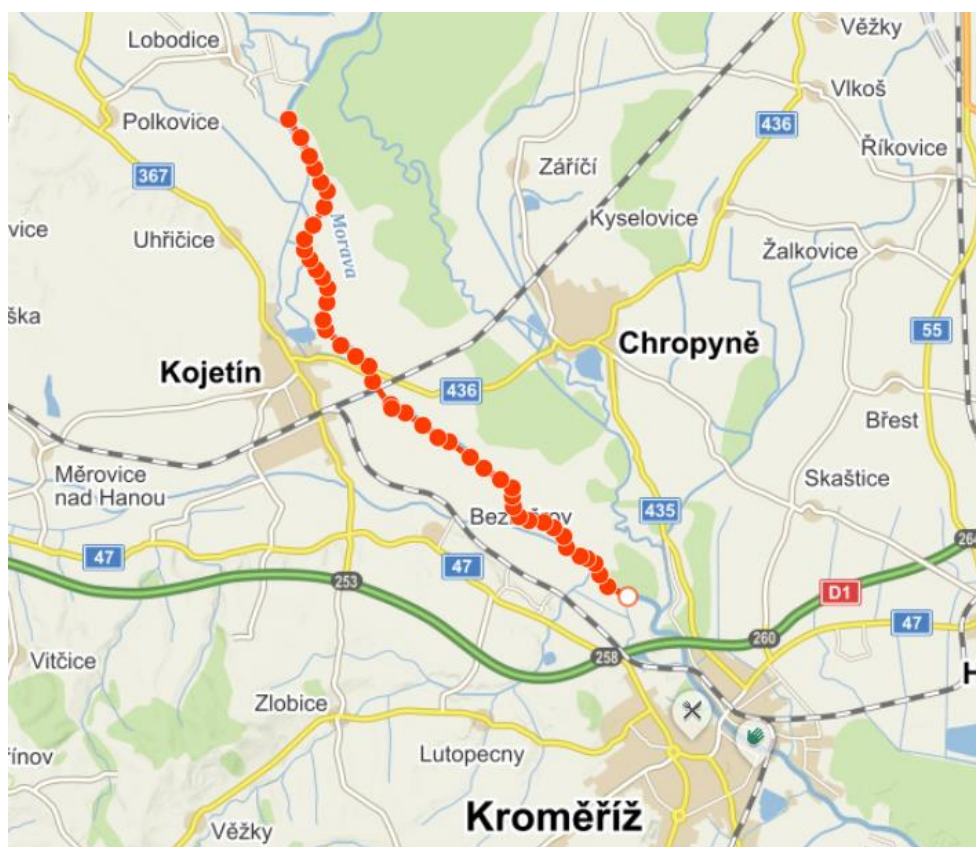


## 5.1 Odběr jedinců

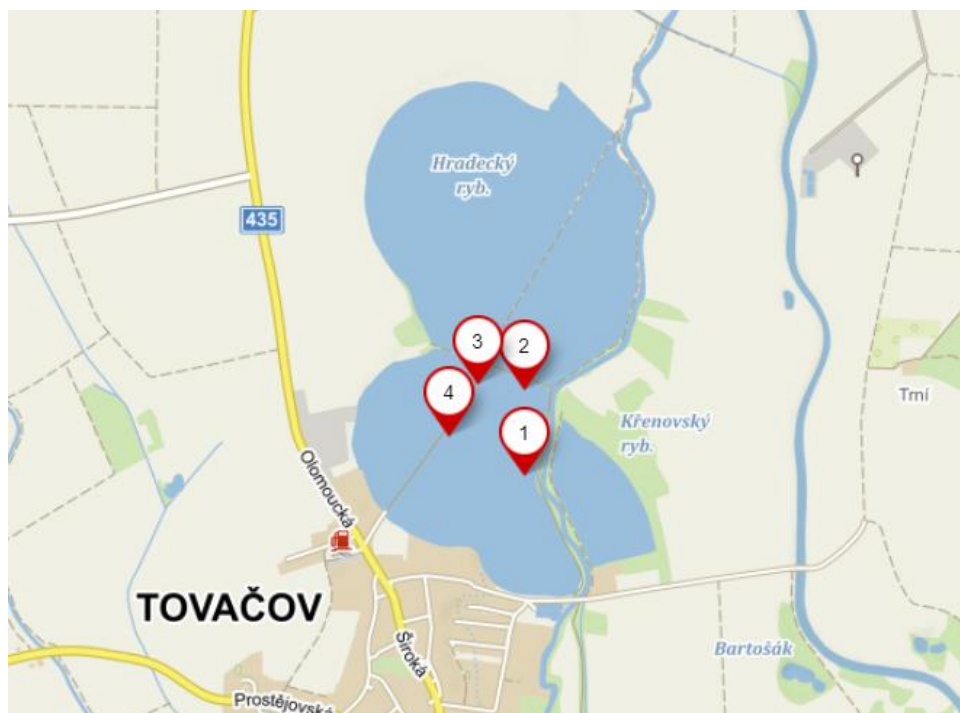
Při volbě lokalit odběru bylo třeba zohlednit typ prostředí, okolní krajinu a vnější vlivy, roční dobu i praktičnost a způsob odběru. Cílem bylo vybrat prostředí, která se od sebe svou charakteristikou liší, zároveň je ale možné provést jejich srovnání.

Pro výzkum byly zvoleny tyto lokality:

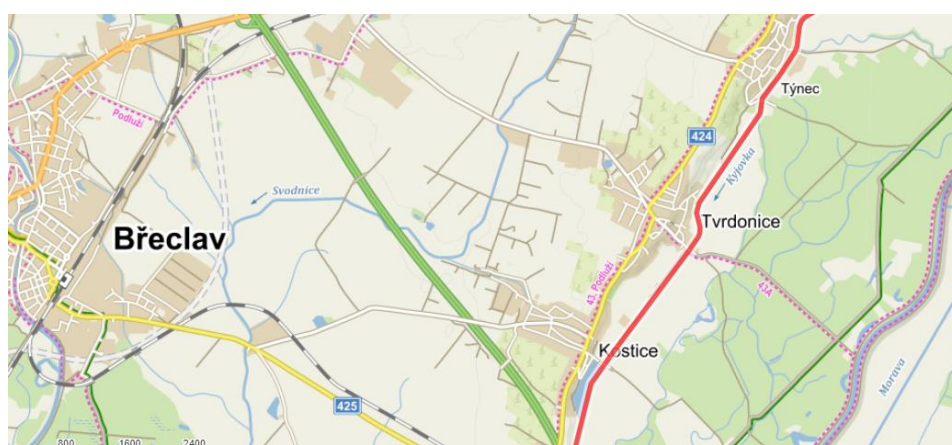
1. Řeka Morava u Kroměříže, srpen 2017 (Obr. 5)
2. Hradecký rybník u Tovačova, říjen 2018 (Obr. 6)
3. Řeka Kyjovka u Tvrdomic, červenec 2019 (Obr. 7)



Obrázek 5. Lokalita odběru 1, řeka Morava u Kroměříže. Zdroj: WWW3, upraveno.



Obrázek 6. Lokalita odběru 2, Hradecký rybník u Tovačova. Zdroj: WWW3, upraveno.



Obrázek 7. Lokalita odběru 3, řeka Kyjovka u Tvrdonic. Zdroj: WWW3, upraveno.

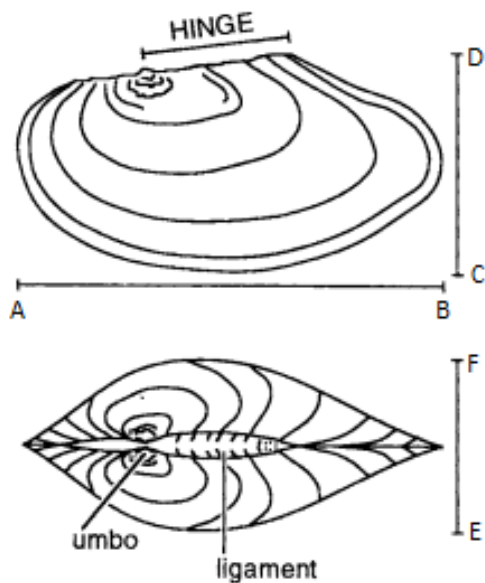
Z řeky Moravy byly škeblice odebrány během vypuštění jezové zdrže Kroměříž. Srážku jezu zvaného „Strž“ prováděl provozovatel vodního díla Povodí Moravy, s. p., z důvodu kontroly provozně-technického stavu vodního díla. Ke srážce byl proveden biologický dozor a záchranný transfer vybraných druhů živočichů, především zvláště chráněných velevrubů (Kostkan 2017). Během biologického dozoru byl zjištěn hojný výskyt škeblice asijské a několik desítek jedinců bylo z vypuštěné zdrže ručně odebráno a uschováno v mrazicích jednotkách až do zpracování a analýzy.

Další vybranou lokalitou odběru škeblíce asijské byl Hradecký rybník u Tovačova. Tento rybník je součástí tzv. Tovačovských jezer, což je soubor zatopených ploch využívaných převážně k chovu ryb a sportovnímu rybolovu. Odběr jedinců proběhl během vypuštění rybníka před výlovem, který se konal 20. a 21. října 2018. Vzorky byly zmrazeny až do následné analýzy obsažených prvků. Tovačovská jezera byla zvolena pro výzkum jako typ biotopu, kde by se dalo předpokládat vyšší znečištění vody kvůli chovu ryb a zemědělské činnosti v okolí a také pro porovnání tekoucí vody se stojatou.

Třetí vybraná lokalita je řeka Kyjovka na jižní Moravě, poblíž obce Tvrdonice. Vzorky mlžů laskavě poskytl Ing. Karel Douša, Ph.D. (ČZU Praha). V červenci 2019 byli jedinci odloveni během brodění a potápění v suchém obleku a poté převzati ke zpracování. Řeka Kyjovka (neboli Stupava) je drobná říčka protékající Dolnomoravským úvalem a vlévající se do Dyje v oblasti soutoku Dyje a Moravy. Obě zvolené řeky patří do úmoří Černého moře, Kyjovka je však oproti Moravě kratší, má menší plochu povodí a nižší průměrný průtok.

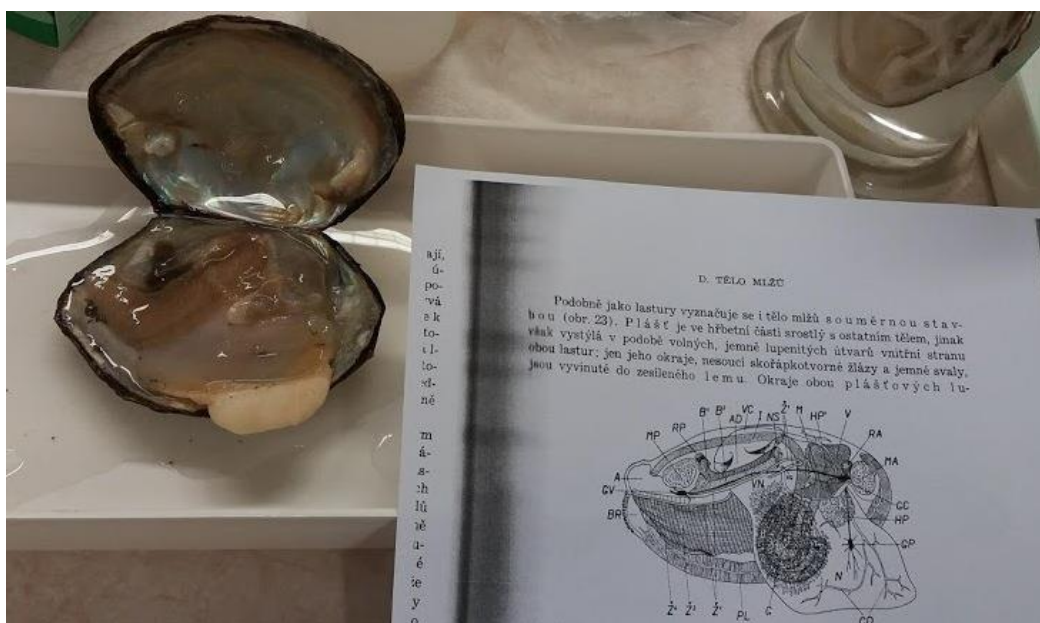
## 5.2 Histologický rozbor

Nasbírané vzorky škeblíce *S. woodiana* byly zváženy s přesností na desetinu gramu a změřeny s přesností na desetinu milimetru. Byly zjišťovány tyto rozměry: délka (A–B), šířka (C–D) a výška (E–F) lastury (Obr. 8). 30 jedinců bylo dle rozměrů roztríděno do 3 velikostních kategorií podle koeficientu násobku délky, šířky a výšky. Poté byl každý jedinec zvlášť rozdělen na 6 jednotlivých orgánů: žábry, srdce, noha, hepatopankreas a žaludek (dohromady), pohlavní žlázy a lastura. U všech orgánů bylo zvlášť zjišťováno množství vybraných těžkých kovů.



Obrázek 8. Měření velikosti lastury mlže. Zdroj: Aldridge (1999), upraveno.

Rozbor orgánů probíhal podle anatomického zobrazení mlže rodu *Anodonta* (Sedlák 2002). Anatomie škeblice asijské je v mnohém podobná našim původním škeblím, *A. anatina* i *A. cygnea*. Nepůvodní *S. woodiana* je větší a její jednotlivé orgány také dosahují větších velikostí, jinak je rozdíl v anatomii docela nepatrný a obecný náčrt rodu *Anodonta* byl pro rozbor orgánů dostatečný. Vnitřní stavba těla mlže je popsána též v Klíči československých měkkýšů (Ložek 1956).



Obrázek 9. Histologický rozbor orgánů *S. woodiana*.

Po odběru z přirozeného prostředí byly jedinci *S. woodiana* uloženi do mrazicího zařízení. Pro histologické zpracování byly vzorky opět rozmrazeny tak, aby se daly preparovat, ale zároveň byly ještě pevné a celistvé. Pitva orgánů byla provedena speciálně vybranými nástroji, aby nedošlo ke kontaminaci těžkými kovy z okolí. Použité materiály byly především plast, sklo, keramika. Preparace byla provedena pomocí plastického nože, preparačního sklíčka, plastové pinzety, a to následovně: Uvolnění svěračů lastur, oddělení lastur od sebe a otevření plášťové dutiny, odnětí svalu nohy od lastury, vyjmutí žaberních lupenů, odkrytí zbytku orgánů. Dále vyjmutí srdce z osrdečnickové komory, seškrábání pohlavních žláz, vyjmutí hepatopankreatu a přilehlého žaludku. Žaludek byl zpracován společně s hepatopankreatem, jakožto orgánová soustava trávicí a vylučovací a aby spolu dosáhly hmotnosti potřebné pro následnou analýzu. Nakonec následovalo očištění lastury od zbytků tkání plastovým nožičkem. Z nasbíraných 30 jedinců byli 2 použiti při přípravách a návrhu experimentu. Zbýlých 28 bylo popsáním způsobem rozebráno k dalšímu zpracování a analýze. U 7 vzorků škeblíc nebyly nalezeny gonády (pohlavní žlázy). 1 vzorek směsi hepatopankreatu a žaludku byl rozbit. Celkově tedy bylo pro chemickou analýzu připraveno 160 vzorků orgánů škeblice *S. woodiana*.





Obrázek 10. Jednotlivé orgány *S. woodiana* po histologickém rozboru. Zleva: žábry, srdce, noha, hepatopankreas a žaludek, gonády, lastura.

### 5.3 Chemická analýza

Po histologickém rozboru bylo třeba orgány převézt na roztok a obsažené kovy na anorganické formy vhodné pro analýzu na atomovém absorpčním spektrometru. Nejprve bylo nezbytné vzorky vysušit, snížit obsah vody v orgánech, a to beze změny chemického složení. Dále bylo potřeba sušinu přeměnit na kapalinu. Z vysušených vzorků se roztok tvoří mineralizací. Použitá mikrovlnná mineralizace je založena na působení mikrovlnného záření: při vzrůstu teploty dojde k ohřevu přítomných látek a k rozkladu na polární látky, které v mikrovlnném poli vibrují, čímž se výrazně zvýší teplota celého vzorku a dojde k rozkladu organických sloučenin. Výhodami mikrovlnného rozkladu je především zkrácení doby rozkladu, úspora energie a množství kyselin a urychlení celého procesu (Mader a Čurdová 1997). Když máme homogenní roztok požadovaného vzorku a činidel použitých v mineralizační směsi, můžeme ho použít v atomové absorpční spektrometrii (AAS). Je to analytická metoda pro určování vlastností vzorků na základě pohlcování světla v různých spektrech (Pitter 1999). Slouží ke stanovení koncentrací určité látky v roztoku, v našem případě ke stanovení obsahu těžkých kovů. Tato vysoce citlivá metoda dokáže stanovit i velmi nízké koncentrace obsažených prvků.

Na sušení byla použita sušárna značky Sanyo Gallenkamp. Jednotlivé orgány se zde sušily po dobu 10 hodin při teplotě 105 °C. Vysušené vzorky byly rozdrceny v keramické třecí misce na jemný prášek. Poté bylo plastovou lžičkou naváženo přesně 500 mg homogenizovaného vzorku do teflonové nádoby. Do všech nádob se vzorky bylo přidáno 7 ml 65% HNO<sub>3</sub> a 1 ml 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Teflonové nádoby byly poté uzavřeny a přesunuty do mikrovlnného rozkladného zařízení typu Speedwave firmy Berghof. Zde

proběhla mineralizace a převedení vzorků na roztok. Poté byla provedena analýza obsahu vybraných těžkých kovů (Ni, Zn, Cu, Pb, Cd, Cr) pomocí atomového absorpčního spektrometru řady AVANTA  $\Sigma$  firmy GBC.

#### **5.4 Statistické zpracování dat**

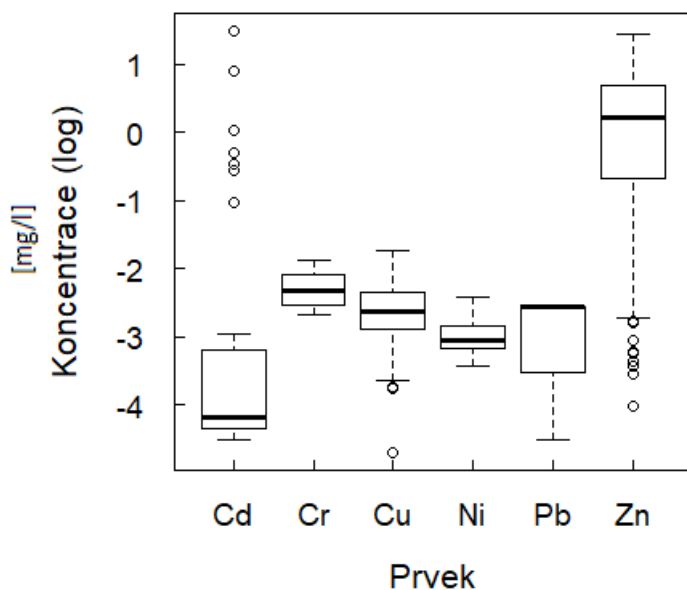
Data získaná z chemické analýzy byla statisticky zpracována v programu R (verze 3.6.0, R CORE TEAM, 2018). Byla porovnána významnost vlivů těžkých kovů, jednotlivých orgánů jako místa příjmu prvků, vlivu lokalit výskytu a velikostí *S. woodiana*. Významnost vlivů byla testována pomocí analýzy variance (ANOVA) s využitím F a p hodnoty. Zda data vykazují normální rozdělení, bylo testováno dvouvýběrovým t-testem ve stejném programu, s využitím hodnot t, df a p. U případů, kde nebyl dostatek dat pro statistickou analýzu, je tak uvedeno v textu. Grafické znázornění dat bylo vyhotoveno též v programu R (krabicové grafy) a v programu Microsoft Excel 2007 (sloupcové a spojnicové grafy). Krabicové grafy vyjadřují souhrn všech pozorování, s vyznačením mediánu, horního a dolního kvartilu a odlehlé hodnoty. Sloupcové grafy pak naznačují poměry a vztahy mezi jednotlivými proměnnými, spojnicové zase vývoj hodnot v čase. Zdrojem dat týkajících se obsahu těžkých kovů ve volné vodě a v sedimentech bylo Povodí Moravy, s. p. a Český hydrometeorologický ústav.

Výsledky těžkých kovů v orgánech *S. woodiana* zobrazeny v grafech jsou v jednotkách mg/l, v části Diskuze jsou pak tato data převedena na jednotky mg/kg kvůli srovnání obsahu těžkých kovů s výsledky jiných autorů a pro srovnání se sedimenty.

## 6. Výsledky

### 6.1 Obsah těžkých kovů v jednotlivých orgánech *S. woodiana*

Obrázek 11 znázorňuje celkové koncentrace sledovaných prvků v orgánech *S. woodiana*. Nejvýraznějším prvkem, který mnohdy i několikanásobně převyšoval množství ostatních těžkých kovů, byl zinek. Ve všech případech byl zinek detekovatelný při chemické analýze. Naopak kadmium často nedosáhlo ani meze detekce a jeho průměrný obsah byl po logaritmické transformaci z šestice kovů nejnižší. Také olovo a chrom vykazovaly málo detekovatelných měření, ovšem v součtu oba překonaly nikl, který byl častěji detekovatelný, ale v celkových nižších hodnotách. Celkové množství zjištěného chromu bylo po provedení statistické úpravy dat druhé nejvyšší, ovšem je třeba zdůraznit, že počet použitelných měření byl nízký (právě kvůli nedostatku hodnot, které by přesahovaly mez detekce), a proto výsledky chromu nejsou považovány za spolehlivé. Třetí nejvyšší množství bylo měřeno u mědi, která byla ve většině případů také nad mezí detekce (viz Obr. 11).

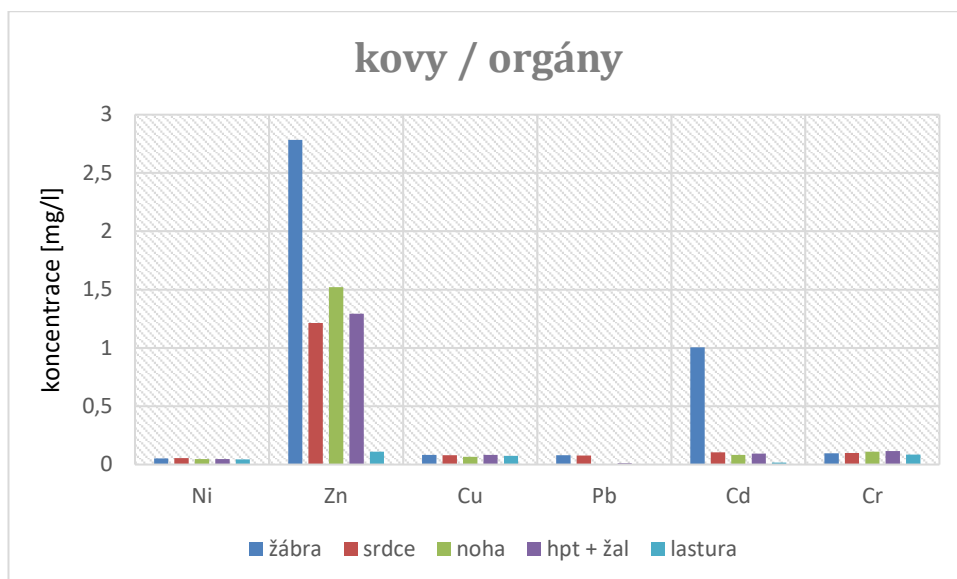


Obrázek 11. Celkové koncentrace těžkých kovů, souhrn všech jedinců, logaritmicky transformované.

Co se týče obsahu vybraných těžkých kovů v jednotlivých orgánech *S. woodiana*, zinek jednoznačně dosahoval nejvyšších hodnot ve všech orgánech kromě lastury. Na Obrázku 12 jde vidět, že oproti všem ostatním kovům byl zinek několikanásobně vyšší s výjimkou lastury, kde množství zinku dosahovalo podobných

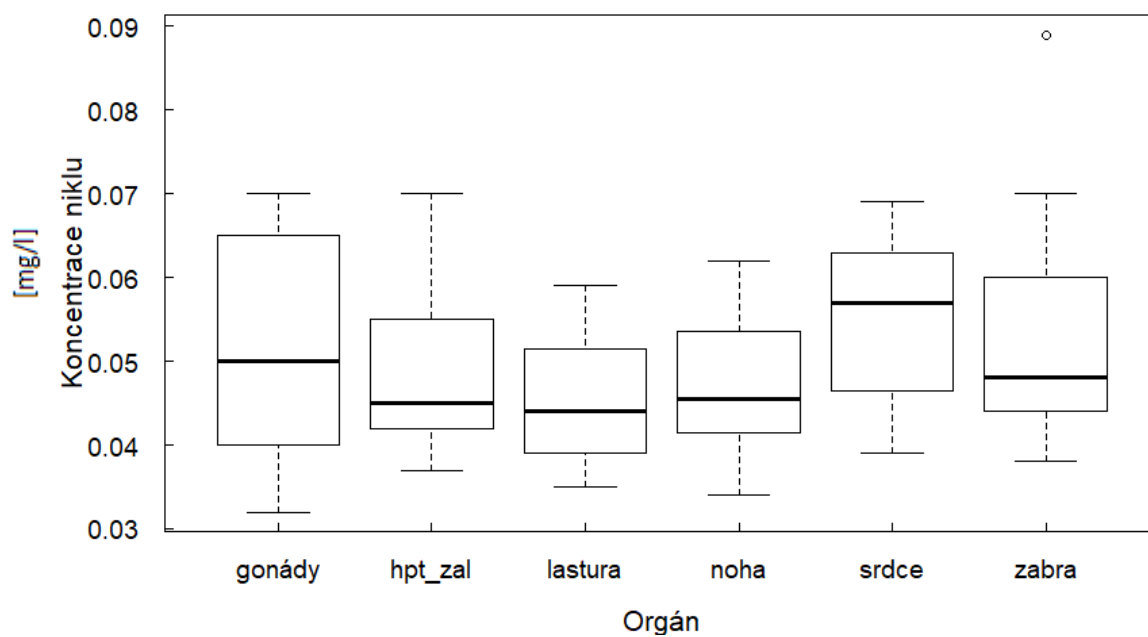


hodnot jako u ostatních kovů. Po zinku je nápadné také kadmium v lastuře, ale jelikož jde pouze o ojedinělý případ, považujeme jej za odlehlou hodnotu (Obr. 12).

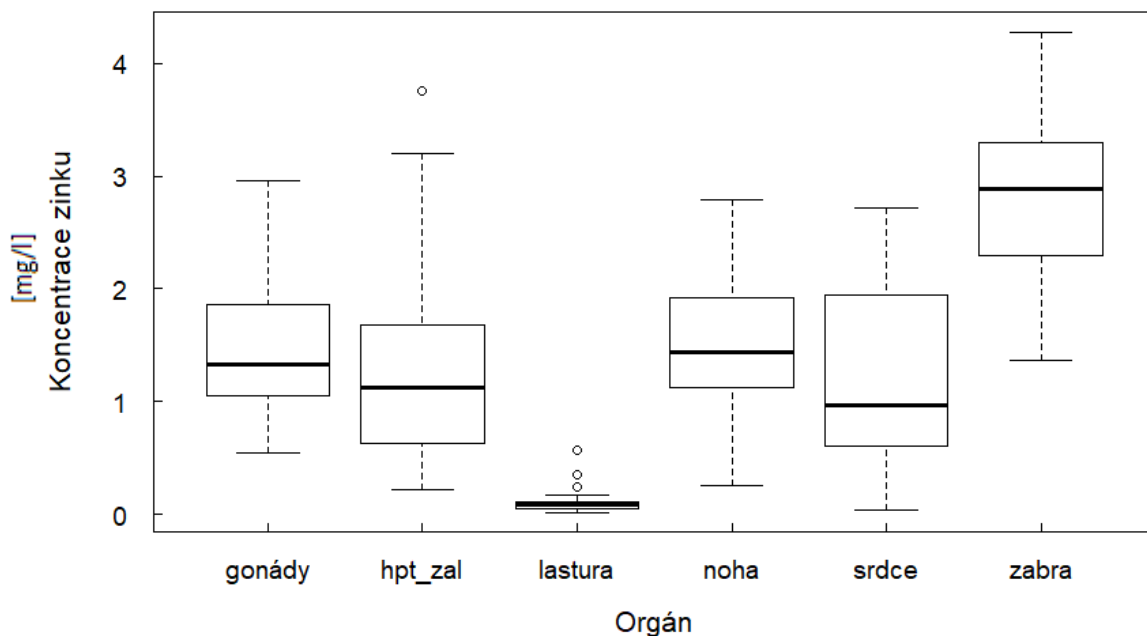


**Obrázek 12.** Průměrné koncentrace těžkých kovů v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.

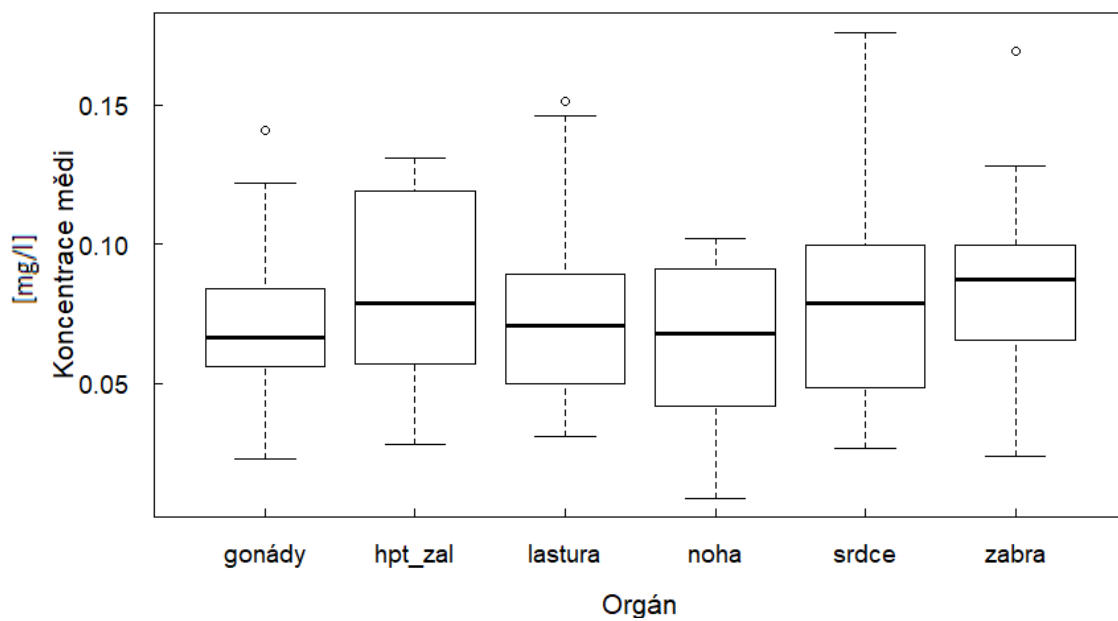
Následující grafy (Obr. 13–17) se zabývají koncentracemi v orgánech *S. woodiana* jednotlivě pro každý kov zvlášť. U olova pro tuto analýzu nebyl zjištěn dostatek dat, které by byly nad mezí detekce.



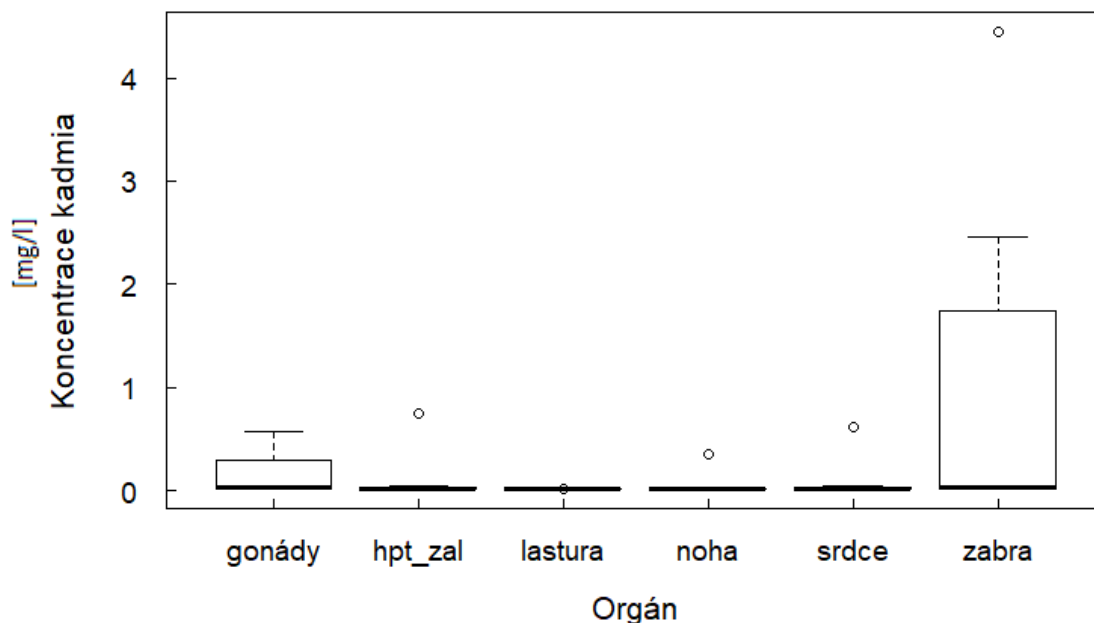
**Obrázek 13.** Koncentrace niklu v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.



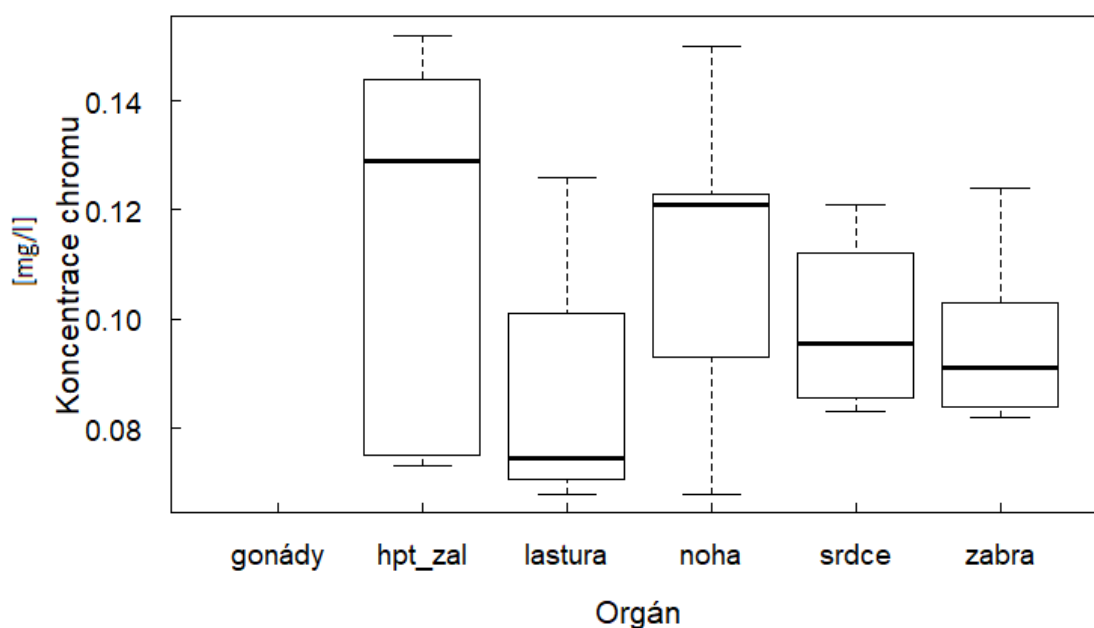
Obrázek 14. Koncentrace zinku v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.



Obrázek 15. Koncentrace mědi v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.



Obrázek 16. Koncentrace kadmia v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.



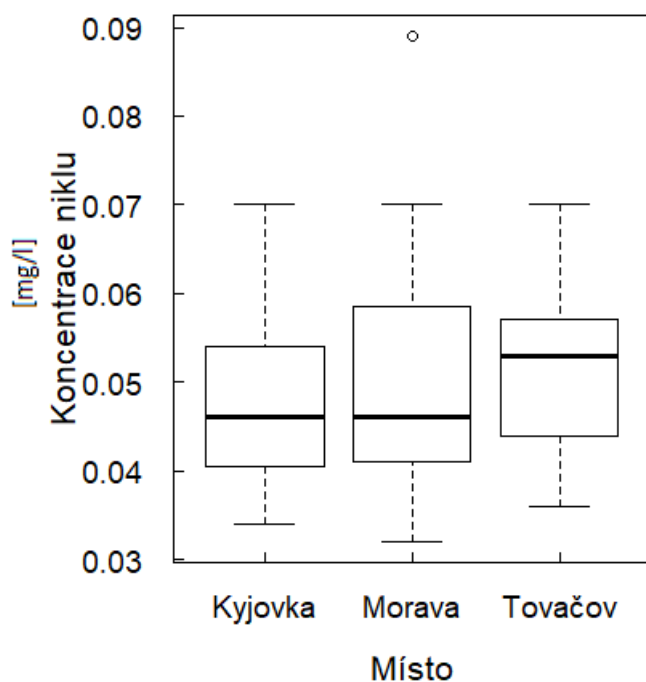
Obrázek 17. Koncentrace chromu v jednotlivých orgánech [mg/l], souhrn všech jedinců.

Koncentrace niklu (Obr. 13) byly ve všech orgánech podobné ( $F = 0.78$ ,  $P = 0.57$ ), nikl se tedy kumuloval ve všech orgánech v podobné míře. U zinku se koncentrace kovů výrazně lišily (Obr. 14). V lastuře byly hodnoty zinku nejmenší, v žábřácích se zinek hromadil prokazatelně nejvíce ( $F = 45.12$ ,  $P < 0.001$ ). Zbytek orgánů se v kumulaci zinku významně nelišil. Koncentrace mědi v jednotlivých orgánech

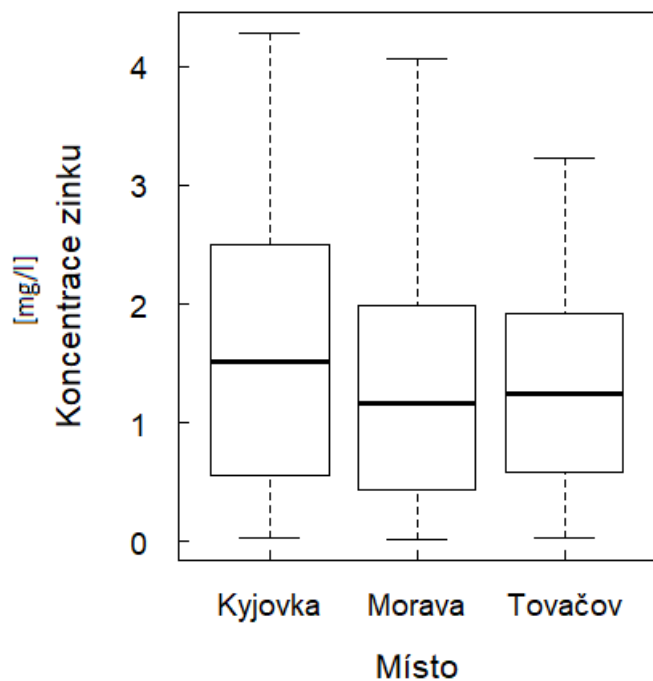
škebllice byly také podobné (Obr. 15), rozdíly v množství mědi nebyly statisticky významné ( $F = 1.04$ ,  $P = 0.39$ ). Olovo se pro nedostatek dat použitelných pro statistiku nedalo testovat. Z důvodu nedostatku dat pro kadmium a chrom jsou výsledky nerovnoměrné a nelze je považovat za spolehlivé (Obr. 16 a 17). Signifikantní rozdíl koncentrací v jednotlivých orgánech byl tedy prokázán pouze u zinku.

## 6.2 Obsah těžkých kovů v jedincích ze stojatých a tekoucích vod

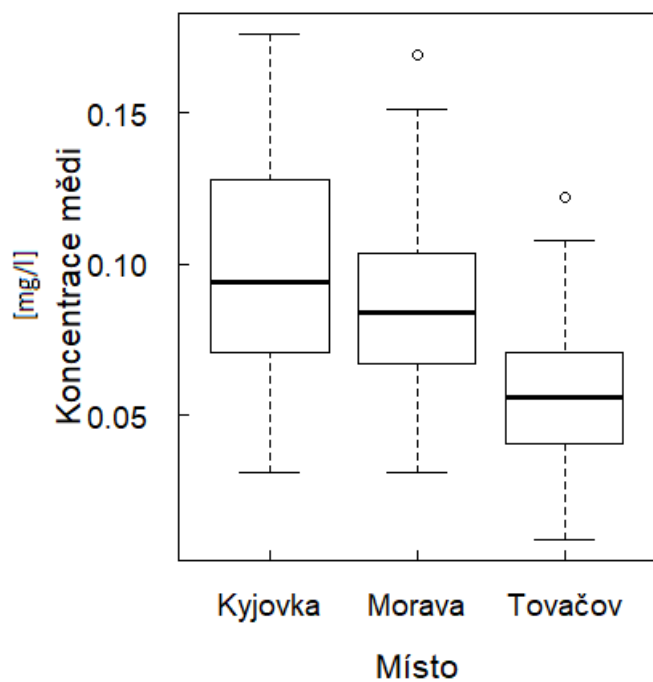
Podobně jako v předchozí analýze, i v tomto případě byl nejnápadnější ze zkoumaných těžkých kovů zinek. Množství zinku na všech lokalitách několikanásobně překračovalo množství ostatních kovů (Obr. 21). U niklu, zinku a mědi byl zjištěn dostatek dat nad mezí detekce pro statistickou analýzu (Obr. 18–20). Olovo, kadmium a chrom vykazovaly málo použitelných dat pro stanovení koncentrací a porovnání lokalit. Množství niklu bylo na všech lokalitách podobné, neprokázal se rozdíl ( $F = 0.12$ ,  $P = 0.89$ ). Stejný výsledek byl i v případě zinku – koncentrace se v různých prostředí prokazatelně nelišily ( $F = 1.22$ ,  $P = 0.30$ ). Pouze u mědi byl zaznamenán signifikantní rozdíl na různých lokalitách. V Hradeckém rybníce u Tovačova byla zjištěna v průměru nižší koncentrace mědi oproti řekám Kyjovka a Morava ( $F = 26.05$ ,  $P < 0.001$ ). U ostatních pozorování nebyl prokázán signifikantní rozdíl.



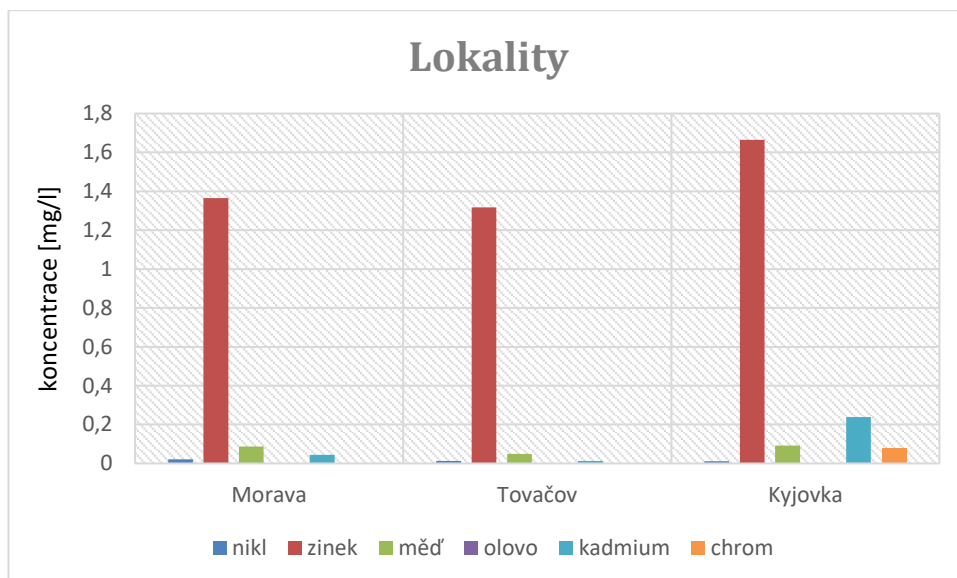
Obrázek 18. Koncentrace niklu na jednotlivých lokalitách [mg/l], souhrn všech jedinců.



Obrázek 19. Koncentrace zinku na jednotlivých lokalitách [mg/l], souhrn všech jedinců.



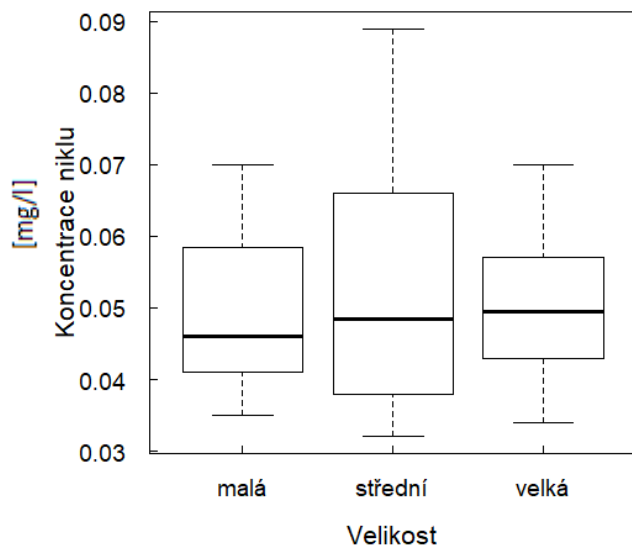
Obrázek 20. Koncentrace mědi na jednotlivých lokalitách [mg/l], souhrn všech jedinců.



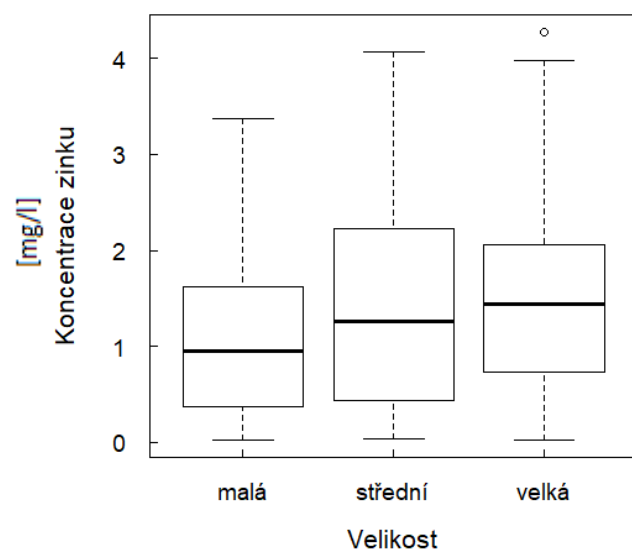
Obrázek 21. Průměrné koncentrace těžkých kovů na jednotlivých lokalitách [mg/l], souhrn všech jedinců.

### 6.3 Obsah těžkých kovů v různých velikostních kategoriích

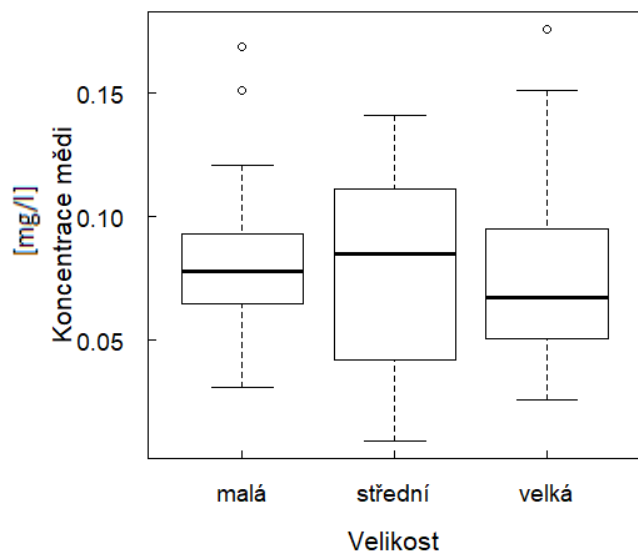
Při porovnání obsahu těžkých kovů v jedincích *S. woodiana* malé, střední a velké velikosti se zjistilo, stejně jako při analytickém rozboru různých orgánů a jedinců z různých lokalit, že zinek dosahoval nejvyšších koncentrací, a to u škeblíček všech velikostí (Obr. 27). Statistická analýza byla provedena pro každou velikostní kategorii zvlášť. U olova opět nebyl zjištěn dostatek dat nad mezí detekce. Koncentrace niklu se v rámci velikostních kategorií nelišily ( $F = 0.22$ ,  $P = 0.80$ ; viz Obr. 22). U zinku, kde koncentrace přesahovala ostatní vybrané kovy často i řádově, nebyl shledán signifikantní rozdíl kumulací pro jednotlivé velikosti ( $F = 1.77$ ,  $P = 0.17$ ), třebaže se ze všech sledovaných kovů koncentrace lišily nejvíce (Obr. 23). Ani u mědi nebyl prokázán významný rozdíl v rámci velikostních kategorií ( $F = 0.61$ ,  $P = 0.54$ ; viz Obr. 24). Kovy kadmium a chrom poskytly stejně jako v přechodících případech málo dat, proto výsledky nejsou rovnoměrně rozloženy (Obr. 25 a 26). Zjištěná hladina významnosti byla u kadmia  $F = 2.4$ ,  $P = 0.10$  a u chromu  $F = 0.5$ ,  $P = 0.61$ . U žádného ze sledovaných kovů se tedy nepotvrdil rozdíl v kumulaci těchto kovů v různých velikostních kategoriích *S. woodiana*.



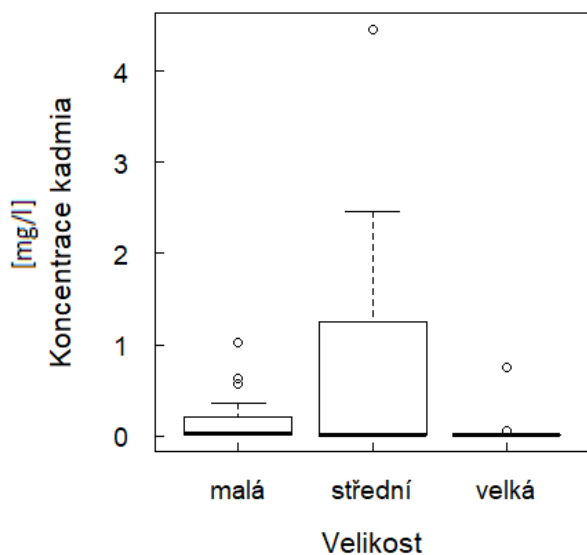
Obrázek 22. Koncentrace niklu v jednotlivých velikostech [mg/l], souhrn všech jedinců.



Obrázek 23. Koncentrace zinku v jednotlivých velikostech [mg/l], souhrn všech jedinců.

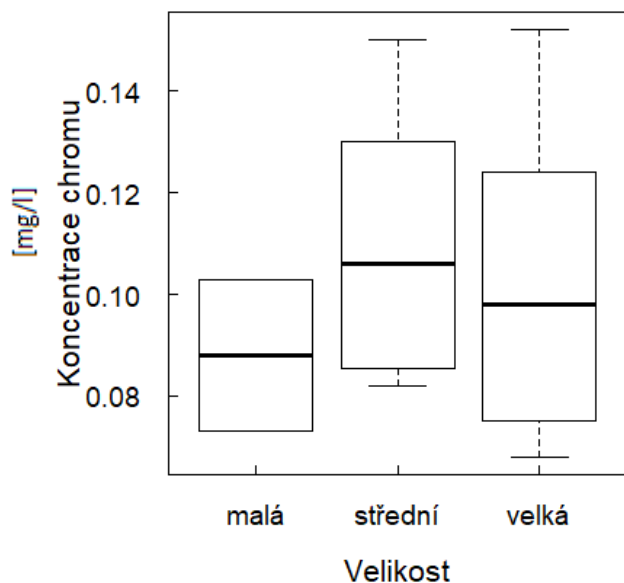


Obrázek 24. Koncentrace mědi v jednotlivých velikostech [mg/l], souhrn všech jedinců.



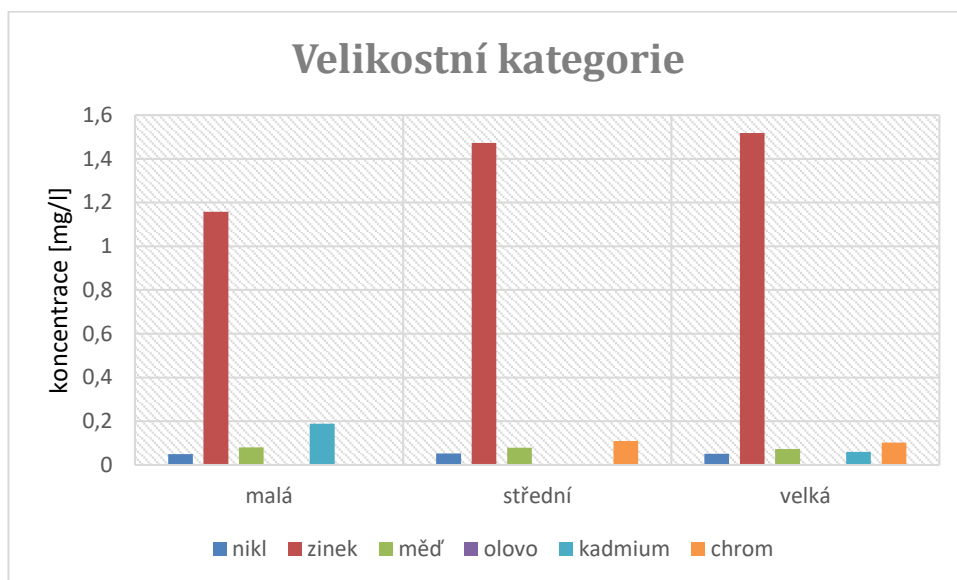
Obrázek 25. Koncentrace kadmia v jednotlivých velikostech [mg/l], souhrn všech jedinců.





Obrázek 26. Koncentrace chromu v jednotlivých velikostech [mg/l], souhrn všech jedinců.

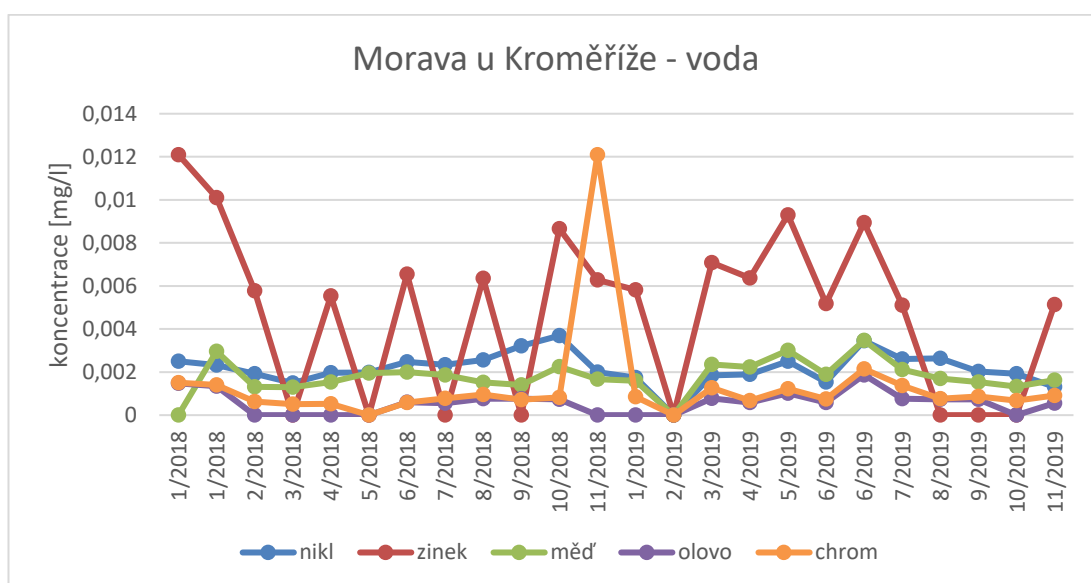
Všechny velikostní kategorie také vykazovaly podobné trendy v rozložení těžkých kovů jako ve zbylých částech tohoto experimentu. Vzhledem k jednoznačně nejvyššímu množství zinku by se mohlo zdát, že rozdíl mezi velikostními kategoriemi je u zinku signifikantní, ovšem při statistické analýze to prokázáno nebylo.



Obrázek 27. Průměrné koncentrace těžkých kovů u jednotlivých velikostních kategorií [mg/l], souhrn všech jedinců.

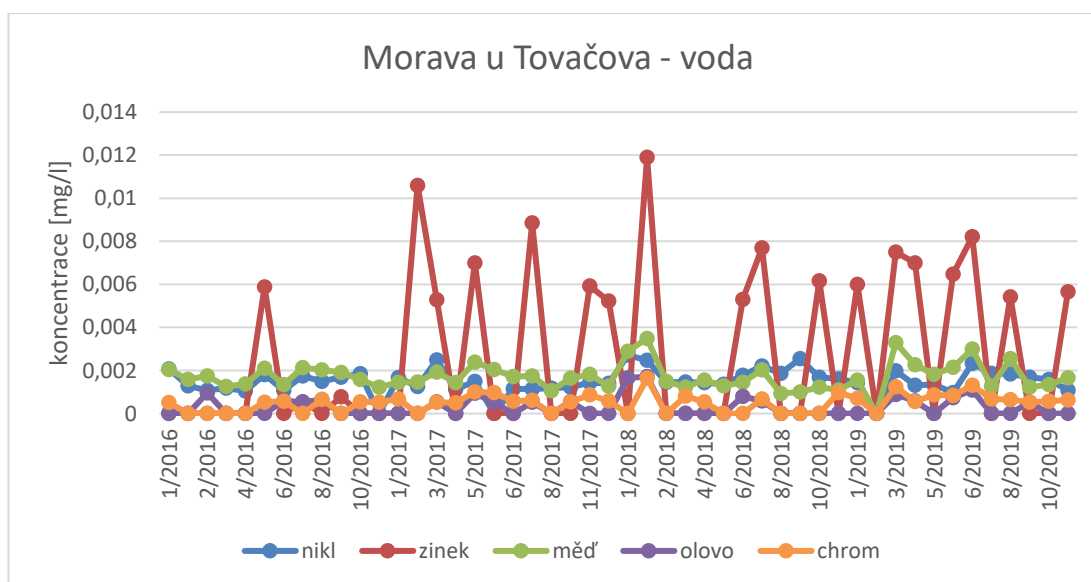
## 6.4 Obsah těžkých kovů ve vodě a v sedimentech

Grafy na obrázcích 28–32 představují vývoj sledovaných těžkých kovů v čase a popisují změny v průběhu roku, zvláště pro volnou vodu a sedimenty. V případě kadmia ve vodě nebyl dostatek dat nad mezí detekce.



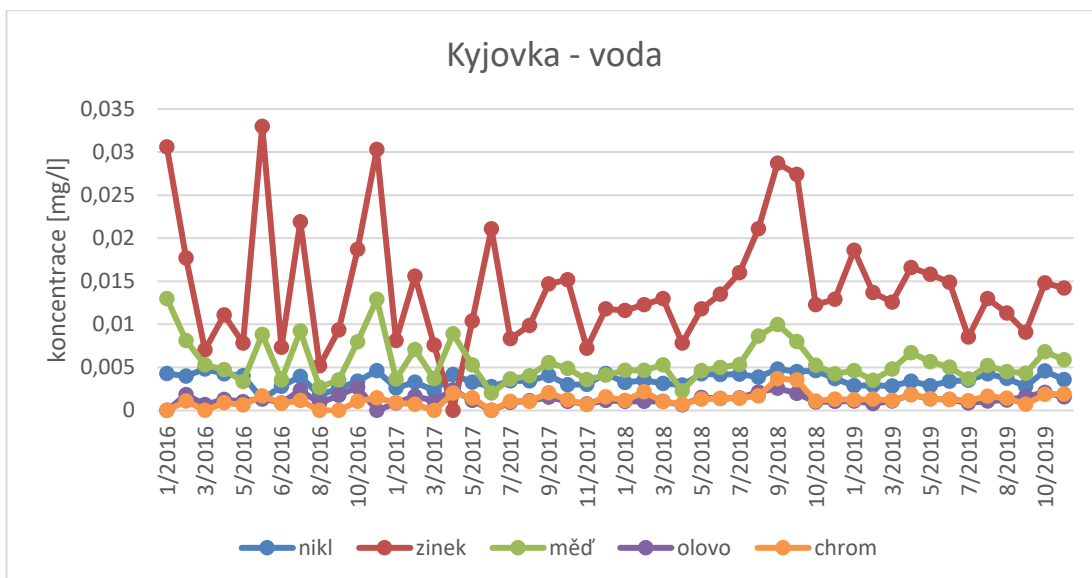
**Obrázek 28.** Dlouhodobé koncentrace těžkých kovů v Moravě u Kroměříže [mg/l].

Zdroj dat: Povodí Moravy, s. p.



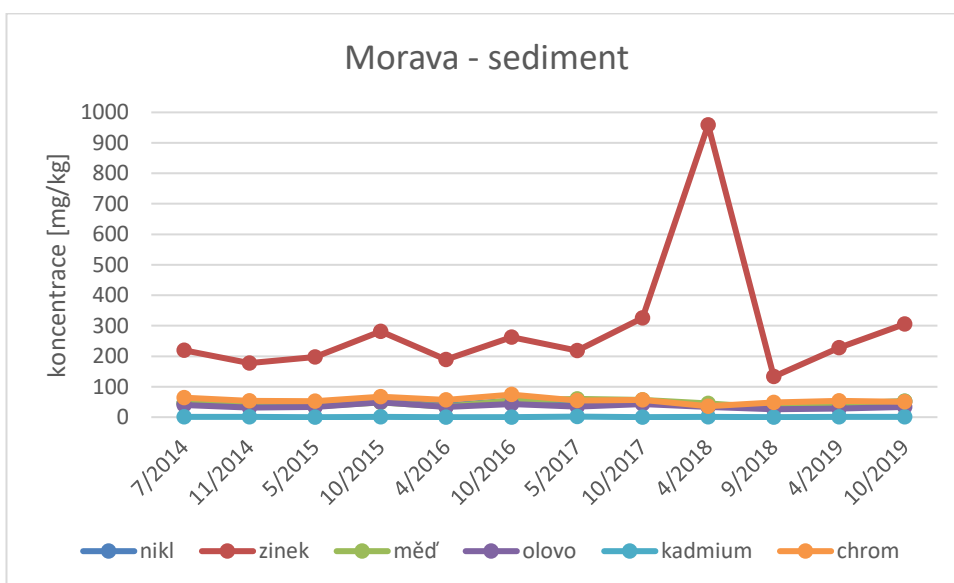
**Obrázek 29.** Dlouhodobé koncentrace těžkých kovů v Moravě u Tovačova [mg/l].

Zdroj dat: Povodí Moravy, s. p.



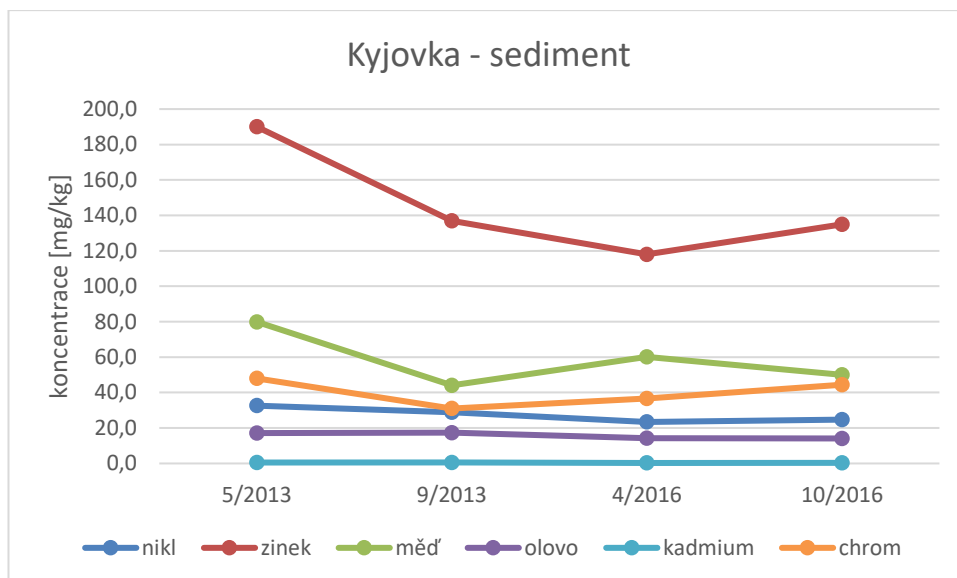
**Obrázek 30.** Dlouhodobé koncentrace těžkých kovů v Kyjovce [mg/l].

Zdroj dat: Povodí Moravy, s. p.



**Obrázek 31.** Dlouhodobé koncentrace těžkých kovů v sedimentech Moravy [mg/kg].

Zdroj dat: Český hydrometeorologický ústav.



**Obrázek 32.** Dlouhodobé koncentrace těžkých kovů v sedimentech Kyjovky [mg/kg].

Zdroj dat: Povodí Moravy, s. p.

Při porovnání obsahu kovů kumulovaných v orgánech *S. woodiana* a obsahu kovů v okolním prostředí dostaneme signifikantně vyšší koncentrace těžkých kovů v organismu oproti vodě, s výjimkou olova, kde byl rozdíl neprůkazný ( $t = 1.25$ ,  $df = 27$ ,  $P = 0.22$ ), a kadmia, kde byl opět nedostatek detekovatelných měření (Tab. 2). V případě organismus vs. sediment byly nikl, olovo a chrom obsaženy více v sedimentu, ale zinek se ve větším množství vyskytoval ve zkoumaném mlži (Tab. 2). U mědi a kadmia byl tento rozdíl neprůkazný (Cu:  $t = 1.65$ ,  $df = 33$ ,  $P = 0.11$ ; Cd:  $t = -1.85$ ,  $df = 33$ ,  $P = 0.07$ ).

**Tabulka 2.** Průměrné koncentrace těžkých kovů v orgánech *S. woodiana* ve vodě a v sedimentu. Zdroj dat: Povodí Moravy, s.p., Český hydrometeorologický ústav.

	Ni	Zn	Cu	Pb	Cd	Cr
Voda [mg/l]	0,0025	0,011	0,0034	0,0011	málo dat	0,0012
<i>S. woodiana</i> [mg/l]	0,092	7,86	0,416	0,006	0,35	0,089
<i>S. woodiana</i> [mg/kg]	9,17	786,4	41,56	0,596	35,27	8,85
Sediment [mg/kg]	40,41	254,75	48,88	30,88	0,64	51,69

## 7. Diskuze

Tato práce se kromě analýzy těžkých kovů prostřednictvím biomonitoringu věnuje také problematice škeblice *S. woodiana* jakožto invazního druhu. Vzhledem k její rychlé expanzi, neobvyklé velikosti a velké abundanci může být hrozbou pro naše původní druhy mlžů. Królak et al. (2007) vypočítali, že denzita škeblíc může dosahovat až 26–60 jedinců/m<sup>2</sup> a biomasa až 11,3–26,3 kg/m<sup>2</sup>. Vytlačení některých druhů a snížení biodiverzity, zásah do trofického řetězce, narušení reprodukčního cyklu a celková změna ekosystému se od rychle se šířících druhů dá do budoucna očekávat v ještě větší míře (Lorencová et al. 2015). Je proto potřeba věnovat invazním druhům pozornost a zaznamenávat nová místa výskytu. V České republice se kromě druhu *S. woodiana* tato problematika týká také dvou dalších mlžů: slávičky *D. polymorpha* a korbikuly *Corbicula fluminea* (Šefrová & Laštůvka 2005; Horsák 2018). Právě *D. polymorpha* byla v posledních letech k biomonitoringu znečištění vod hojně využívána. Četné množství prací se zabývalo výzkumy obsahu polutantů v orgánech *D. polymorpha* a mnohé z nich byly zaměřeny přímo na těžké kovy (např. Kraak et al. 1991; Wiesner et al. 2001; Lowe & Day 2002). Druh *S. woodiana* není ještě zdaleka tak dobře prozkoumaný jako *D. polymorpha* a pro účely biomonitoringu se teprve začíná využívat. Momentálně existují dva hlavní výzkumné programy, které pro účely biomonitoringu druh *S. woodiana* využívají: čínský projekt Freshwater Mussel Watch – u jezera Taihu (Yang et al. 2008; Bian et al. 2009; Liu et al. 2010) a polský program monitorující znečištění v Koninských jezerech, poblíž tepelných elektráren Konin a Patnow (Królak & Zdanowski 2001; Królak & Zdanowski 2007; Królak et al. 2007). Z dosavadních výsledků se už teď předpokládá, že druh *S. woodiana* skýtá potenciál vhodného sentinelového organismu z důvodů uvedených v kapitole 3.1.

### 7.1 Kumulace těžkých kovů v *S. woodiana*

Organické i anorganické látky, které živočichové do svého organismu přijmou z okolního prostředí, hrají významnou roli v jejich životním a reprodukčním cyklu. Vstup látek do organismu nekoreluje pouze s přímou koncentrací látky v prostředí, a tedy s pouhou expozicí této látky, ale je také z velké míry ovlivněn biokoncentračními faktory (Connell 1995). Pochopení procesu bioakumulace, včetně fyziologických odpovědí organismu, vnějších a vnitřních činitelů, které bioakumulaci ovlivňují, může

být klíčovým faktorem ve výběru daného organismu pro biomonitoring (Sokolowski et al. 2004).

Na základě provedeného experimentu lze konstatovat, že druh *S. woodiana* kumuloval vybrané těžké kovy z okolního prostředí do svých orgánů. Celkově i v rámci jednotlivých orgánů (kromě lastury) přesahovalo množství zinku výrazně ostatní měřené kovy (viz Tab. 2, Obr. 11 a 12). To, že se zinek kumuluje v mnohem vyšší míře než zbylé těžké kovy, potvrzují i výsledky jiných autorů. Jamil et al. (1999) zkoumal znečištění v 12 jezerech v deltě Dunaje prostřednictvím druhů *Anodonta anatina*, *Unio pictorum* a *Unio tumidus* a koncentrace zinku byly vždy nejvyšší. Stejných výsledků dosáhli dále například Phillips (1976), Gundacker (1999) či Voets et al. (2009). Tento jev se potvrdil jak u mlžů, tak i u jiných organismů – například u korýšů (Rainbow 2002) nebo mnohoštětinatců (Amiard et al. 1987). Sokolowski et al. (2004) naměřili v měkkých tkáních slávky druhu *Perna perna* několikanásobně více Zn než Cd, Cu, Mn a Pb, ale zároveň dvakrát méně Zn než Fe, které je také esenciálním prvkem. Mezi esenciální prvky patří i mangan a výsledky jiných výzkumů potvrzují, že se kumuluje v podobných a mnohdy i vyšších koncentracích, než zinek (Liu et al. 2010). Právě esencialita zinku je možné vysvětlení naprosté převahy jeho koncentrace v měkkých tkáních. Esenciální látka je taková, která je nezbytná pro život a její nedostatek má za následek smrt organismu (Mertz 1981). Zatímco koncentrace neesenciální látky v organismu závisí především na množství této látky v prostředí, u esenciálních látek dochází ke kontrole a regulaci dané látky organismem, například prostřednictvím metalothioneinů (Eisler 1993; Amiard 1987; Rainbow 2002). Zinek je důležitý prvek všech živých organismů, je nezbytný pro některé biologické procesy a v určitém množství je jeho výskyt v přírodě přirozený (Pitter 2009). Zinek tvoří základ pro více než 200 enzymů, které regulují biosyntézu a vznik RNA a DNA (Eisler 1993; Liu et al. 2010). Jeho nedostatek se projevuje zpomaleným růstem a vývojem, nebo zhoršenou reprodukční schopností (Mertz 1981; Eisler 1993). Nadbytek je méně nebezpečný, zvýšené množství zinku v organismu většinou nevede k poruše běžných životních procesů (Eisler 1993). Ve volné vodě ale za určitých podmínek může zinek působit toxicky pro ryby a další vodní organismy (Pitter 2009). Zinek se do vodního prostředí dostává také z antropogenních zdrojů (viz Kapitola 4.1) a když vezmeme v potaz jeho silnou bioakumulační schopnost, dají se vysoké koncentrace zinku v organismech očekávat.

Důležitým faktorem pro výslednou koncentraci kovu v organismu může být též vzájemné ovlivňování přítomných látek (synergismus, antagonismus). Signifikantní korelace byly nalezeny mezi Zn a Cd, Ni a Cr (Jamil et al. 1999) či Zn a Ni, Zn a Cu (Orren et al. 1980), ale během tohoto experimentu se korelace nepotvrdila. Po logaritmické transformaci dat byla kumulace zkoumaných kovů následující: Zn > Cr > Pb > Cu > Ni > Cd. K podobným závěrům dospěli například Voets et al. (2009) – Zn > Cu > Cd a Phillips (1976) – Zn > Pb > Cd > Cu nebo Liu (2010) – Mn > Fe > Zn > As ≈ Cu ≈ Cd ≈ Se > Pb > Mo ≈ Ag, přičemž Cr a Ni byly pod mezí detekce.

Když porovnáme kumulované těžké kovy v této práci s jinými autory, zjistíme, že výsledky jsou podobné a srovnatelné. Tabulka 3 ukazuje srovnání 6 těžkých kovů získaných prostřednictvím biomonitoringu v orgánech zástupců čeledí Unionidae, Dreissenidae a Mytilidae. Výsledky se nijak nápadně neliší. Největších koncentrací ve všech případech dosahoval zinek, zbytek kovů byl přítomen pouze v malém množství a řádově se odlišoval pouze ojediněle. Kadmium v tomto experimentu výrazně převyšuje množství v ostatních výzkumech, vzhledem k charakteru dat se však dá předpokládat, že se jedná pouze o statistickou odchylku. Prvky, které jsou v Tabulce 3 vynechány, nebyly ve vybraných pracích zhodnoceny.

Tabulka 3. Průměrné koncentrace těžkých kovů v různých druzích mlžů [mg/kg], srovnání s jinými pracemi.

Zdroj dat	Druh	Ni	Zn	Cu	Pb	Cd	Cr
DP M. Janků (2020)	<i>S. woodiana</i>	5	140,2	7,7	5,6	27,8	10,3
Liu et al. (2010)	<i>S. woodiana</i>	-	127	1,6	0,1	1,7	-
Królak & Zdanowski (2001)	<i>S. woodiana</i>	-	119,2	33,6	49,8	0,8	-
Królak & Zdanowski (2001)	<i>S. woodiana</i>	-	117,8	57,5	13,1	0,9	-
Królak & Zdanowski (2001)	<i>D. polymorpha</i>	-	17,8	8,4	0,85	0,03	-
Camusso et al. (1994)	<i>D. polymorpha</i>	14	-	18	2,3	1,3	3,5
Camusso et al. (1994)	<i>D. polymorpha</i>	16	-	21	3,9	1,57	3,5
Camusso et al. (1994)	<i>U. elongatulus</i>	2,7	-	12	3,2	1,2	1,7
Jamil et al. (1999)	<i>U. tumidus</i>	0,8	-	5,4	1	0,3	0,7
Jamil et al. (1999)	<i>U. pictorum</i>	3,6	-	13	9,5	5,1	4,3
Jamil et al. (1999)	<i>A. anatina</i>	7,3	-	7,7	6,9	4,7	4,4
Sokolowski et al. (2004)	<i>P. perna</i>	-	175,1	103,1	0,33	25	-

Zjištěné množství zinku v orgánech *S. woodiana* se signifikantně lišilo od ostatních těžkých kovů, vzhledem k jeho esencialitě, přirozeným vlastnostem a srovnání s ostatními pracemi je výsledek pochopitelný. Kadmium a olovo jsou silně toxické prvky, a přestože v tomto experimentu bylo jejich naměřené množství relativně nízké, je třeba je i nadále zkoumat a monitorovat. Hodnoty těžkých kovů (včetně zinku), které byly zjištěny v této práci, nejsou výrazně vyšší než u jiných výzkumů a dá se předpokládat, že v orgánech *S. woodiana* nepředstavují nebezpečí pro organismus.

## **7.2 Faktory ovlivňující bioakumulaci**

Během aktivního biomonitoringu, který probíhá v uzavřeném prostředí za přesně definovaných podmínek, můžeme vedlejší vlivy minimalizovat. Ovšem při pasivním biomonitoringu v přírodě je vliv okolního prostředí mnohem významnější. Vedlejší faktory mohou ovlivnit příjem, vylučování, formu i celkovou koncentraci kumulované látky. Je proto důležité tyto faktory jasně definovat a sledovat, aby naše pozorování bylo co nejméně poznamenáno nepředikovatelnými jevy. Bioakumulace závisí jednak na fyzikálních podmínkách okolí, jako třeba na teplotě, pH, tvrdosti vody, poměru a formě ostatních látek (Pitter 2009; Liu et al. 2016), a jednak na fyziologickém stavu organismu, například velikosti, věku, reprodukční fázi (Lobel & Wright 1982; Sokolowski et al. 2004; Zhong et al. 2013). V rámci tohoto experimentu jsme porovnávali různé orgány *S. woodiana* jako místa příjmu prvku, analyzovali obsah těžkých kovů na 3 lokalitách a v rámci různých velikostních kategorií.

### **7.2.1 Kumulace těžkých kovů do jednotlivých orgánů**

V tomto experimentu bylo zvláště analyzováno 6 anatomicky rozdělených částí *S. woodiana* (žábry, srdce, noha, hepatopankreas a žaludek, pohlavní žlázy, lastura). Zjistili jsme, že různé kovy neměly až na výjimky odlišné distribuční rozložení (viz Obr. 13–17). Zatímco nikl a měď se kumulovaly do všech orgánů s podobným trendem a v podobné míře, u zinku a chromu byla distribuce v různých orgánech odlišná. Výrazně nejvyšší koncentrace zinku se promítly v žábrách a výrazně nejnižší zase v lastuře. U chromu bylo rozložení koncentrací v orgánech nejednotné, nicméně data se lišila pouze o setiny jednotek. V případě kadmia jsou průměrné koncentrace velice



nízké (většina pod mezí detekce), až na několik vyšších hodnot tohoto kovu. Rozložení v orgánech zde proto nejde posoudit, stejně jako u olova, kde byly výsledky zpravidla pod mezí detekce. Kdybychom porovnali všechny kovy dohromady, největší míra kumulace by se prokázala u žaber a ostatní orgány by byly zhruba vyrovnané (Obr. 12–17). Kromě případu zinek–žábry a zinek–lastura se zde neprokázala významná tendence ke kumulování nebo vylučování některého kovu z některého orgánu.

Zvýšená koncentrace zinku v žábrách oproti jiným orgánům (Obr. 14) v této práci je také přirozená. Ve vodním prostředí prochází volná voda u mlžů přes žábry, proto jsou přímo vystaveny všem okolním látkám a rozpuštěným částicím z vody či sedimentu (Jamil et al. 1999; Uno et al. 2001). Žábry patří mezi metabolicky aktivní tkáně, hrají podstatnou úlohu při příjmu a kumulaci látek a slouží jako hlavní místo vstupu živin do organismu (Ciftci et al. 2001). Zatímco dlouhodobé působení látek se prokáže spíše v jiných vnitřních orgánech, krátkodobé expozice vyústí především v žábrách (Romeril 1971). V pracích Romeril 1971; Pourang et al. 2010; Ciftci et al. 2011 byla též potvrzena nejvyšší míra kumulace do žaber, a to nejen u zinku, ale i jiných kovů.

Nížší kumulace zinku do lastury oproti ostatním orgánům je popisována také v jiných pracích. Například Romeril (1971) nebo Gundacker (1999) uvádí, že zinek měl tendenci shromažďovat se více v měkkých tkáních (žábry, noha, bysová vlákna, plášť, srdce) než v lastuře mlžů. Stejnou tendenci vykazovala i měď, která je též esenciální a významná pro organismus mlže (Gundacker 1999). Distribuci těžkých kovů v orgánech *D. polymorpha* vysvětluje Gundacker (1999) vnitřní regulací kovů v organismu. Tento jev se potvrdil již také u *S. woodiana* – kovy s biologickým využitím (Mn, Fe, Cu a Zn) se do měkkých tkáních kumulovaly ve větší míře, zatímco neesenciální prvky (Pb a Cd) se shromažďovaly spíše do lastury (Królak & Zdanowski 2001; Królak et al. 2007; Liu et al. 2010). Mlži včetně *S. woodiana* jsou pravděpodobně adaptováni na příjem esenciálních látek kvůli svým biologickým potřebám a množství kovů v lastuře regulují, jelikož zde takovou potřebu nemají (Gundacker 1999; Królak et al. 2007). Oproti tomu jsou zase schopni v lastuře shromažďovat prvky, které zde pro ně mají význam, tedy vápník, jelikož lastura je pro měkkýše jeho hlavním úložištěm. (Beeby 1993; Królak & Zdanowski 2007). Vápník byl v lastuře obsažen zhruba desetkrát více než v měkkých tkáních, a to obdobně pro *D. polymorpha* i *S. woodiana* (Królak et al. 2007). V případě tohoto výzkumu se prokázala pouze snížená kumulace

zinku v lastuře (Obr. 14), ale zvýšená kumulace u žádného ze sledovaných prvků v lastuře zaznamenána nebyla.

### 7.2.2 Kumulace těžkých kovů na různých lokalitách

Dalším faktorem, který byl v rámci této práce zkoumán, byla lokalita výskytu a habitat studovaných jedinců *S. woodiana*. Z cílových lokalit byly vybrány dvě prostředí tekoucí vody (řeka Morava a řeka Kyjovka) a jedno prostředí stojaté vody (Hradecký rybník). Řeka Morava má odlišné atributy než druhá vybraná řeka (viz Kapitola 5.1), výsledky ukazují, že na všech zkoumaných lokalitách byla distribuce těžkých kovů podobná (Obr. 21). Nikl a zinek vykazovaly drobné, ale statisticky nevýznamné rozdíly (Obr. 18 a 19). U kadmia byla zjištěna statistická odchylka v Kyjovce, jednalo se ale jen o jednu zvýšenou hodnotu a většina dat byla většinou pod mezí detekce, stejně jako v případě olova a chromu. Signifikantně se lišila pouze měď – významně vyšších koncentrací bylo dosaženo v Moravě a Kyjovce, kdežto v rybníku bylo mědi v *S. woodiana* méně (Obr. 20).

V některých jiných pracích a výzkumech byly zjištěny rozdíly v příjmu těžkých kovů na různých lokalitách. Často byly prokázány odlišné hodnoty v místech s významným zdrojem znečištění oproti místům, kde tento zdroj znečištění nebyl. U polských tepelných elektráren Konin a Patnow, kde dochází ke spalování uhlí a uvolnění těžkých kovů do prostředí, byly na základě biomonitoringu prostřednictvím *S. woodiana* zjištěny podstatně vyšší koncentrace Cu, Zn a Pb než ve vodních nádržích, které imisemi z elektráren ovlivněny nebyly (Królak & Zdanowski 2001; Królak et al. 2007). Gundacker (2000) porovnával 6 lokalit kolem Vídně a zjistil výrazné rozdíly v bioakumulaci těžkých kovů různými živočichy (např. *Anodonta* sp. nebo *Radix ovata*) na různých lokalitách, způsobené pravděpodobně dopravními emisemi na daném místě. Při srovnání úseků tekoucích a stojatých byla oblast stojaté vody vyhodnocena jako nejméně dotčena znečištěním těžkými kovy (Gundacker 2000). Tam byla také zjištěna přibližně dvacetkrát nižší koncentrace mědi u mlžů oproti plžům, což naznačuje vyšší regulaci mědi v těle mlžů (Gundacker 2000). I tato skutečnost by mohla mít vliv na sníženou koncentraci mědi na lokalitě Hradecký rybník u Tovačova.

### 7.2.3 Vliv tělesné velikosti na bioakumulaci

V rámci této práce bylo také zjišťováno, jestli velikost jedince *S. woodiana* může ovlivnit množství kumulovaných těžkých kovů. Byly vytvořeny 3 velikostní kategorie podle délky, šířky a výšky lastury (viz Kapitola 5.2). Statistická analýza ukázala, že mezi jednotlivými velikostními kategoriemi nebyl rozdíl v množství či distribuci kumulovaných látek (Obr. 22–26). Ani u jednoho zkoumaného kovu nebyla prokázána signifikantní rozdílnost.

V dalších výzkumech této problematiky byly zjištěny různé výsledky. V některých pracích se potvrdil vliv velikosti lastury na kumulaci těžkých kovů, v jiných však nikoliv. Množství zinku u některých druhů prokazatelně stoupalo s rostoucí velikostí (Harris et al. 1979), nebo alespoň větší jedinci *Mytilus edulis* měly více zinku než menší jedinci stejného druhu (Lobel & Wright 1982). Pozitivní korelace s rostoucí velikostí jedinců byla dále potvrzena u kadmia a železa, negativní byla potvrzena u manganu (Harris et al. 1979). V případě niklu někdy koncentrace klesala s rostoucí velikostí, ale jindy se tento trend nepotvrdil (Eisler 1998). V orgánech *D. polymorpha* klesala koncentrace mědi s rostoucí velikostí, ale byl prokázán i významný vliv způsobu vstupu látky do organismu (Zhong et al. 2013). Stejně tak byla pozorována negativní korelace koncentrace mědi s velikostí *Anodonta cygnea* (Pourang et al. 2010), ale v jiných výzkumech byly získány kontrastní výsledky, tedy že větší jedinci *D. polymorpha* a *Dreissena bugensis* obsahovali větší koncentrace mědi (Richman & Somers 2005).

Vzhledem k odlišným výsledkům pozorování různých kovů by se dalo předpokládat, že vztah velikost vs. kumulace kovu může být specifický pro daný kov. Možným vysvětlením je i vliv dalších faktorů souvisejících s velikostí. Například Zhong et al. (2013) uvádí, že velikost těla je stěžejní faktor pro bioakumulaci látek, ale může být také ovlivněn dalšími vlivy, jako je rychlost růstu, stáří organismu, jeho fyziologický stav, míra znečištění a dostupnost živin. Velikost těla mlže částečně souvisí s jeho biologickým věkem, který je také důležitým faktorem v příjmu látek. Juvenilní stádia *S. woodiana* obsahují podstatně méně přijatých látek a kumulace prvků se zvyšuje s věkem mlže (Jurkiewicz-Karnkowska 2002; Królak & Zdanowski 2007). Silně zvýšené koncentrace kovů ve vodním prostředí ale mohou zpomalit růst, ovlivnit velikost a snížit plodivost jedinců (Forbes 1991; Królak & Zdanowski 2001).

V této práci nebyla prokázána ani pozitivní ani negativní korelace velikostních kategorií s obsahem těžkých kovů. Důvodem může být jednak relativně nízké znečištění

těžkými kovy na studovaných lokalitách, jednak nízký počet pozorování a hodnot kovů nad mezí detekce. Pro získání spolehlivých dat prostřednictvím biomonitoringu je doporučeno vybírat jedince přibližně stejných velikostí (Phillips 1976). Pouhá velikost těla se však zdá být nedostatečným znakem pro hodnocení bioakumulace látek do těl živočichů. Je proto vhodné brát v potaz také alometrické poměry tělesných znaků, například šířku ku výšce nebo šířku ku délce (Lobel & Wright 1982).

#### **7.2.4 Další faktory ovlivňující bioakumulaci**

Kromě tkáňové specifity, místa původu a velikosti jedince existují ještě další faktory, které množství kumulovaných látek ovlivňují. Období odběru jedinců z přírody nebo doba provádění experimentu může mít významný vliv na bioakumulaci. V této práci byl odběr prováděn na každé lokalitě v jiném období, a to sice v rozmezí od července do října, ovšem vždy v jiném roce. Signifikantní rozdíl se zde však nepotvrdil. Jiné výzkumy považují vliv sezónnosti za velmi významný. Mnohdy bylo prokázáno zvýšené množství těžkých kovů v organismech od června do listopadu (Phillips 1976; Orren et al. 1980), ale v jiných studiích bylo naopak zjištěno maximum v zimě a minimum v létě nebo na podzim (Kraak et al. 1991; Soto 1995). Právě na podzim se předpokládá nejmenší ovlivnění mlžů jejich reprodukční aktivitou (Lowe & Day 2002). Důvody sezónních změn v kumulaci těžkých kovů mohou být kromě reprodukčního cyklu také změny teplot, podmínek na stanovišti, změny tělesných hmotností (Orren et al. 1980; Soto 1995). Největší sezónní změny se projeví u Mn a Cd, nejmenší u Pb, Zn a Cu (Sokolowski et al. 2004). Značný vliv na kumulaci chemických látek může mít také pohlaví jedince. Souvislost míry kumulace s pohlavím byla potvrzena více výzkumy. Samice ve svých orgánech měly větší množství manganu, mědi a zinku, kdežto samci více železa (Orren et al. 1980; Sokolowski et al. 2004). Další faktory, které bioakumulaci ovlivňují, jsou například tvrdost vody a ostatní přítomné látky, hloubka vody v místě výskytu mlže, přítoky sladké vody, genetické predispozice a v neposlední řadě fyziologický stav organismu (Phillips 1976; Pitter 2009; Voets et al. 2009; Liu et al. 2016). Živočichové v dobré zdravotní kondici jsou schopni investovat více energie do detoxikace škodlivých látek (Voets et al. 2009).

Při návrhu biomonitoringu je potřeba vyloučit vliv vedlejších faktorů, abychom maximalizovali objektivitu a spolehlivost dat. Z toho důvodu se pro účely

biomonitoringu doporučuje využívat organismy, které splňují následující podmínky (Phillips 1976):

1. Všichni zkoumaní jedinci mají být odebíráni ve stejném období, s co nejmenší časovou odchylkou.
2. Všichni zkoumaní jedinci mají být odebíráni v době, kdy je koncentrace těžkých kovů na lokalitách nejvyšší.
3. Všichni zkoumaní jedinci mají dosahovat stejné nebo podobné velikosti a hmotnosti.
4. Všichni zkoumaní jedinci mají být odebíráni z přibližně stejné hloubky.
5. Všichni zkoumaní jedinci mají být odebíráni z oblasti se stejnou nebo podobnou salinitou a teplotou vody.

### **7.3 Využitelnost druhu *S. woodiana* pro hodnocení kvality vod**

Pochopení vztahu mezi množstvím těžkých kovů v organismu a v okolním prostředí je důležitý požadavek pro provedení biomonitoringu (Gundacker 1999). Je potřeba znát množství látek v prostředí, které je potenciálním zdrojem pro bioakumulaci. V této práci bylo provedeno porovnání kumulace těžkých kovů v orgánech *S. woodiana* s jejich koncentrací v okolní vodě a v sedimentu. Pokud srovnáme čistě obsah kovů v prostředí, tedy ve volné vodě a v dnových sedimentech, koncentrace v sedimentu byly vždy výrazně vyšší než ve vodě. Sediment je důležitý rezervoár chemických látek včetně těžkých kovů a při uvolnění je také zdroj zvýšení těchto látek ve vodních organismech (Lowe & Day 2002). Bylo prokázáno, že bentické druhy mají vyšší koncentrace těžkých kovů než pelagické druhy, jelikož se vyskytují na dně (v sedimentu) a mají zde vyšší expozici, a to právě kvůli vysoké objemové hmotnosti těžkých kovů a gravitačnímu spádu (Pitter 2009; Ciftci et al. 2001).

V některých literárních zdrojích se zvýšené množství těžkých kovů v organismech shoduje se zvýšením kovů v sedimentu, ovšem většinou ne signifikantně (Jamil et al. 1999; Gundacker 1999; Lowe & Day 2002). Proces sedimentace je také ovlivněn více faktory, například směrem proudění nebo formou kovu, a to způsobuje různou prostorovou variabilitu těžkých kovů v sedimentu a následně i ve vodních organismech (Jamil et al. 1999). Zvýšená koncentrace těžkých kovů v sedimentu může, ale nemusí být důvodem zvýšené koncentrace v orgánech.

Lze říct, že v tomto experimentu mlž *S. woodiana* kumuloval více těžkých kovů, než bylo obsaženo v okolní vodě, ale méně, než bylo obsaženo v sedimentu, s výjimkou zinku, kterého bylo v orgánech mlže ještě více než v sedimentu (Tab. 2). K podobnému výsledku u druhu *S. woodiana* došli také Liu et al. (2010), kdy bylo množství zinku v organismu i desetkrát vyšší než v sedimentu. Vysoké množství zinku se dá vysvětlit jeho silnou bioakumulační schopností a bezprostřední potřebou pro normální fungování metabolismu (Eisler 1993; Liu et al. 2010). Na uvolnění látek ze sedimentu má vliv například množství rozpuštěného kyslíku, salinita, pH nebo přítomnost a forma ostatních látek (Eisler 1993).

V kapitole 4 (Tab. 1) jsou uvedeny normy přípustného znečištění povrchových vod vybraných těžkých kovů z Nařízení vlády č. 401/2015 Sb. Když tyto hodnoty porovnáme s údaji o množství těžkých kovů ve vodě od Povodí Moravy, s. p., zjištěné znečištění ani jednou nepřesáhne limity (viz Tab. 4). Jedná se o dlouhodobé průměry těžkých kovů a tyto průměry nepřekračují povolené mezní hodnoty. Norma ČSN 75 7221 Klasifikace kvality povrchových vod slouží k orientačnímu porovnání kvality vody na základě různých faktorů, jako obsahu dusíku, fosforu, vybraných organických látek nebo těžkých kovů. Podle této normy lze zařadit sledované lokality do jedné z 5 tříd kvality: I. neznečištěná voda; II. mírně znečištěná voda; III. znečištěná voda; IV. silně znečištěná voda; V. velmi silně znečištěná voda. Zinek v této klasifikaci mezi vybranými těžkými kovy není, u niklu by získané průměry odpovídaly třídě I.–II., u mědi také třídě I.–II., v případě olova se jedná o třídu I., u kadmia I.–II. a u chromu jde o třídu I. (Tab. 4). Celkové hodnocení průměrných koncentrací těžkých kovů ve vodě na všech 3 sledovaných lokalitách proto považujeme za velmi dobré. Vybrané lokality lze považovat za neznečištěné.

Tabulka 4. Srovnání průměrné koncentrace těžkých kovů ve vodě s limitními koncentracemi [ $\mu\text{g/l}$ ] z Nařízení vlády č. 401/2015 Sb. a zařazení do třídy kvality dle Normy ČSN 75 7221.

	Zn	Ni	Cu	Pb	Cd	Cr
Morava–Kroměříž	7,142	2,259	1,938	0,864	0,24	1,457
Morava–Tovačov	6,371	1,598	1,746	0,798	0,187	0,732
Kyjovka	14,501	3,532	5,595	1,364	0,074	1,41
limitní koncentrace	92	34	14	14	0,45–1,5	18
třída kvality	–	I.–II.	I.–II.	I.	I.–II.	I.

Biomonitoring využívá měkkýše pro hodnocení kvality vod již řadu let. Druhy jako *D. polymorpha*, *U. pictorum* či *A. anatina* byly z hlediska bioakumulačních schopností prověřovány již mnohokrát. Škeblice *S. woodiana* je ovšem na mnoha místech relativně nový druh a její expanze teprve probíhá. Vzhledem k její velikosti, životnímu cyklu a invaznímu charakteru má dobrý potenciál pro testování vodní ekotoxikologie (Liu et al. 2016). Nyní je třeba zhodnotit, jestli je tento druh stejně vhodný či dokonce vhodnější pro biomonitoring oproti doposud využívaným druhům. Čínský projekt Freshwater Mussel Watch dospěl k závěru, že druh *S. woodiana* může být využit jako biomonitor znečištění organocínem, kontaminace mědí, pesticidů HCH a DDT (Yang et al. 2008; Bian et al. 2009; Liu et al. 2016). Z těžkých kovů byla škeblice schopna kumulovat hlavně Mn a Cd ve vysokém množství (Liu et al. 2010). Na základě obsahu Pb, Zn, Cd a As v *S. woodiana* dokonce Yang et al. (2005) zhodnotili, že zkoumaný biotop je nevhodný pro rybaření a druh *S. woodiana* by při konzumaci mohl být škodlivý lidskému zdraví.

Také polský program monitorující znečištění v Koninských jezerech dospěl k výsledku, že *S. woodiana* může být vhodným bioakumulačním organismem. Porovnávali obsahy chemických prvků na jedné lokalitě prostřednictvím 2 druhů, tedy *S. woodiana* a *D. polymorpha*. Oba druhy kumulovaly podobné množství vápníku a *S. woodiana* obsahovala více fosforu v měkkých tkáních, kdežto *D. polymorpha* zase v lastuře (Królak & Zdanowski 2007). V případě těžkých kovů kumulovala *S. woodiana* většinou o něco vyšší koncentrace než *D. polymorpha*, například zinek v lastuře byl

skoro dvakrát vyšší (Królak et al. 2007). Rozdíl mezi těmito druhy vysvětlují tím, že délka života *S. woodiana* je zhruba dvakrát tak dlouhá než u *D. polymorpha* (Królak & Zdanowski 2001).

V Tabulce 3 jsou uvedeny také další druhy mlžů pro porovnání kumulace těžkých kovů. Je ale potřeba vzít v potaz, že jednotlivé druhy pochází z jiných lokalit a jiného období. Nelze srovnávat druhy mezi sebou, pokud pochází z odlišného prostředí. Několik zde uvedených výzkumů označuje druh *S. woodiana* jako vhodný organismus pro biomonitoring a tato práce to nevyvrací. S opatrností lze konstatovat, že škeblice kumulovala těžké kovy v míře korespondující s okolním prostředím a zinek v koncentracích vyšších, jelikož jde o prvek potřebný pro její metabolismus. Schopnost bioakumulace tohoto druhu je dostatečná pro využití v biomonitoringu a hodnocení kvality vod.

Mlži jsou jedna z nejvíce zranitelných skupin a jsou citliví na znečištění (Liu et al. 2016). Nejenže mohou reflektovat zhoršující se kvalitu vod, mohou také být při zvýšených koncentracích polutantů potenciálním zdrojem otrav pro predátory, kteří se jimi živí (Kraak et al. 1991). *S. woodiana* se dokonce v některých částech Asie chová a je konzumována lidmi (Yang et al. 2005). Mlži jsou významní v koloběhu prvků v přírodě a mají své místo v potravním řetězci, proto je potřeba kumulované látky sledovat.

Použitou metodiku lze hodnotit jako vhodnou a dostatečnou. Druh *S. woodiana* kumuloval těžké kovy z okolního prostředí do svého organismu. Vysoké množství zinku ve tkáních se shodovalo s jinými výzkumy a ostatní sledované těžké kovy nebyly v prostředí ve zvýšené míře. Tento konkrétní druh mlže je vhodný pro histologický rozbor, vzhledem k neobvyklé velikosti se s ním dobře pracuje. Rozčlenění na jednotlivé orgány bylo nadbytečné až omezující, podle výsledků by stačilo rozdělit jedince na měkké tkáně a lasturu, případně žábry. Neprokázal se ani rozdíl ve velikostních kategoriích, proto bych doporučila srovnávat pouze velikosti maximálně ve dvou kategoriích, nikoliv ve třech. Při návrhu experimentu je také třeba respektovat podmínky uvedené v části 7.2.4, abychom zamezili vlivu vedlejších faktorů. Při respektování těchto doporučení lze druh *S. woodiana* využít pro biomonitoring těžkých kovů a pro hodnocení znečištění vod.



## 8. Závěr

Předložená diplomová práce se věnuje ekotoxikologii mlže *S. woodiana* prostřednictvím pasivního biomonitoringu. Práce studuje škeblici *S. woodiana* jakožto invazní druh, který se rychle šíří nejen českou krajinou. Během výzkumu bylo řešeno, zda tento druh skýtá potenciál sentinelového organismu a zda je vhodný pro hodnocení znečištění vod.

Na základě zjištěných výsledků lze konstatovat, že druh *S. woodiana* těžké kovy ve svých orgánech shromažďoval v míře odpovídající okolnímu znečištění a fyziologickým potřebám. V nejvyšších koncentracích byl kumulován zinek, který je biologicky důležitý prvek potřebný pro správnou funkci metabolismu. Množství ostatních sledovaných kovů bylo podstatně nižší. Míra kumulace zřejmě souvisela s obsahem látek v okolním prostředí. Protože hodnoty kovů ve vodě byly relativně nízké a limitní hodnoty nebyly dosaženy, ukázalo se, že žádná ze zkoumaných lokalit nebyla výrazně znečištěna. Otázkou je, s jakým trendem by vodní organismus kumuloval těžké kovy ve více znečištěném prostředí. Situace, kdy sledujeme bioakumulaci jedinců v prokazatelně toxickém prostředí, může být předmětem dalšího výzkumu.

Co se týče kumulace těžkých kovů do jednotlivých orgánů, bylo zjištěno podobné rozložení ve všech zkoumaných částech těla. Lišila se pouze lastura, která obsahovala signifikantně méně zinku než ostatních orgány. Z tohoto důvodu doporučujeme v budoucích studiích analyzovat dohromady všechny měkké tkáně (žábry, noha, žaludek atd.) a porovnávat je pouze s lasturou, která chrání živočicha před vnějšími vlivy a vykazuje proto jiné vlastnosti.

V práci jsme porovnávali dva toky v povodí řeky Moravy a jeden přilehlý rybník. S výjimkou mědi nebyly mezi těmito lokalitami zjištěny významné rozdíly v obsahu těžkých kovů akumulovaných v mlžích. Akumulovaná měď u jedinců v Hradeckém rybníce vykazovala oproti řece Moravě a Kyjovce nižší koncentrace. Při provedení více opakování bychom mohli odhalit, zda se jednalo o náhodné zvýšení mědi v řekách, nebo šlo o důvodné znečištění. Bylo by také vhodné odebrat vzorky vody pro analýzu ve stejné době, v jaké probíhal odběr jedinců z lokalit. Velikost jedinců mlžů souvisí s jejich věkem a předpokládalo se, že bude prokázán rozdíl v obsahu těžkých kovů u větších a menších jedinců. Vliv velikostí se ovšem v této práci

neprokázal. Je možné, že by se vliv prokázal, kdyby rozdíly mezi velikostními kategoriemi byly větší.

Bylo provedeno také srovnání s jinými druhy měkkýšů používanými pro biomonitoring a druh *S. woodiana* se zdá být přinejmenším stejně vhodným jako ostatní doposud užívané druhy. Při zhodnocení zvolené metodiky jsme doporučili jednotný postup při odběru jedinců a zhodnotili, že *S. woodiana* je dobře využitelný druh pro podobně prakticky orientované experimenty. Závěrem lze konstatovat, že druh *S. woodiana* se prokázal být vhodným bioakumulačním druhem a skýtá potenciál pro biomonitoring a hodnocení kvality a znečištění vod. Možnosti výzkumu tohoto druhu jsou stále nevyčerpané.

## 9. Citované literární zdroje

Ahsanullah M. & Williams A. R. (1991): Sublethal effects and bioaccumulation of cadmium, chromium, copper and zinc in the marine amphipod *Allorchestes compressa*. *Marine Biology* (108): 59–65.

Ahsanullah M., Mobley M. C. & Rankin P. (1988): Individual and combined effects of zinc, cadmium and copper on the marine amphipod *Allorchestes compressa*. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* (1): 33–37.

Aldridge D. C. (1999): The morphology, growth and reproduction of Unionidae (Bivalvia) in a fenland waterway. *Journal of Molluscan Studies* (65): 47–60.

Amiard J. C., Amiard-Triquet C., Berthet B. & Metayer C. (1987): Comparative study of the patterns of bioaccumulation of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) trace metals in various estuarine and coastal organisms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* (106): 73–89.

Beeby A. (1993): The interaction of Pb and Ca assimilation in *Helix aspersa* with wounded shells. *Polish Journal of Environmental Studies* (2): 9–13.

Beeby A. (2001): What do sentinels stand for? *Environmental Pollution* (112): 285–298.

Beran L. (1997): First record of *Sinanodonta woodiana* (Mollusca: Bivalvia) in the Czech Republic. *Acta Societatis Zoologica Bohemicae* (61): 1–2.

Beran L. (2002): Vodní měkkýši České republiky – rozšíření a jeho změny, stanoviště, šíření, ohrožení a ochrana, červený seznam. – Sborník přírodovědeckého klubu v Uh. Hradišti, Supplementum 10.

Beran L. (2008): Expansion of *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) (Bivalvia: Unionidae) in the Czech Republic. *Aquatic Invasions*, (3): 91–94.

Beran L. (2019): Distribution and recent status of freshwater mussels of family Unionidae (Bivalvia) in the Czech Republic. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 420, 45.

Bian X., Hongbo L., Gan J., Li R. & Yang J. (2009): HCH and DDT Residues in Bivalves *Anodonta woodiana* from the Taihu Lake, China. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* (56): 67–76.

Bias R. & Karbe L. (1985): Bioaccumulation and Partitioning of Cadmium within the Freshwater Mussel *Dreissena polymorpha* Pallas. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* (70): 113–125.

Bleeker E. A. J., Kraak M. H. S. & Davids C. (1992): Ecotoxicity of lead to the zebra mussel *Dreissena polymorpha*, Pallas. *Hydrobiological Bulletin* (3): 233–236.

Bondaruk J., Janson E., Wysocka M. & Chałupnik S. (2015): Identification of hazards for water environment in the Upper Silesian Coal Basin caused by the discharge of salt

- mine water containing particularly harmful substances and radionuclide. *Journal of sustainable mining* (14): 179–187.
- Borchardt T., Burchert S., Hablitzel H., Karbe L. & Zeitner R. (1988): Trace metal concentration in mussels: comparison between estuarine, coastal and offshore regions in the southeastern North Sea from 1983 to 1986. *Marine Ecology – Progress Series* (42): 17–31.
- Cain D. J., Luoma S. N. & Wallace W. G. (2004): Linking metal bioaccumulation of aquatic insects to their distribution patterns in a mining-impacted river. *Environmental Toxicology and Chemistry* (23): 1463–1473.
- Camusso M., Balestrini R., Muriano F. & Mariani M. (1994): Use of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* to assess trace metal pollution in the Lower River Po (Italy). *Chemosphere* (29): 729–745.
- Cappelletti C., Cianfanelli S., Beltrami M. E. & Ciutti F. (2009): *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) (Bivalvia: Unionidae): a new non-indigenous species in Lake Garda (Italy). *Aquatic Invasions*, (4): 685–688.
- Cianfanelli S., Lori E. & Bodon M. (2007): Non-indigenous freshwater molluscs and their distribution in Italy – chapter five, 103–121. – In: *Biological invaders in inland waters: profiles, distribution, and threats* (Gherardi F., 2007, Springer).
- Ciftci N., Cicik B., Erdem C., Ay O., Karayakar F. & Karaytug S. (2011): Accumulation of chromium in hepatopancreas, gill and muscle tissues of *Callinectes sapidus*. *Fresenius Environmental Bulletin* (20): 1089–1092.
- Connell D. W. (1995): Prediction of bioconcentration and related lethal and sublethal effects with aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin* (31): 201–205.
- Cummings K. (2011): *Sinanodonta woodiana*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T166313A6198609. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2.RLTS.T166313A6198609.en>. Downloaded on 26 January 2020.
- Demayo C. G., Cabacaba K. M. C. & Torres M. A. J. (2012): Shell shapes of the Chinese pond mussel *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) from Lawis stream in Iligan City and Lake Lanao in Mindanao, Philippines. *Advances in Environmental Biology* (6): 1468–1473.
- Douda K. (2018): Škeblice asijská – černý pasažér mezi jinak ohroženými mlži. *Živa* (5): 254–255. Nakladatelství Academia, SSČ AV ČR, v. v. i., 2018.
- Douda K., Kalous L., Horký P., Slavík O., Velíšek J. & Kolářová J. (2016): Metodika eliminace a prevence šíření invazního druhu škeblice asijská (*Sinanodonta woodiana*) ve vodních ekosystémech a akvakulturních zařízeních ČR. Vyd. 1. Katedra zoologie a rybářství, Česká zemědělská univerzita. Praha.
- Douda K., Vrtílek M., Slavík O. & Reichard M. (2012): The role of host specificity in explaining the invasion success of the freshwater mussel *Anodonta woodiana* in Europe. *Biological Invasions* (14): 127–137.
- Eisler R. (1986): Chromium hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report 85 (1.6).

Eisler R. (1993): Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Washington, DC: US Department of Interior, Fish and Wildlife Service Biological Report (10).

Eisler R. (1997): Copper hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Contaminant Hazard Reviews Report 33. USGS/BRD Patuxent Wildlife Research Center, Laurel. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Biological Science Report USGS/BRD/BSR – 1997-0002.

Eisler R. (1998): Nickel hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Biological Science Report USGS/BRD/BSR—1998-0001.

Eisler R., Zarogian G. E. & Hennekey R. J. (1972): Cadmium uptake by marine organisms. Journal of the Fisheries Research Board of Canada (29): 1367–1369.

Forbes V. E. (1991): Response of *Hydrobia ventrosa* (Montagu) to environmental stress: effects of salinity fluctuations and cadmium exposure on growth. Functional Ecology (5): 642–648.

Goldberg E. D., Bowen V. T., Farrington J. W., Harvey G., Martin J. H., Parker P. L., Risebrough R. W., Robertson W., Schneider E. & Gamble E (1978): The Mussel Watch. Environmental Conservation (5): 101–125.

Guarneri I., Popa O. P., Gola L., Kamburska L., Lauceri R., Lopes-Lima M., Popa L. O. & Riccardi N. (2014): A morphometric and genetic comparison of *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) populations: does shape really matter? Aquatic Invasions (9): 183–194.

Gundacker C. (1999): Tissue specific heavy metal (Cd, Pd, Cu, Zn) deposition in a natural population of Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*, Pallas). Chemosphere (38): 3339–3356.

Gundacker C. (2000): Comparison of heavy metal bioaccumulation in freshwater molluscs of urban river habitats in Vienna. Environmental Pollution (110): 61–71.

Harris J. E., Fabris G. J., Statham P. J. & Tawfik F. (1979): Biogeochemistry of selected heavy metals in Western Port, Victoria and use of invertebrates as indicators with emphasis on *Mytilus edulis planatus*. Australian Journal of Marine and Freshwater Research (30): 159–178.

Horsák M. (2018): Odkud a kdy k nám přišly nepůvodní druhy měkkýšů. Živa (5): 249–250. Nakladatelství Academia, SSČ AV ČR, v. v. i., 2018.

Chau K. W. (2005): Characterization of Transboundary POP Contamination in Aquatic Ecosystems of Pearl River Delta. Marine Pollution Bulletin (51): 960–965.

Chau Y. K. & Kulikovskiy-Cordeiro O. T. R. (1995): Occurrence of nickel in the Canadian environment. Environmental Reviews (3): 95–120.

Jakrlová J. & Pelikán J. (1999): Ekologický slovník terminologický a výkladový. Nakladatelství Fortuna, Praha 1999.

Jamil A., Lajtha K., Radan S., Ruzsa G., Cristofor S. & Postolache C. (1999): Mussels as bioindicators of trace metal pollution in the Danube Delta of Romania. *Hydrobiologia* (392): 143–158.

Jurkiewicz-Karnkowska E. (2002): Differentiation of Phosphorus Concentration in Selected Mollusc Species from the Zegrzynski Reservoir (Central Poland): Implications for P Accumulation in Mollusc Communities. *Polish Journal of Environmental Studeis* (11): 355–359.

Klenovšek D., Govedič M. & Vaupotič M. (2012): Record of the China mussel *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) (Bivalvia: Unionidae) in Slovenia. *Natura Sloveniae* (14): 35–37.

Kostkan V. (2017): Provedení biologického dozoru včetně záchranného transferu při záměru vypuštění jezové zdrže Kroměříž – Závěrečná zpráva.

Kraak M. H. S., Lavy D., Peeters W. H. M. & Davids C. (1992): Chronic Ecotoxicity of Copper and Cadmium to the Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* (23): 363–369.

Kraak M. H. S., Scholten M., Peeters W. H. M. & Chr. de Kock W. (1991): Biomonitoring of Heavy Metals in the Western European Rivers Rhine and Meuse Using the Freshwater Mussel *Dreissena polymorpha*. *Environmental Pollution* (74): 101–114.

Kraak M. H. S., Wink Y. A., Stuijzand S. C., Buckert-de Jong M. C., de Groot C. J. & Admiraal W. (1994): Chronic ecotoxicity of Zn and Pb to the zebra musel *Dreissena polymorpha*. *Aquatic Toxicology* (30): 77–89.

Kraszewski A. (2007): The continuing expansion of *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) (Bivalvia: Unionidae) in Poland and Europe. *Folia Malacologica* (15): 65–69.

Królak E. & Zdanowski B. (2001): The bioaccumulation of heavy metals by the mussels *Anodonta woodiana* (Lea, 1834) and *Dreissena polymorpha* (Pall.) in the heated Konin lakes. *Archives of Polish Fisheries* (9): 229–237.

Królak E. & Zdanowski B. (2007): Phosphorus and calcium in the mussels *Sinanodonta woodiana* (Lea) and *Dreissena polymorpha* (Pall.) in the Konin lakes. *Archives of Polish Fisheries* (15): 287–294.

Królak E., Pyka J. P. & Zdanowski B. (2007): Heavy metals in the Konin lakes system. *Archives of Polish Fisheries* (15): 273–286.

Labecka M. & Domagala J. (2016): Continuous reproduction of *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1824) females: an invasive mussel species in a female-biased population. *Hydrobiologia* (1): 57–76.

Liu H., Chen X., Su Y., Kang I. J., Qiu X., Shimasaki Y., Oshima Y. & Yang J. (2016): Effects of Calcium and Magnesium Ions on Acute Copper Toxicity to Glochidia and Early Juveniles of the Chinese Pond Mussel *Anodonta woodiana*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* (97): 504–509.

- Liu H., Yang J. & Gan J. (2010): Trace Element Accumulation in Bivalve Mussels *Anodonta woodiana* from Taihu Lake, China. *Archives of environmental contamination and toxicology* (59): 593–601.
- Liu W., Zhao J., Ouyang Z., Soderlund L. & Liu G. (2005): Impact of sewage irrigation on heavy metal distribution and contamination in Beijing, China. *Environment International* (31): 805–812.
- Lobel P. B. & Wright D. A. (1982): Relationship Between Body Zinc Concentration and Allometric Growth Measurements in the Mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology* (66): 145–150.
- Lobel P. B., Mogie P., Wright D. A., Wu B. L. (1982): Metal accumulation in four molluscs. *Marine Pollution Bulletin* (13): 170–174.
- Lorencová E., Beran L., Horsáková V. & Horsák M. (2015): Invasion of freshwater molluscs in the Czech Republic: Time course and environmental predictors. *Malacologia* (1): 105–120.
- Lowe T. P. & Day D. D. (2002): Metal Concentrations in Zebra Mussels and Sediments from Embayments and Riverine Environments of Eastern Lake Erie, Southern Lake Ontario, and the Niagara River. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* (43): 301–308.
- Ložek V. (1956): Klíč československých měkkýšů. *Slovenská Akadémia Vied*
- Mader P. & Čurdová E. (1997): Metody rozkladu biologických materiálů pro stanovení stopových prvků. *Chemické Listy* (91): 227–236.
- Manahan S. (2010): *Environmental Chemistry*. 9. edition. London, Great Britain, CRC Press. ISBN 978-1-4200-5920-5.
- Manganelli G., Bodon M., Favilli L., Castagnolo L. & Giusti F. (1998): Checklist delle specie della fauna d'Italia, molluschi terrestri e d'acqua dolce. Errata and addenda, 1. *Bollettino Malacologico* (33): 151–156.
- Markert B. A., Breure A. M. & Zechmeister H. G. (2003): Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. – In: *Bioindicators and Biomonitoring. Principles, concepts and application* (Markert B. A., Breure A. M. & Zechmeister H. G., Elsevier, Oxford: 3–41).
- Markert B., Wappelhorst O., Weckert V., Herpin U., Siewers U., Friese K. & Breulmann G. (1999): The use of bioindicators for monitoring the heavy-metal status of the environment. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* (240): 425–429.
- Meador J. P. (1991): The interaction of pH, dissolved organic carbon, and total copper in the determination of ionic copper and toxicity. *Aquatic Toxicology* (19): 13–32.
- Mertz W. (1981): The Essential Trace Elements. *Science* (213): 1332–1338.
- Newman M. C. & Unger M. A. (2003): *Fundamentals of ecotoxicology*. 2. edition. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida. ISBN 1-56670-598-3.

- Nor Y. (1987): Ecotoxicity of copper to aquatic biota: a review. *Environmental Research* (43): 274–282.
- Novák J. (2004): Třetí potvrzený nález škeblice asijské v ČR. *Živa* (1): 41.
- Oehlmann J. & Schulte-Oehlmann U. (2003): Molluscs as bioindicators. –In: *Bioindicators and Biomonitoring. Principles, concepts and application* (Markert B. A., Breure A. M. & Zechmeister H. G., Elsevier, Oxford: 577–635.
- Orren M. J., Eagle G. A., Hennig H. F.-K. O. & Green A. (1980): Variations in trace metal content of the mussel *Choromytilus meridionalis* (Kr.) with season and sex. *Marine Pollution Bulletin* (11): 253–257.
- Paunović M., Csányi B., Simić V., Stojanović B. & Cakić P. (2006): Distribution of *Anodonta (Sinanodonta) woodiana* (Lea, 1834) in inland waters of Serbia. *Aquatic Invasions* (1): 154–160.
- Phillips D. J. H. (1976): The Common Mussel *Mytilus edulis* as an Indicator of Pollution by Zinc, Cadmium, Lead and Copper. I. Effects of Environmental Variables on Uptake of Metals. *Marine biology* (38): 59–69.
- Pitter P. (1999): *Hydrochemie*. Vyd. 3. Praha: vydavatelství VŠCHT. ISBN 80-03-00525-62.
- Pitter P. (2009): *Hydrochemie*. 4. vydání. Vydavatelství VŠCHT Praha. ISBN 978-80-7080-701-9.
- Pourang N., Richardson C. A. & Mortazavi M. S. (2010): Heavy metal concentrations in the soft tissues of swan mussel (*Anodonta cygnea*) and surficial sediments from Anzali wetland, Iran. *Environmental Monitoring and Assessment* (163): 195–213.
- Qu H., Ma R., Liu D., Jing X., Wang F., Zhou Z. & Wang P. (2016): The toxicity, bioaccumulation, elimination, conversion of the enantiomers of fipronil in *Anodonta woodiana*. *Journal of Hazardous Materials* (312): 169–174.
- Rainbow P. S. (2002): Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution* (120): 497–507.
- Reichard M., Przybylski M., Kaniewska P., Liu H. & Smith C. (2007): A possible evolutionary lag in the relationship between freshwater mussels and European bitterling. *Journal of Fish Biology* (70): 709–725.
- Richman L. & Somers K. (2005): Can we use zebra and quagga mussels for biomonitoring contaminants in the Niagara River? *Water, Air, and Soil Pollution* (167): 155–178.
- Rodríguez J. A., Nanos N., Grau J. M., Gil L. & Lopez-Arias M. (2008): Multiscale analysis of heavy metal contents in Spanish agricultural topsoils. *Chemosphere* (70): 1085–1096.
- Romeril M. G. (1971): The uptake and distribution of <sup>65</sup>Zn in oysters. *Marine Biology* (9): 347–354.



Sárkány-Kiss A. (1986): *Anodonta woodiana woodiana* (Lea, 1834) a new species in Romania (Bivalvia: Unionacea). Extrait des Travaux du Museum d'Histoire naturelle "G. Antipa" (28): 15–17.

Sedlák E. (2002): Zoologie bezobratlých. Vyd. 2. Brno: MU v Brně. ISBN 80-210-2892-0.

Sokolowski A., Bawazir A. S. & Wolowicz M. (2004): Trace Metals in the Brown Mussel *Perna perna* from the Coastal Waters Off Yemen (Gulf of Aden): How Concentrations Are Affected by Weight, Sex, and Seasonal Cycle. Archives of Environmental Contamination and Toxicology (46): 67–80.

Soroka M., Urbańska M., & Andrzejewski W. (2014): Chinese pond mussel *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) (Bivalvia): origin of the Polish population and GenBank data. Journal of Limnology (3): 454–458.

Soto M., Kortabitarte M., Marigomez I. (1995): Bioavailable heavy metals in estuarine waters as assessed by metallshell-weight indices in sentinel mussels *Mytilus galloprovincialis*. Marine Ecology Progress Series (125): 127–136.

Spyra A., Jędraszewska N., Strzelec M. & Krodkiewska M. (2016): Further expansion of the invasive mussel *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) in Poland – establishment of a new locality and population features. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems, 417, 41.

Šefrová H. & Laštůvka Z. (2005): Catalogue of alien animal species in the Czech Republic. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis (4): 151–170.

Tölgyessy J. a kolektív (1989): Chémia, biológia a toxikológia vody a ovzdušia. 2. vydání. VEDA, vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, Bratislava. ISBN: 80-224-0034-3.

Towill L. E., Shriner C. R., Drury J. S., Hammons A. S. & Holleman J. W. (1978): Reviews of the environmental effects of pollutants: III chromium. U.S. Environ. Protection Agency Rep. 600/1-78-023.

Uno S., Shiraishi H., Hatakeyama S., Otsuki A. & Koyama J. (2001): Accumulative Characteristics of Pesticide Residues in Organs of Bivalves (*Anodonta woodiana* and *Corbicula leana*) Under Natural Conditions. Archives of Environmental Contamination and Toxicology (40): 35–47.

Vinot I. & Pihan J. C. (2005): Circulation of copper in the biotic compartments of a freshwater dammed reservoir. Environmental Pollution Pages (133): 169–182.

Voets J., Redekera E. S., Blust R. & Bervoets L. (2009): Differences in metal sequestration between zebra mussels from clean and polluted field locations. Aquatic Toxicology (93): 53–60.

Welter-Schultes F. W. (2012): European non-marine molluscs, a guide for species identification. Göttingen (Planet Poster Editions).

Wiesner L., Günther B. & Fenske C. (2001): Temporal and spatial variability in the heavy metal content of *Dreissena polymorpha* (Pallas) (Mollusca: Bivalvia) from the Kleines Haff (northeastern Germany). *Hydrobiologia* (443): 137–145.

Yang J., Harino H., Liu H., Miyazaki N. (2008): Monitoring the organotin contamination in the Taihu Lake of China by bivalve mussel *Anodonta woodiana*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* (81): 164–168.

Yang J., Wang H., Zhu H., Gong X. & Yu R. (2005): Bioaccumulation of heavy metals in *Anodonta woodiana* from Wulihu area of Taihu Lake. *Resources and Environment in the Yangtze Valley* (14): 362–366.

Zarull M. A., Hartig J. H., Krantzberg G., Burch K., Cowgill D., Hill G., Miller J. & Sherbin I. G. (1999): Contaminated Sediment Management in the Great Lakes Basin Ecosystem. *Journal of Great Lakes Research* (25): 412–422.

Zhong H., Kraemer L. & Evans D. (2013): Influence of body size on Cu bioaccumulation in zebra mussels *Dreissena polymorpha* exposed to different sources of particle-associated Cu. *Journal of Hazardous Materials* (261): 746–752.

#### **Internetové zdroje:**

WWW1: <https://www.iucnredlist.org/species/166313/6198609>

WWW2: <https://www.britannica.com/science/biomonitoring>

WWW3: <https://mapy.cz/turisticka>

#### **Ostatní zdroje:**

ČSN 75 7221. Kvalita vod – Klasifikace kvality povrchových vod. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2017.

Nařízení vlády č. 401/2015 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, ve znění pozdějších předpisů.

Vyhlášky č. 395/1992 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona České národní rady č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny, ve znění pozdějších předpisů.

Zákon č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny, ve znění pozdějších předpisů.