

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra zoologie a rybářství



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Dynamika toku karbamazepinu v systému „voda-sediment“ za přítomnosti mlžů

Bakalářská práce

Nathalie Andrlová
Ochrana krajiny a využívání přírodních zdrojů

Ing. Karel Douda, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Dynamika toku karbamazepinu v systému „voda-sediment“ za přítomnosti mlžů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 22.4.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu své bakalářské práce, Ing. Karlovi Doudovi, Ph.D. za jedinečnou příležitost podílet se na laboratorním experimentu a za zasvěcení do dané problematiky. Dále mé díky patří Ing. Filipu Merclovi, Ph.D. za analýzu vzorků CBZ. V neposlední řadě mnohokrát děkuji Ing. Vojtěchu Barákovi, a to nejen za spolupráci při získávání dat pro výzkumnou část práce, ale především za věcné připomínky, trpělivost a ochotu, která mi byla při psaní práce velkou oporou.

Dynamika toku karbamazepinu v systému „voda-sediment“ za přítomnosti mlžů

Souhrn

Léčiva vstupují do prostředí v enormním množství v důsledku jejich použití a likvidace, a představují globální hrozbu pro zdraví ekosystémů i člověka. Karbamazepin (CBZ) patří mezi často se vyskytující léčiva ve sladkovodním prostředí v důsledku výtoků z čistíren odpadních vod. Lze jej nalézt ve volné vodě i v sedimentu vodních útvarů. Zde žijí bentické organismy včetně filtrujících mlžů jako významných ekosystémových inženýrů. Výzkum se zaměřuje na sledování vlivu CBZ na mlže. Role přepracování sedimentu a vlivu bioturbace na chování CBZ dosud nebyla vyhodnocena, ačkoliv mlži jsou typickými bioturbátory ovlivňujícími transport kyslíku, živin a kontaminantů. Významnou roli v tomto procesu mohou hrát i invazní druhy.

Cílem této práce bylo charakterizovat na základě literární rešerše chování kontaminantů ve vodním prostředí s biologickým efektem bentických organismů. V rámci laboratorního experimentu bylo provedeno vyhodnocení transportu referenčního (NaCl , NaNO_3) a cílového (CBZ) kontaminantu a jejich časoprostorové distribuce mezi volnou a podpovrchovou vodou. V kádinkách experimentálního PFT systému na rozhraní voda-sediment se vyskytovali zástupci dvou invazních druhů mlžů (dva jedinci *Sinanodonta woodiana* nebo deset jedinců *Corbicula fluminea*).

V prostředí volné vody došlo k výraznému zvýšení hodnot látek těsně po jejich aplikaci do kádinek. Snížení zatížení v průběhu dílčích 48-hodinových experimentů bylo zapříčiněno zejména ředěním v rámci PFT systému. Tento proces probíhal také v pórové vodě, nicméně mnohem významněji se zde projevil biologický efekt mlžů. Bioturbační aktivita infaunálního mlže *C. fluminea* měla za následek vyšší tok kontaminantů z vody do sedimentu po uplynutí několika hodin od začátku experimentů. V důsledku zvýšené prostupnosti rozhraní voda-sediment se zároveň zvyšoval i ředící efekt, a proto byly koncentrace látek ve volné a pórové vodě na konci experimentu podobné. Bioturbační aktivita epifaunálního mlže *S. woodiana* se projevila méně zřetelně, a navíc byla ovlivněna daným kontaminantem. Zatímco v přítomnosti NaCl byl pohyb látky v čase podobný jako v případě *C. fluminea*, dynamika toku dalších kontaminantů (NaNO_3 , CBZ) se naopak více blížila situaci bez mlžů.

Tyto poznatky by mohly být využity při hodnocení ekosystémových služeb bioturbátorů a vlivu invazních druhů na organismy žijící uvnitř dna vodních útvarů (včetně juvenilních mlžů). Toky kontaminantů v prostředí by bylo možné sledovat jak z volné vody do sedimentu, tak v opačném směru, přičemž by měly být zkoumány při vícenásobném výskytu znečišťujících látek jako v reálném prostředí.

Klíčová slova: léčiva, invazní druhy, filtrátoři, kyslík, *Corbicula* sp., *Dreissena* sp., *Sinanodonta* sp.

Carbamazepine flow dynamics in the "water-sediment" system with bivalve occurrence

Summary

Pharmaceuticals enter into the environment in enormous quantities as a result of their use and disposal, and pose a global threat for ecosystems and human health. Carbamazepine (CBZ) is one of pharmaceutically active compounds commonly found in the freshwaters via sewage treatment plant effluents. It can be found both in the open water and sediment of water bodies where benthic organisms including bivalves (= filter-feeders, important ecosystem engineers) live. Research work is focused on investigation of effects of CBZ on bivalves. Role of sediment reworking and effects of bioturbation on CBZ behavior has not been assessed up to now, although bivalves are typical bioturbators affecting transport of oxygen, nutrients and contaminants. Invasive species can play an important role in the process of bioturbation.

The objective of this study was to characterize contaminant flow dynamics in the water environment with biological effect of benthic organisms (based on literature review). Within lab experiment, transport of reference (NaCl, NaNO₃) and target (CBZ) contaminants and their spatiotemporal distribution between surface and subsurface water were assessed. In the experimental PFT (pulsed flow-through auto-feeding beaker) system, specimens of two invasive bivalve species (two individuals of *Sinanodonta woodiana* or ten individuals of *Corbicula fluminea*) occurred at the water-sediment interface.

Considerable increase in contaminant concentrations in the surface water was recorded close to time of their application into the beakers. Reduction of loading during subexperiments (48 h.) was caused mainly by dilution within PFT system. This process ran also in the pore water but biological effect of bivalves became evident much more there. Bioturbation activity of infaunal bivalves (*C. fluminea*) induced higher flow of contaminants from surface water into sediment after few hours from start of experiments. At the same time, dilution effect was more significant as a result of higher permeation rate of water-sediment interface. Thus, contaminant concentrations both in the surface and subsurface water were similar at the end of experiments. Bioturbation activity of epifaunal bivalves (*S. woodiana*) was less obvious and affected by type of contaminant. Transport of salt during NaCl test within the beakers with occurrence of both bivalve species was similar; however, flow dynamics of other contaminants (NaNO₃, CBZ) came close to situation with no bivalves.

These findings could be used during assessments of ecosystem services provided by bioturbators and effects of invasive species on aquatic organisms living inside the bottom of water bodies (including juvenile mussels). Flow dynamics of contaminants from open water to sediment and *vice versa* could be investigated, and real multiple-contaminant exposure should be also examined.

Keywords: pharmaceuticals, invasive species, filter-feeders, oxygen, *Corbicula* sp., *Dreissena* sp., *Sinanodonta* sp.

Obsah

1	Úvod	7
2	Cíl práce.....	8
3	Literární rešerše.....	9
3.1	Karbamazepin (CBZ)	9
3.1.1	Charakteristické vlastnosti.....	9
3.1.2	Výskyt ve vodním prostředí.....	10
3.1.3	Chování ve volné vodě a při průchodu sedimentem.....	12
3.2	Mlži.....	14
3.2.1	Charakteristické vlastnosti.....	14
3.2.2	Invazní druhy	15
3.2.3	Role v ekosystému.....	18
3.3	Bentos a dynamika polutantů na rozhraní voda-sediment	19
3.3.1	Polutanty a bioakumulace.....	19
3.3.2	Polutanty a bioturbace	20
4	Metodika	22
4.1	Experiment v prostorovém měřítku	22
4.1.1	Experimentální systém.....	22
4.1.2	Experimentální jedinci.....	24
4.2	Experiment v časovém měřítku	24
4.2.1	Aklimatizace	24
4.2.2	Test NaCl	25
4.2.3	Test NaNO ₃	25
4.2.4	Test CBZ.....	26
4.3	Zpracování dat	26
4.3.1	Statistické analýzy	26
5	Výsledky.....	27
5.1	Pre-test NaCl	27
5.2	Pre-test NaNO₃	30
5.2.1	Hodnocení měření konduktivity	30
5.2.2	Hodnocení měření NO ₃ -N	33
5.3	Test CBZ	35
6	Diskuze	36
6.1	Bioturbace mlžů a polutanty ve vodním prostředí	36
6.2	Bioturbace vodních organismů a polutanty v prostředí.....	38
7	Závěr	40
8	Literatura.....	41

1 Úvod

Léčiva neustále vstupují do přírodního prostředí v enormním množství v důsledku jejich výroby, používání a likvidace (Daughton & Ternes 1999; Kolpin et al. 2002), a tak představují globální hrozbu pro zdraví ekosystémů i člověka (Wilkinson et al. 2022). Jejich využití k prevenci, diagnostice a léčbě nemocí je velice časté (Daughton 2003; Alder et al. 2006). Jen v Evropské unii se denně spotřebují miliony balení desetitisíců různých léčivých přípravků, jež obsahují okolo 3000 různých účinných látek. Navíc spotřeba léčiv stále stoupá (Kožíšek & Čadek 2008). Mnoho léčiv přitom není zcela eliminováno při průchodu lidským tělem, často jsou vylučována pouze v mírně transformované podobě nebo dokonce nezměněna (Heberer 2002; Heberer et al. 2002; Quinn et al. 2008; Freitas et al. 2015).

Rozsáhlý výzkum výskytu léčiv v prostředí začal v 90. letech 20. století, kdy byly vyvinuty analytické metody umožňující jejich stanovení ve vodním prostředí. Široké rozpětí léčiv a jejich metabolitů zde bylo zjištěno až na úrovni $\mu\text{g/l}$, přičemž jejich výskyt byl potvrzen jak v odpadní, povrchové a podzemní, tak i v pitné vodě (Heberer 2002; Löffler et al. 2005; Stuart et al. 2012; Aguirre-Martínez et al. 2015). Potenciální nepříznivé působení léčiv na organismy včetně člověka jsou příčinou rostoucího zájmu o jejich výzkum ve sladkovodním prostředí (Hughes et al. 2012; Evgenidou et al. 2015; Gavrilescu et al. 2015).

Karbamazepin (CBZ) patří mezi nejčastěji detekované farmaceuticky aktivní látky (Ferrer & Thurman 2012; Luo et al. 2014; Prosser & Sibley 2015) a zpravidla dosahuje vyšších koncentrací oproti jiným léčivům, což lze vysvětlit jeho odolností a relativně vysokým předepisovaným objemem (Cunningham et al. 2010). Nejnovější studie Wilkinson et al. (2022) se zaměřuje na hodnocení znečištění řek léčivy (včetně CBZ) na všech kontinentech, přičemž se zde uvádí, že je třeba se zabývat i dalšími environmentálními médiemi, jakými jsou např. sediment, půda a biota. Kondor et al. (2022) přitom zjistili, že karbamazepin je léčivem s nejvyšší koncentrací v sedimentech malých vodních toků.

Právě na dně tekoucích (a stojatých) vod žije početná skupina bentických organismů, mezi něž patří také mlži (Lemer et al. 2019). Jde o velice významnou součást sladkovodních ekosystémů. Mlži patří mezi organismy vytvářející, modifikující a udržující daný habitat, a souhrnně se označují jako tzv. ekosystémoví inženýři (Gutiérrez et al. 2003). Jsou spojovacím článkem mezi prostředím volné vody a sedimentem (Hakenkamp & Palmer 1999; Bruesewitz et al. 2008; Zhang et al. 2011; Turek & Hoellein 2015). Zároveň se však jedná o jednu z nejohroženějších skupin organismů, přičemž mezi hlavní hrozby náleží znečištění prostředí a šíření invazních druhů (Lopes-Lima et al. 2014).

Výzkum se většinou zaměřuje na sledování účinků vlivů kontaminantů včetně CBZ na mlže, zejména na mořské druhy (např. Almeida et al. 2014; Freitas et al. 2015; Oliveira et al. 2017) a méně již na sladkovodní druhy (např. Aguirre-Martínez et al. 2015). Naopak hodnocení vlivu pohybové aktivity mlžů na chování karbamazepinu ve volné vodě a/nebo sedimentu dosud nebylo provedeno, ačkoli tyto organismy patří mezi typické bioturbátory (tj. organismy se schopností přepracování sedimentu; McCall et al. 1979). Bioturbační aktivita přitom může usnadnit šíření kontaminantů z povrchové do podzemní vody (Nogaro & Mermilliod-Blondin 2009), zejména v případě vysoké početnosti hrabajících organismů. V tomto případě mohou hrát významnou roli invazní druhy, mezi něž patří i mlži, jako např. *Corbicula fluminea* a *Sinanodonta woodiana* (Kraszewski & Zdanowski 2007; Beran 2018).

2 Cíl práce

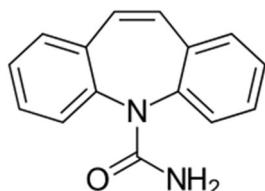
Hlavním cílem této práce bylo charakterizovat na základě literární rešerše chování kontaminantů ve vodním prostředí s biologickým efektem bentických vodních organismů. Mezi dílčí cíle patřila bližší poznání transportu referenčního (NaCl) a cílového (léčiva karbamazepinu) kontaminantu a vyhodnocení jejich časoprostorové distribuce mezi volnou a pod povrchovou vodou, přičemž byl zohledněn výskyt bentických druhů (mlžů) na tomto rozhraní.

3 Literární rešerše

3.1 Karbamazepin (CBZ)

3.1.1 Charakteristické vlastnosti

Karbamazepin (5H-dibenzo[b,f]azepin-5-karboxamid) je tricyklické antiepileptikum ze skupiny iminostilbenů (viz obr. 1; McNamara 2001), jež bylo poprvé syntetizováno v roce 1953 (Brodie 2010). Působí na centrální nervovou soustavu (Khetan & Collins 2007); terapeutický mechanismus je spojen především s blokací aktivity iontových (sodíkových) kanálů na membránách buněk, jež je dlouhodobě spojována s neurologickými poruchami (Deckers et al. 2000; Czapinski et al. 2005; Lo 2014; Wang et al. 2017). Jde o zavedený lék pro léčbu epilepsie (typu „grand mal“ a psychomotorické epilepsie) a je účinný i při léčbě neuralgie trojklanného nervu. Dále se používá při bipolární depresi či jiných psychotických poruchách (Clara et al. 2004; Cunningham et al. 2010; Banzhaf et al. 2012). Prodává se pod různými názvy, jako např. Epitol, Carbatrol nebo Tegretol (Thacker 2005; Zhang et al. 2008). Standardní denní dávka pro dospělé pacienty činí 800-1200 mg, může však dosáhnout až 2000 mg (Thacker 2005). Údaje o spotřebě CBZ v Evropě lze nalézt v práci Fent et al. (2006), k dispozici jsou také novější data napříč celým světem (Yan et al. 2014; Hai et al. 2018). Zhang et al. (2008) uvádí, že roční spotřeba karbamazepinu na světě dosahuje 1014 t, nicméně vzhledem k nárůstu spotřeby léčiv lze předpokládat zvýšení této hodnoty během uplynulých 15-20 let.



Obr. 1. Molekulární struktura CBZ (Khetan & Collins 2007)

Přibližně 72 % perorálně podaného karbamazepinu se adsorbuje v lidském těle a zbylých 28 % se vyloučí stolicí (Smith et al. 2009). Poté, co je adsorbován, dojde k jeho metabolizaci v játrech (Khetan & Collins 2007; Zhang et al. 2008): cca 3 % dávky se vylučuje v nezměněné podobě (Thacker 2005). Metabolity, jako např. 10,11-dihydro-10,11-epoxykarbamazepin (CBZ-epoxid) či *trans*-10,11-dihydro-10,11-dihydroxykarbamazepin (CBZ-diol; Reith et al. 2000), jsou nakonec vyloučeny močí (Zhang et al. 2008).

Karbamazepin vykazuje řadu nežádoucích účinků závislých na dávkování, jež pravděpodobně souvisejí s mechanismem jeho působení. Mezi typické potíže patří závratě, ospalost, třes, ataxie (porucha koordinace pohybů), diplopie (dvojité vidění), oscilosie (rozmazané vidění) či zvracení (Brodie 2017). Bylo zjištěno, že pro nosiče genetického markeru HLA-B*1502 (běžného v čínské, thajské a malajské populaci) existuje zvýšené riziko závažných kožních onemocnění vyvolané karbamazepinem (Tangamornsuksan et al. 2013). Karbamazepin je pravděpodobně málo významným teratogenem s nízkým a na dávce závislým rizikem vzniku vrozených vývojových vad (2,6-5,6 %; Mari et al. 2022).

Základní fyzikálně-chemické vlastnosti karbamazepinu jsou shrnuty v tab. 1. Jde o málo rozpustnou látku (Halling-Sørensen et al. 1998; Kasim et al. 2004) s mírnou hydrofobicitou (vyjádřenou jako $\log K_{ow}$), jež se běžně vyskytuje v prostředí v nepolární formě (vyjádřeno jako pK_a). Hodnoty $\log K_{ow}$ se mění v závislosti na charakteru prostředí a často se uvádí pro $pH = 7$. Jak uvádí Krascsenits et al. (2008), látky se stávají negativně nabité (tzn. dochází k deprotonizaci), pokud $pH > pK_a$. Vzhledem k velmi vysoké hodnotě pK_a pro CBZ, dosahující horní hranice pH , lze považovat CBZ za neutrální látku, a tudíž $\log K_{ow} = \log K_{ow(pH=7)}$. Nicméně Kasim et al. (2004) uvádějí hodnotu $pK_a = 7$ a v tomto případě by se karbamazepin v reálných podmírkách mohl chovat jako polární látka (Fent et al. 2006). Někteří autoři toto tvrzení podporují tím, že karbamazepin označují jako hydrofilní látku vzhledem k tomu, že $\log K_{ow}$ bývá menší než 2,5-2,6 (Ying et al. 2009; Rauch-Williams et al. 2010; Yan et al. 2014), resp. 4,5 (Gioia & Dachs 2012). Jelikož však hodnoty $\log K_{ow}$ mohou být i vyšší (viz tab. 1), charakteristika látky (hydrofobní či hydrofilní) není jednoznačná.

Tab. 1. Vybrané charakteristiky karbamazepinu (CAS = Chemical Abstracts Service)

Číslo CAS	298-46-4	Daughton & Ternes 1999
Chemický vzorec	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	Daughton & Ternes 1999
Molekulární hmotnost (g/mol)	236,3	Daughton & Ternes 1999
Rozpustnost ve vodě (mg/l)	17,7 (při 25 °C)	Wishart et al. 2006
pK _a	13,9	Jones et al. 2002
$\log K_{ow}$ ¹	1,51-2,93 (většinou se uvádí 2,45)	Jones et al. 2002; Ferrari et al. 2003; Kasim et al. 2004; Scheytt et al. 2005; Cunningham et al. 2010

3.1.2 Výskyt ve vodním prostředí

Hlavní zdroj znečištění prostředí léčivy a jejich metabolity představují čistírny odpadních vod (ČOV) (Daughton & Ternes 1999; Clara et al. 2004; Brun et al. 2006; Quinn et al. 2008), neboť běžné konvenční ČOV nejsou schopny odstranit tyto specifické látky (Ternes 1998; Doll & Frimmel 2003; Zhang et al. 2008; Ying et al. 2009; Alvarino et al. 2014; Hai et al. 2018). Ternes (1998) a Joss et al. (2005) uvádějí, že míra odstranění karbamazepinu je nízká (<10 %), přičemž CBZ byl zaznamenán ve výtocích z ČOV napříč Evropou (Ternes 1998; Ferrari et al. 2003; Clara et al. 2004) i jinde ve světě (USA, Kanada, Austrálie, Čína, Japonsko a Jižní Korea; Zhang et al. 2008; Ying et al. 2009; Yuan et al. 2013; Yan et al. 2014). Značně odlišné výsledky při čištění odpadních vod zmiňují Han et al. (2006), když míra odstranění CBZ v Jižní Koreji dosáhla 91,3 %, nicméně relativně vysoká účinnost tamních ČOV byla zaznamenána pro většinu léčiv. K obecně nízké účinnosti procesů využívaných na ČOV přispívá fakt, že se CBZ významně neadsorbuje na pevné částice (Evgenidou et al. 2015) a při kontaktu s čistírenským kalem dochází k odstranění sorpcí jen v omezené míře (do 20 %) (Ternes et al. 2004; Zhang et al. 2008; Jelic et al. 2012; Wijekoon et al. 2013). Mezi účinnější metody čištění odpadních vod

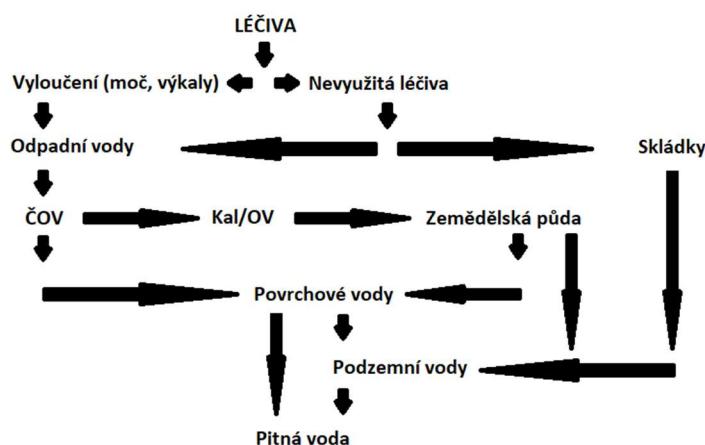
¹ K_{ow} = rozdělovací koeficient oktanol/voda (vyšší hodnoty jsou typické pro hydrofobní látky, jež jsou více rozpustné v oktanolu než ve vodě; Jjemba 2006)

patří nanofiltrace a reverzní osmóza (Bellona et al. 2008; Radjenovic et al. 2008) či procesy využívající aktivní uhlí (více viz Hai et al. 2018).

Na ČOV přitékají odpadní vody zatížené léčivy z domácností i nemocnic, přičemž tyto látky a jejich metabolity pocházejí buď z lidského organismu, nebo jsou v nezměněné podobě (nevyužité či prošlé léky) splachovány do záchodu nebo umyvadla (Bound & Voulvoulis 2005; Han et al. 2006; Zhang et al. 2008; Lapworth et al. 2012; Luo et al. 2014). Nemocniční zařízení mohou být významným zdrojem léčiv. Na ČOV, jež čistí odpadní vody z domácností a pěti nemocnic, pocházelo 26 % CBZ z prostředí lékařské péče (Heberer & Feldmann 2005). Nevyužité či prošlé léky se mohou jako součást odpadu dostat do vody i nepřímou cestou, a to při ukládání na skládkách, jejichž nedostatečné zabezpečení může způsobit průsak do podzemních vod (Bound & Voulvoulis 2005; Khetan & Collins 2007; Quinn et al. 2008; Zhang et al. 2008).

Vodní prostředí může být kontaminováno nejen bodovými, ale také plošnými zdroji znečištění. Typickým příkladem jsou zemědělské plochy s aplikovaným kalem z ČOV či plochy zavlažované přečištěnou odpadní vodou, přičemž léčiva mohou být po srážkové události splavena do řek a potoků (Ternes 2001). Tyto vody se břehovou infiltrací dostávají do sedimentů a znehodnocují podzemní vody (Han et al. 2006; Zhang et al. 2008). Léčiva mohou do podzemních vod pronikat i přímou cestou – průsakem půdním profilem (z čistírenského kalu a/nebo odpadních vod využitých při umělé infiltraci) (Ternes 2001; Kinney et al. 2006; Zhang et al. 2008). Bylo prokázáno, že CBZ proniká do povrchových a podzemních vod všemi třemi popsanými cestami (Drewes et al. 2003; Heberer et al. 2004; Pedersen et al. 2005; Monteiro & Boxall 2009).

Karbamazepin se tedy může dostat do povrchových a podzemních vod (Heberer et al. 2002; Drewes et al. 2003; Clara et al. 2004; Stuart et al. 2012; Arlos et al. 2015) i do sedimentů (Kondor et al. 2022), již byl detekován dokonce v mořské vodě (Wiegel et al. 2001). Vzorkování odhalilo jeho přítomnost také v pitné vodě (Ternes 2001; Stackelberg et al. 2004; Rabiet et al. 2006; Kožíšek et al. 2013), neboť úpravny vody (ÚV) stejně jako ČOV často nedokáží léčiva účinně odstranit (Khetan & Collins 2007). Zdroje léčiv využívaných lidmi a jejich transport v prostředí popisuje obr. 2.



Obr. 2. Osud léčiv v prostředí (OV = odpadní vody)
(autor: Vojtěch Barák; upraveno dle Halling-Sørensen et al. 1998)

Koncentrace CBZ ve výtocích z ČOV a vodním prostředí obecně dosahují hodnot v řádech ng/l až µg/l (Heberer 2002; Fent et al. 2006; Zhang et al. 2008; Wick et al. 2009; Alvarino et al. 2014). Ternes (1998) při monitoringu 30 ČOV v Německu zaznamenal max. koncentraci karbamazepinu 6,3 µg/l. V povrchových, resp. podzemních vodách jsou běžně detekovány nižší hodnoty: max. 1,1 µg/l (Heberer et al. 2002; Německo), resp. 3,6 µg/l (Stuart et al. 2012; Velká Británie). Nicméně jak uvádějí Ferrari et al. (2003) či Hernando et al. (2006), léčiva jako karbamazepin představují vážnou hrozbu pro vodní prostředí zejména v případě, pokud jsou přečištěné odpadní vody vypouštěny do recipientu bez ředění. Malé toky s velkým množstvím vody dodávané z ČOV mohou být velmi zatíženy CBZ (Daughton & Ternes 1999; Heberer et al. 2002; Cleuvers 2003), jak dokládají měření v povodí řeky Labe (tok Wiesenbach: medián 0,6 µg/l, max. 7,1 µg/l; Wiegel et al. 2004). Nejnovější data dokládají, že koncentrace CBZ mohou být ještě vyšší: Wilkinson et al. (2022) na toku La Senne River (Belgie) naměřili hodnotu 10,3 µg/l, vzorkování urbanizovaných toků v Budapešti a okolí (Maďarsko) odhalilo dokonce 58,9 µg/l (Kondor et al. 2022).

3.1.3 Chování ve volné vodě a při průchodu sedimentem

Řada autorů se zabývá zkoumáním osudu léčiv při čištění odpadních vod, v povrchových vodách a půdách či během infiltracních procesů (více viz Löffler et al. 2005).

Hlavními procesy eliminace léčiv ve vodě jsou biodegradace, sorpce a fotodegradace (Lam et al. 2004; Khetan & Collins 2007). Wiegel et al. (2004) provedli rozsáhlé celoroční vzorkování v podélném profilu řeky Labe protékající Saskem (170 km délky) a ve všech 353 vzorcích říční vody naměřili koncentraci CBZ v rozsahu 20 až 300 ng/l. Fernández et al. (2010) se zaměřili na různá roční období a v říčním systému Henares-Jarama-Tajo (Španělsko; 130 km délky) zjistili obdobné hodnoty (0,3-104 ng/l): nejnižší koncentrace byly dosaženy při zimním odběru (v důsledku ředění v období bohatém na srážky). Zhao et al. (2010) srovnávali hodnoty v suchém a vlhkém období v systému řek Liuxi, Zhujiang a Shijing (Čína). Hodnoty CBZ na 150 km délky toků byly nižší oproti předchozím pracím (max. 43 ng/l), přičemž nevykazovaly výrazné známky sezónní variability. Arlos et al. (2015) zkoumali časoprostorovou distribuci léčiv v povodí toku Grand River (Kanada). Vzorkování v podélném profilu za nízkých letních průtoků odhalilo, že ačkoli koncentrace CBZ v povrchové vodě jsou relativně nízké, jedná se o perzistentní látku. Karbamazepin totiž nepodléhá degradaci a přetrvává ve vodním toku i ve vzdálenosti 27 km od významného zdroje znečištění (ČOV). Velice nízkou míru degradace CBZ ve stojatých vodách již dříve prokázali Tixier et al. (2003) v práci zaměřené na povodí jezera Greifensee (Švýcarsko), napájeného několika přítoky a výtoky z ČOV. Množství CBZ ve vodním sloupci dosahovalo ve srovnání s dalšími léčivy několikanásobných hodnot (to platí jak pro simulované, tak naměřené koncentrace), přičemž snížení zatížení během tříměsíčního výzkumu bylo zapříčiněno zejména odtokem z jezera.

Výzkumem degradace karbamazepinu v laboratorních podmínkách se zabývala řada autorů, zaměřující se zejména na proces fotodegradace. Bylo zjištěno, že fototransformaci (jak přímé, tak nepřímé fotochemické reakci) ve vodě podlehá obtížně ve srovnání s ostatními léčivy (Vione 2021). Degradaci látky může zvýšit přítomnost organické hmoty (Doll & Frimmel 2003) či nízké pH v kombinaci s absencí rozpuštěného kyslíku (Calisto et al. 2011). Hodnota DT₅₀ (tj. času potřebného pro pozvolnou ztrátu látky ve výši 50 % počáteční koncentrace) dosáhla 100

dní (Andreozzi et al. 2003), v rámci mikrokosmového experimentu pod širým nebem pak 82 dní (Lam et al. 2004).

Drewes et al. (2003) a Clara et al. (2004) sledovali chování CBZ při infiltraci přečištěných odpadních vod a jejich vzorkování podzemní vody ukázalo, že došlo jen k mírnému poklesu koncentrace léčiva (přisuzovanému spíše efektu ředění než degradaci nebo adsorpce). Ke stejnemu závěru došli při zkoumání transportu karbamazepinu při břehové infiltraci i Heberer et al. (2004). Tyto výsledky i v prostředí podzemních vod potvrzují, že karbamazepin je velice perzistentní látkou, jak už dříve naznačili Preuß et al. (2001). Z tohoto důvodu lze uvažovat o karbamazepinu jako o vhodném markeru antropogenního znečištění vodního prostředí (Clara et al. 2004), což později zmiňují i Heberer et al. (2004), Ying et al. (2009) či Hai et al. (2018).

Oppel et al. (2004) se zabývali průsakem léčiv (včetně CBZ) v laboratorním experimentu s válci naplněnými půdou, zavlažovanou umělým deštěm. Bez ohledu na množství organické hmoty v půdě nebyl karbamazepin v průsacích zjištěn. Ačkoli autoři využili svrchní vrstvy půdy (a upozorňují, že přenositelnost výsledků pro spodní vrstvy je potřeba brát s rezervou), Monteiro a Boxall (2009) v podobném typu prostředí nezjistili významnou degradaci CBZ. Roli může hrát odlišný design, zejména co se týče typu experimentálního zařízení/nádoby a tloušťky vrstvy půdy.

Data z prostředí sladkovodních sedimentů byla až donedávna nedostatečná (Díaz-Cruz et al. 2003; Thacker 2005). Löffler et al. (2005) zkoumali biodegradabilitu léčiv v baňkách vyplněných říčním sedimentem (s převahou písku) a říční vodou. Hodnota DT₅₀ pro CBZ dosáhla 328 dní v systému voda/sediment (47 dní pouze ve volné vodě): tato vysoká stabilita odpovídá odolnosti látky vůči degradaci. Krascenits et al. (2008) sledovali sorpční a desorpční chování léčiv v říčním sedimentu podobné zrnitosti, k čemuž využili centrifugační zkumavky. Na základě hodnot koeficientu K_d (vyjadřujícího míru sorpce) označili CBZ jako látku s vysokou mírou sorpce a nízkou mírou desorpce. I přes nízkou mobilitu však může CBZ představovat environmentální hrozbu s ohledem na zvýšenou perzistence v prostředí. Navíc rozptětí koeficientu bývá široké, což je patrně zapříčiněno různými sorpčními vlastnostmi pevné matrice (Löffler et al. 2005). Jak však uvádí Kieck et al. (2020), sorpční koeficienty ze statických testů by měly být vzhledem k podmínkám při provádění hodnoceny s opatrností.

Větší vypovídající hodnotu oproti výše uvedeným experimentům mají tzv. „column studies“, jež využívají válce, obvykle naplněné propustným písčitým sedimentem. Těmito válci protéká přečištěná odpadní voda (stejně jako v případě umělé infiltrace; Scheytt et al. 2006; Patterson et al. 2010; Rauch-Williams et al. 2010; Patterson et al. 2011), povrchová voda (simulace infiltrace do břehů/dna; Müller et al. 2013) nebo také uměle připravená podzemní voda (simulace pohybu ve zvodnělé vrstvě sedimentu; Hebig et al. 2017). Po přidání roztoku léčiv se sleduje jejich chování při transportu válcem. Scheytt et al. (2006) prováděli experiment za nenasycených podmínek, přičemž CBZ vykazoval nižší míru degradace a sorpce (retardační faktor R = 1,84) oproti dříve zkoumaným nasyceným podmínkám (R = 2,8; Mersmann et al. 2002). To může být důvodem, proč je ve vzorcích podzemní vody CBZ nalézán na rozdíl od ostatních léčiv poměrně pravidelně.

Další studie se většinou zaměřovaly na provádění experimentů za nasycených podmínek. Dlouhodobé pokusy trvající 12 měsíců znova prokázaly pomalou degradaci CBZ: za aerobních i anaerobních podmínek (hodnoty DT₅₀ > 50-100 dní) (Patterson et al. 2010; Patterson et al. 2011). Patterson et al. (2011) poté provedli terénní pokus na místě odběru sedimentu se stejným

zdrojem vody, jenž laboratorní výsledky potvrdil. Sorpce CBZ byla velice nízká ($R = 1,0$). Müller et al. (2013) zjistili podobné hodnoty ($R = 1,06-1,37$), zatímco v práci Rauch-Williams et al. (2010) dosahoval retardační faktor úrovně až 1,9. Tyto hodnoty jsou však mnohem nižší ve srovnání s prací Mersmann et al. (2002) a spíše odpovídají výsledkům z nenasycené zóny. Kieck et al. (2020) upozorňují, že rozdílné chování látek v experimentálních válcích lze spojovat s různými dimenzemi zařízení, jež nebyly dosud sjednoceny. Svoji roli mohl sehrát také obsah organického uhlíku (Müller et al. 2013): vyšší míru retardace při vyšším obsahu organické hmoty předpokládali již Scheytt et al. (2006) a Krascenits et al. (2008). Hebig et al. (2017) se proto zaměřili na vliv složení substrátu se třemi různými podíly organického uhlíku. Retardační faktor se s rostoucím obsahem organické hmoty zvyšoval (přirozený substrát: $R = 4,9$ pro CBZ) a původní předpoklad se tak potvrdil. Organický materiál se přitom může podílet i na degradaci nepolárních polutantů, jako je právě CBZ. Patterson et al. (2010) uvádějí $R = 13,0$ při zvýšeném obsahu organické hmoty, ale upozorňují, že kromě sorpce na organickou hmotu se mohou zapojit i fyzikální sorpční procesy na povrchu minerálních částic. Výsledky laboratorních experimentů (a analýz vzorků vody odebraných v terénu) však při srovnání s jinými farmaceuticky aktivními látkami obecně ukazují stabilitu a konzervativní chování CBZ při průchodu sedimentem z infiltracích ploch.

Mnohem méně informací máme o chování CBZ v prostředí jemnozrnných sedimentů. Banzhaf et al. (2012) využili válců naplněných sedimentem tvořeným převážně jílem a prachem, přičemž zkoumali efekt kombinace degradace a sorpce CBZ. Při retardaci sehrál svoji roli vysoký obsah organické hmoty a také zvýšená koncentrace dusičnanů. Koncentrace CBZ v sedimentu byly velmi vysoké ve srovnání s dalšími léčivy a potvrdily tak dominantní roli sorpce. Kieck et al. (2020) ve své práci porovnávali chování léčiv včetně CBZ v různých typech substrátu (hrubý písek, jemný písek, písčitá hlína) a zjistili, že množství organické hmoty má významnější vliv na retardaci léčiv než obsah jemných (jílových) částic. Míra biodegradace byla obecně nízká, taktéž sorpce CBZ nebyla nikterak významná ($R = 1,0-1,87$). Nicméně jak v případě hrubozrnných, tak jemnozrnných sedimentů hraje z hlediska ovlivnění chování CBZ v sedimentu zásadní roli přítomnost a množství organického uhlíku.

Ojedinělé hodnocení chování CBZ na rozhraní voda-sediment ve větším prostorovém měřítku pochází z jednoduchého pre-testu s mořskou vodou a směsi jemného až středně zrnitého substrátu (Freitas et al. 2015). Do akvária byl aplikován roztok CBZ (koncentrace 3 $\mu\text{g/l}$) a po pěti dnech autoři zjistili, že 91 % karbamazepinu zůstalo ve vodním sloupci. Nízkou míru sorpce lze stejně jako ve výše uvedených případech přisoudit hlavně nízkému obsahu organické hmoty. Na základě těchto výsledků tedy autoři při dalších výzkumných aktivitách (bohužel) neprováděli kvantifikaci CBZ v sedimentu.

3.2 Mlži

3.2.1 Charakteristické vlastnosti

Mlži (Bivalvia) naleží mezi vodní měkkýše, obývající mořské, bracké a sladkovodní prostředí (Lemer et al. 2019). Mají jak infaunální, tak epifaunální způsob života. Infaunální mlži se zahrabávají do bentického substrátu, zatímco epifaunální mlži se pomocí byssových vláken či adhezí přichycují k tvrdému substrátu nebo k sobě navzájem (Vaughn & Hoellein

2018). Typickým znakem mlžů je dvoudílná schránka tvořená miskami (lasturami) a svalnatá noha (Cuttelod et al. 2011). Mají žábry, jež kromě dýchání slouží také k filtraci potravy, přičemž z vody vychytávají zejména řasy, bakterie a (ne)rozpuštěné organické látky (Dillon 2004). Některé druhy mohou potravu získávat ze sedimentu pomocí vysunuté nohy (Vaughn & Hoellein 2018).

Mlži se rozdělují do šesti hlavních podtříd (González et al. 2015): (1) *Protobranchia* (mořští mlži obývající hlavně hluboké vody; více viz Sharma et al. 2013), (2) *Pteriomorphia* (mořští epifaunální mlži; více viz Matsumoto 2003), (3) ***Palaeoheterodonta*** (sladkovodní mlži), (4) *Archiheterodonta* (mořští, většinou infaunální mlži; více viz González & Giribet 2015), (5) *Anomalodesmata* (mořští epifaunální a infaunální mlži obývající jak mělké, tak hluboké vody; více viz Harper et al. 2006), (6) *Imparidentia* (mořští mlži; více viz Bieler et al. 2014).

Sladkovodní mlži jsou rozděleni do dvou řádů: *Unionida* („velcí mlži“; např. zástupci rodu *Anodonta*) a *Venerida* (např. zástupci rodu *Corbicula*). Patří mezi ohrožené živočichy (zjm. velcí mlži z čeledi Unionidae), jejichž populace klesají na celém světě (Lopes-Lima et al. 2014; Lopes-Lima et al. 2018). Svou roli hraje hlavně komplexní vývojový cyklus velkých mlžů, zahrnující parazitické larvální stádium (glochidium) na hostitelských rybách (Araujo et al. 2009): glochidie obvykle hostiteli neškodí a může se vyvijet několik týdnů až rok (Barnhart et al. 2008). Mezi další příčiny ohrožení patří ztráta a fragmentace habitatu, znečištění, změny průtokového režimu, klimatické změny a také invazní druhy mlžů a ryb (Dudgeon et al. 2006; Geist 2011; Lopes-Lima et al. 2014; Lopes-Lima et al. 2018).

3.2.2 Invazní druhy

Jako invazní označujeme takové druhy, u nichž dochází k šíření mimo přirozený areál výskytu a kompetici o habitat a potravní zdroje s původními druhy (Kraszewski & Zdanowski 2007). Invazní druhy představují jednu z nejvýznamnějších globálních hrozeb pro biologickou rozmanitost (Carlton & Geller 1993; Sousa et al. 2014), přičemž sladkovodní ekosystémy jsou obzvláště silně zasaženy (Strayer 2006; Geist 2011). Zavlečení nepůvodních druhů většinou souvisí s lidskou činností, jako je obchod nebo akvakultura (Cohen & Carlton 1998; Sousa et al. 2014). Mezi invazní druhy mlžů patří korbikula asijská (*Corbicula fluminea* Müller, 1774) (Bivalvia: Cyrenidae) a škeblice asijská (*Sinanodonta woodiana* Lea, 1834) (Bivalvia: Unionidae) (Lopes-Lima et al. 2014).

Corbicula fluminea (viz obr. 3, str. 16) pochází z Asie a do Evropy se dostala v 80. letech 20. století. Rychle se šíří především v důsledku lidské činnosti (přenos volně plovoucích planktonních larev v zátěžové vodě balastních nádrží lodí; Horsák 2018). V České republice byla poprvé nalezena v roce 1999 (Horsák 2018), přičemž se šíří proti proudu Labe do středních Čech a osidluje i některé přítoky, jako je Vltava a Ohře (Beran 2018). Obývá především tekoucí vody s různým typem sedimentů. Její lastury jsou silnostenné a žebernaté, většinou dosahují velikosti do 4 cm (Beran 2018).

Jedná se o rychle rostoucí druh s opakovánou reprodukcí během roku (McMahon 1991). Většina studií dospěla k závěru, že se tento druh rozmnožuje dvakrát ročně. Některé studie však zjistily pouze jedno, nebo naopak tři období rozmnožování, přičemž rozdíly mezi jednotlivými roky byly zjištěny i na stejně lokalitě (Doherty et al. 1987; Darrigran 2002). Výkyvy v počtu

reprodukčních období mohou souviset s teplotou vody (Hornbach 1992; Rajagopal et al. 2000; Moushon 2001b) a/nebo s potravními zdroji dostupnými v ekosystému (Cataldo & Boltovskoy 1999; Moushon 2001a; Moushon 2001b). Ve srovnání s ostatními sladkovodními mlži má *C. fluminea* zvýšenou asimilaci, což ji umožňuje absolutní přenos energie do reprodukce. Tím je podpořena vysoká plodnost, ale následkem toho je vysoká úmrtnost po celou dobu života. Nízké přežívání dospělých jedinců vede k tomu, že v populacích převládá vysoký podíl mladých jedinců (McMahon 2000; McMahon 2002). *C. fluminea* často dosahuje vysokých hustot (Cohen et al. 1984; viz obr. 4), v Severní Americe se uvádí více než 100 tisíc jedinců na m² (Beran 2018). Jedním z důvodů může být fakt, že může získávat potravu jak z vodního sloupce (pomocí sifonů), tak ze sedimentu (pomocí vysunuté nohy; Reid et al. 1992; Hakenkamp & Palmer 1999). Délka života tohoto druhu je variabilní v rozmezí od 1 do 5 let (McMahon 2000).



Obr. 3 (vlevo). *Corbicula fluminea* a její schránka
(autor: O. Zicha; Novák 2022)

Obr. 4 (vpravo). *Corbicula fluminea* ve svém přirozeném prostředí
(autor: V. Prié; Aldridge et al. 2012)

Vzhledem k vysoké míře filtrace i schopnosti využívat bentické zdroje potravy může dokonce vytlačit původní společenstva mlžů (Strayer et al. 1999). Vysoká hustota tohoto infaunálního druhu má za následek nejen kompetici o potravu (Strayer 1999), ale také omezení prostoru k zahrabání (Fuller & Richardson 1977). Sediment obohacený o organické látky (prostřednictvím biodepozice; Hakenkamp & Palmer 1999) má za následek redukci růstu a přežití původních druhů mlžů, neboť intenzivní aktivita mikroorganismů brání vstupu kyslíku do sedimentu (Pelegrí & Blackburn 1995).

C. fluminea může být nalezena v čistých i znečištěných vodách, přičemž dokáže absorbovat velké množství znečišťujících látek. Několik terénních studií prokázalo, že tento druh je dobrým bioindikátorem znečištění těžkými kovy či jinými kontaminanty (Doherty 1990; Inza et al. 1997; Cataldo et al. 2001b). Schopnost bioakumulace a biomagnifikace (akumulace v těle přes potravní řetězce) kontaminantů činí z *C. fluminea* vhodný model v ekotoxikologii (Cataldo et al. 2001a; Cataldo et al. 2001b; Baudrimont et al. 2003; Achard et al. 2004).

Sinanodonta woodiana (viz obr. 5, str. 17) má svůj původ v jihovýchodní Asii, přičemž tento druh prostřednictvím rybí obsádky již kolonizoval řadu evropských zemí (Kraszewski & Zdanowski 2007; Lajtner & Crnčan 2011). Hlavní genetická linie pochází z povodí řeky Jang-c'-ťiang (Kondakov et al. 2018; Konečný et al. 2018). První nález v ČR se datuje do roku 1996 (Horská 2018), z jižní Moravy se rozšířil do mnoha vodních toků a nádrží včetně Vltavské

kaskády (Douda 2018). Preferuje jemnější sediment pro snadné zahrabání (do 1/3 až 1/2 výšky schránky; Kraszewski & Zdanowski 2007). Druh vykazuje preferenci vysokoteplotních stanovišť (Kraszewski & Zdanowski 2007) a vyskytuje se v řekách s bodovým termálním znečištěním (Krolak et al. 2017; Bespalaya et al. 2018) nebo pod vodními nádržemi s výpustěmi teplé vody (Bódis et al. 2014). V přirozeném areálu výskytu druhu znamená chlad limitující faktor reprodukce vzhledem k sezónnosti pohlavního dospívání (Dudgeon & Morton 1983). Může dosáhnout velikosti až 25 cm a hmotnosti včetně schránky s hladkým povrchem až 1,6 kg (Dobler et al. 2022).



Obr. 5 (vlevo). *Sinanodonta woodiana* a její schránka
(autor: neuveden; Kraszewski & Zdanowski 2007)

Obr. 6 (vpravo). Vzorek jedinců *Sinanodonta woodiana* z kanálu v povodí řeky Ob
(autor: I.V. Vikhrev; Kondakov et al. 2020)

Jedná se o hostitelského generalistu, využívajícího pro larvální vývoj jakékoliv druhy ryb, které jsou původní v invazní oblasti (Douda et al. 2012), což vede ke snazšímu šíření oproti původním druhům velkých mlžů. Infikace ryb má také za následek sníženou úspěšnost vývoje glochidií ostatních druhů (Douda 2018). Vysoká hustota dospělé populace *S. woodiana* koresponduje s vysokou produkcí larev (Douda et al. 2012; Labecká & Domagala 2016), má tak schopnost produkovat glochidie dvakrát až třikrát ročně (Sárkány-Kiss et al. 2000). Celkem může jedna samice mlže produkovat několik set tisíc glochidií každý rok (Wachtler et al. 2001). Vzhledem k vysoké početnosti (viz obr. 6) a filtrační aktivitě (> 60 jedinců/ m^2 , biomasa > 25 kg/m^2) má velkou výhodu v kompetici o potravu (Kraszewski & Zdanowski 2007; Sousa et al. 2014; Douda 2018). Svou roli hraje i zavlečení parazitů a nemocí (Sousa et al. 2014). Mezi další faktory, které přispívají k jejímu šíření, patří široká tolerance s ohledem na stanoviště (Lajtner & Crnčan 2011), potravu (Liu et al. 2014) a znečištění (Corsi et al. 2007; Bielen et al. 2016).

Poznání výše uvedených druhů postupně vedlo k nárůstu počtu studií zabývajících se biologickými invazemi v posledních desetiletích (např. Pyšek & Richardson 2007). Dnes četné množství studií shrnuje dopady invazních druhů na úrovni jednotlivců, populací, společenstev a ekosystémů (Ehrenfeld 2010; Simberloff 2011; Sousa et al. 2011; Strayer 2012), a další upozorňují na velké ekonomické dopady způsobené biologickými škůdci (Pimentel et al. 2000; Vila et al. 2010).

3.2.3 Role v ekosystému

Mlži plní ve sladkovodních ekosystémech řadu funkcí, jež mohou být vyjádřeny jako ekosystémové služby (tj. užitky, jež člověk získává z ekosystémů), k nimž přispívají nebo je poskytují. Tyto služby lze rozdělit do následujících čtyř skupin: (1) regulující (průzračnost vody – biofiltrace); (2) podporující (recyklace a ukládání živin, habitat pro organismy, modifikace substrátu a potravní sítě); (3) zásobující (např. zdroj potravy); (4) kulturní (Vaughn 2018).

Mlži jsou schopni při biofiltraci odstranit značné množství částic z vody (Vaughn 2018). Jejich filtrační aktivita má největší účinek na ekologické procesy tehdy, pokud je biomasa mlžů velká (Strayer et al. 1999; Vaughn & Hakenkamp 2001). Někteří mlži získávají potravu filtrací nejen volné, ale i pórové vody nebo využívají částice uložené na povrchu/uvnitř sedimentu (McMahon 1991), a tudíž je lze posuzovat jako spojovací článek mezi pelagickými a bentickými procesy (mezi vodním sloupcem a sedimentem; Hakenkamp & Palmer 1999).

Živiny (a bohužel také kontaminanty) jsou ukládány do tkání či schránky jedinců nebo do fekálních pelet či pseudopelet. Rozklad biodepozitů může představovat hlavní cestu pro odvádění dusíku ze sedimentu (Krantzberg 1985), nicméně živiny jsou také přímo vylučovány organismy v rozpuštěné podobě (Vaughn & Hakenkamp 2001; Vaughn 2018). Tak mohou být využity dalšími organismy: dochází přitom k ovlivnění potravních sítí ve vodním a posléze i suchozemském prostředí (Vaughn 2018). Role biodepozice fekálních pelet a pseudopelet je málo známa (Vaughn & Hakenkamp 2001; Vaughn 2018), nicméně může přitom docházet k nárůstu obsahu organické hmoty v sedimentu (Hakenkamp & Palmer 1999; Newell et al. 2002) a podpoře anoxie v blízkosti rozhraní voda-sediment (Bruesewitz et al. 2008). Organismy využívající biodepozity jako potravu však mohou zpomalovat akumulaci organického odpadu a zároveň odstraňovat živiny v odpadních produktech (Yuan et al. 2016).

Hrabající mlži mohou svou činností ovlivňovat i strukturu sedimentu (tzv. bioturbace), čímž v něm zvyšují obsah vody, homogenizují jej a taktéž zajišťují průnik kyslíku do větších hloubek (McCall et al. 1979; Levinton 1995). Promíchání organické hmoty do hlubších vrstev sedimentu ji může vystavit anoxicckým či anaerobním rozkladním procesům; když se naopak dostane blíže k povrchu, rozklad již může probíhat za oxických podmínek (Banta & Andersen 2003; Mermilliod-Blondin et al. 2008). Resuspendace částic může zvýšit zákal ve vodě, a tak ovlivnit nejen epibentické druhy, ale i druhy obývající prostředí volné vody (Pang et al. 2012; Remaili et al. 2016; Tian et al. 2020). Při bioturbaci dochází také ke zvýšené výměně živin mezi vodou a sedimentem (Mermilliod-Blondin et al. 2008; Zhang et al. 2011; Turek & Hoellein 2015), přičemž míra odvádění fosforu ze sedimentu závisí mj. na kyslíkovém režimu a redox potenciálu (Krantzberg 1985). Nárůst koncentrace síranů a dusičnanů ve vodě v důsledku bioturbační činnosti (tj. uvolnění redukované síry, resp. produkce amoniaku, a jejich následná oxidace) byl doložen v práci Lagauzere et al. (2014). Mlži však mohou zpětně zvýšit dostupnost dusičnanů v sedimentu při jejich toku z volné vody v důsledku zvýšeného proudění (filtrací nebo hrabáním; Bruesewitz et al. 2008; Zhang et al. 2011). Vliv bioturbace na ekosystémové procesy je značně podmíněn potenciálem organismů k přepracování substrátu, a to v důsledku druhově specifických vlastností, jako jsou velikost těla, metabolismus nebo potravní strategie (Solan et al. 2004).

Majdi et al. (2014) zkoumali zástupce *Corbicula fluminea* při experimentu zabývajícím se kvantifikací přepracování sedimentu (bioturbační aktivitou) pomocí fluorescenční stopovací

látky. Bioturbace byla vyvolána především aktivitou vysunuté nohy mlžů, která slouží k získávání potravy. Malí mlži odstraňovali větší částice z povrchového sedimentu v porovnání se středně velkými a velkými mlži, zatímco velcí mlži transportovali částice hlouběji do sedimentu. *C. fluminea* může mít významný vliv na dynamiku distribuce sedimentů v úsecích s měkkým dnem.

Nejen aktivita mlžů, ale i jejich schránky přispívají k diverzitě struktury habitatů v prostředí, neboť slouží jako podklad pro kolonizaci epifytických a epizoických organismů (Beckett et al. 1996; Gutiérrez et al. 2003).

Z hlediska potravních vztahů jsou mlži důležitou kořistí pro širokou škálu organismů (Vaughn & Hoellein 2018), například pro pižmovky (Tyrrell & Hornbach 1998) a želvy (Atkinson 2013). Pižmovky vytvářejí hnázda ze schránek mlžů a jsou schopny významně ovlivnit početnost a velikostní strukturu velkých mlžů. Pravěcí lidé se živili mlži a využívali jejich lastury jako ozdoby, nástroje a náčiní (Haag 2012). Mlži a korýši se dodnes běžně konzumují v mnoha regionech jihovýchodní Asie (Bolotov et al. 2014). Známý je také dříve rozsáhlý sběr perlorodek pro jejich perly a výrobu perletových knoflíků (Humphries & Winemiller 2009). Současná lidská populace má z mlžů přímý prospěch z hlediska produkce potravin a komerčních produktů, jako jsou např. stavební materiál pro silnice, výroba betonu nebo hnojiva (Vaughn & Hoellein 2018).

3.3 Bentos a dynamika polutantů na rozhraní voda-sediment

Bentos zahrnuje všechny živočišné (zoobentos) a rostlinné organismy (fytobentos), jež žijí na dně či břehu vod. Lze je nalézt uvnitř i na povrchu sedimentů všeho druhu (bahno, písek, štěrk, kameny), mimo to obývají také prostředí vodních makrofyt (žijí mezi rostlinami nebo na jejich povrchu). Z hlediska velikosti rozlišujeme tři skupiny bentických živočichů: makrozoobentos (organismy dostatečně velké na to, aby se udržely na hrubém sítu velikosti oka 0,5 mm), meiozoobentos (projdou hrubým sítem, ale udrží se na jemném sítu velikosti oka 0,05 mm) a mikrozoobentos (projdou i jemným sítem, přičemž mohou tvořit >95 % jedinců, >50 % druhů a ~25 % biomasy ve společenstvu zoobentosu; Strayer 2009). Kromě toho je lze na základě schopnosti pohybu rozdělit na přisedlé (sesilní) a pohybující se (mobilní) živočichy. Dále bude pojednáno o bentických makrobezobratlých mobilních organismech.

3.3.1 Polutanty a bioakumulace

Organismy, jež získávají potravu filtrací z vodního sloupce („filter-feeding“) nebo umí využít částice sedimentu („deposit-feeding“), mohou akumulovat živiny i polutanty ve svém těle (tzv. bioakumulace). Mlži jsou často využívanými bioindikátory znečištění vody, zejména těžkými kovy, PAU (polycyklické aromatické uhlovodíky) a léčivy (de Solla et al. 2016; Archambault et al. 2018; Khan et al. 2019). *Corbicula fluminea* dokáže odstranit virus ptačí chřipky z vody (a snížit tak její infekčnost; Faust et al. 2009). Kromě toho ve vodě snižuje také koncentrace léčiv a hydrofobních organických látek, jež nelze odstranit konvenčními ČOV (Ismail et al. 2014). Tyto a podobné látky se však mohou vracet zpět do prostředí při vylučování z těl živočichů, a být tak dostupné pro ostatní organismy (v původní či metabolizované formě; Banta & Andersen 2003). Možnost ukládání polutantů do biodepozitů (v případě mlžů jde o fekální pelety a pseudopelety) byla naznačena již v kap. 3.2.3. Navíc se na tyto odpadní

produkty mohou adsorbovat i látky z volné vody: jak bylo uvedeno v kap. 3.1.3, zvýšená sorpce více či méně hydrofobních látek (jako CBZ) bývá často spojována s vyšším obsahem organické hmoty. Právě *Corbicula* přitom dokáže výrazně ovlivnit množství organických látek v sedimentu: při filtračním způsobu získávání potravy se zásoby zvyšují (při produkci fekálních pelet a pseudopelet; viz kap. 3.2.2), při využívání částic sedimentu se naopak snižují (kvůli konzumaci dnového organického materiálu; Levinton 1995; Hakenkamp & Palmer 1999).

O účinku polutantů zatěžujících samotné mlže stále nemáme dost znalostí (Vaughn 2018). Léčiva, jako je karbamazepin, obecně pro sladkovodní organismy nepředstavují riziko akutní toxicity, neboť koncentrace běžně měřené ve vodním prostředí (viz kap. 3.1.2) jsou řádově nižší než hodnoty LC₅₀ a EC₅₀ (tj. koncentrace způsobující 50 % mortalitu, resp. obecně negativní ovlivnění organismů) z laboratorních testů toxicity (Jos et al. 2003). Hodnota rizikového kvocientu (poměru reálné koncentrace a předpokládané koncentrace bez nepříznivého efektu) ovšem pro karbamazepin činí až 5,89 (Kondor et al. 2022), přičemž hodnoty větší než 1 ukazují na vysoké ekologické riziko látky pro vodní organismy. Ještě významnější mohou být chronické účinky expozice, jež zahrnují změnu chování, snížení imunitní odolnosti či změny v růstu a plodnosti (Quinn et al. 2008; Brandão et al. 2013; Gust et al. 2013; Lamichhane et al. 2013). Výsledky laboratorních testů toxicity však mohou podhodnocovat citlivost organismů vůči polutantům v reálném prostředí (Buchwalter et al. 2007; Clements et al. 2013).

3.3.2 Polutanty a bioturbace

Procesy transportu a akumulace látek obsažených ve vodě či sedimentu nemusí být ovlivněny pouze průchodem skrz těla organismů, ale i jejich pohybovou aktivitou (bioturbace; viz kap. 3.2.3). Role bentických bezobratlých živočichů, jako jsou larvy hmyzu, mlži, korýši nebo máloštětinatci, je zásadní při popisu dynamiky širokého rozpětí látek ve vodním prostředí (Krantzberg 1985; Levinton 1995). Ovlivnění kyslíkového či živinového režimu na rozhraní voda-sediment již bylo naznačeno v kap. 3.2.3. Zvýšení dostupnosti kyslíku může stimulovat mikrobiální procesy degradace polutantů (Levinton 1995; Banta & Andersen 2003; Nogaro & Mermilliod-Blondin 2009; Lagauzere et al. 2014), zatímco při poklesu koncentrace O₂ (pokud je spotřeba vyšší než jeho tok z vody) dochází k inhibici činnosti mikroorganismů. Režim a intenzita bioturbace může změnit složení mikrobiálních společenstev a následně ovlivnit jak tok živin a polutantů, tak bentické potravní sítě (Boeker et al. 2016). Změny koncentrace O₂ a posun pH korelují s redistribucí stopových prvků a tokem živin a polutantů ze sedimentu do vodního sloupce (Krantzberg 1985; Levinton 1995). Polutanty „pohřbené“ v sedimentu se dávají bioturbací do pohybu a zvyšují riziko návratu do prostředí volné vody, odkud původně pocházejí (Banta & Andersen 2003; Gilroy et al. 2012; Pang et al. 2012; Lagauzere et al. 2014; Tian et al. 2020). Tok polutantů probíhá také opačným směrem (v rozpuštěné formě z volné do pórové vody a při začlenění do sedimentu ve vázané formě; Lagauzere et al. 2014; Tian et al. 2020), k redistribuci a změnám chemických forem polutantů může docházet i uvnitř sedimentu (Krantzberg 1985). Nogaro a Mermilliod-Blondin (2009) v tomto smyslu upozorňují, že přítomnost bioturbátorů může mj. zvýšit propustnost infiltracních systémů a kontaminaci zdrojů podzemní vody.

Větší význam z hlediska bioturbace mají infaunální druhy, jež přepracovávají sediment do větší hloubky než druhy epifaunální. Typickým zástupcem infaunálních organismů je

Corbicula fluminea (Turek & Hoellein 2015), zatímco tzv. velcí mlži (jako např. *Sinanodonta woodiana*) spíše přehrabávají svrchní vrstvy sedimentu (viz kap. 3.2.1, 3.2.2). Kromě režimu a intenzity bioturbace hraje roli i počet a velikost hrabajících organismů (vzhledem k vysoké početnosti je třeba se zabývat invazními druhy; viz kap. 3.2.2), navíc je třeba přihlédnout ke složení, koncentraci a fyzikálně-chemickým vlastnostem často komplexní směsi polutantů (Banta & Andersen 2003). Nepopiratelný vliv na chování bioturbátorů a polutantů mají také charakteristiky sedimentu (Nogaro & Mermilliod-Blondin 2009). Nogaro et al. (2009) připodobňují procesy „bottom-up“ (vliv složení a struktury sedimentu) a „top-down“ (vliv bioturbace) kontrolním mechanismům regulace společenstev. Souhrnnou roli bioturbace v procesu transportu polutantů na rozhraní voda-sediment přibližuje tab. 2 (viz str. 22).

Gerino et al. (2003) rozlišují pět funkčních skupin bioturbátorů:

1. organismy, jejichž aktivita na povrchu ústí v náhodný difuzní pohyb sedimentů (tzv. biodifuzoři) (např. korýši – blešivci);
2. organismy orientované vertikálně vůči rozhraní voda-sediment a dopravující materiál směrem nahoru (např. nitěnkovití);
3. organismy orientované vertikálně vůči rozhraní voda-sediment a dopravující materiál směrem dolů;
4. organismy přemisťující sediment a vytvářející otevřené chodby, ty zůstávají po opuštění součástí matrice sedimentu (tzv. regenerátoři; např. epifaunální mlži);
5. organismy hloubící rozsáhlé chodby, ty jsou propojeny a poté zavodněny biologickou aktivitou (tzv. bioirigátoři; např. infaunální mlži či pakomárovití).

Většina prací se stejně jako v případě bioakumulace (viz kap. 3.3.1) zabývá především vlivem bioturbace kroužkovců (nitěnkovití) a larev hmyzu (pakomárovití) na chování kovů a PAU v sedimentu (např. Pang et al. 2012; Lagauzere et al. 2014; Remaili et al. 2016; Tian et al. 2020). Již méně se studie soustředí na korýše či měkkýše a chování léčiv. Gilroy et al. (2012) zkoumali chování CBZ v jezerním sedimentu za přítomnosti endobentického druhu *Chironomus dilutus* (pakomárovití) a epibentického korýše *Hyalella azteca*. *Chironomus* se vzhledem k vyšší míře bioturbace podílel na větší desorpci léčiva do volné vody, tudíž i na zvýšení jeho dostupnosti pro vodní organismy. Role bioturbace v dynamice CBZ se jeví jako významná, neboť Kracsenits et al. (2008) zjistili, že bez vlivu organismů má jen nízkou míru desorpce (viz kap. 3.1.3). Nicméně jak Gilroy et al. (2012) uvádějí, riziko toxického efektu na bentická společenstva vyplývající z expozice léčiv je pravděpodobně nízké, jelikož sorpce na sediment přispívá ke snížení dostupnosti CBZ ve srovnání s testy toxicity prováděnými pouze s vodou.

Freitas et al. (2015) se zabývali vlivem CBZ na endobentického mlže *Scrobicularia plana* a mnohoštětinatého kroužkovce *Diopatra neapolitana* (obývajících mořské či bracké vodní prostředí), tzn. přímo se nesoustředili na chování látky mezi vodou a sedimentem v akvarijních nádržích. Nicméně měření koncentrací CBZ ve volné vodě během 28-denního experimentu neodhalila významné rozdíly oproti pre-testu (viz kap. 3.1.3), tzn. že většina aplikované látky zůstala ve vodním sloupci. Ačkoli se jedná o ojedinělá data, vzhledem k omezenému počtu měření (na začátku a na konci experimentu) a bez zohlednění významu sorpčních/desorpčních procesů je třeba brát je s rezervou.

Bioturbace může ovlivňovat dynamiku polutantů mezi vodou a sedimentem. Podobně jako při zkoumání chování polutantů v sedimentu v rámci tzv. „column studies“ (viz kap. 3.1.3) lze sledovat tok látek v infiltračních válcích včetně vlivu bioturbátorů (Mermillod-Blondin et al. 2008; Nogaro & Mermillod-Blondin 2009; Nogaro et al. 2009). Uvedené práce se přitom zaměřily na vliv nitěnkovitých a/nebo larev pakomárovitých na tok kovů a PAU.

Tab. 2. Vliv bioturbace na transport rozpuštěných a nerozpuštěných látek (upraveno dle Banta & Andersen 2003)

PROMÍCHÁNÍ ČÁSTIC (vázané látky)	
<i>1. Ukládání sedimentů na povrch, resuspendace</i>	
Zvýšené odvádění polutantů (+)	Expozice „čistých“ sedimentů vůči polutantům ve vodě (-)
<i>2. Promíchání povrchových sedimentů do hloubky</i>	
Přesun polutantů do anaerobní zóny (často ve stabilnější formě) (+)	Větší hloubka znečištění (-)
ZAVODNĚNÍ (rozpuštěné látky)	
<i>1. Biodifuze</i>	
Vyšší tok polutantu mimo sediment (+)	Polutant ve vodě přitahován rychleji a hlouběji do sedimentu (-)
<i>2. Zavodnění chodeb</i>	
Vyplavení polutantů z pórové vody v blízkosti chodeb (+)	Polutant ve vodě začleněn do sedimentu okolo chodeb (-)
<i>3. Advektivní zavodnění</i>	
Vyplavení polutantů ze sedimentu (+)	Polutant ve vodě přitahován do sedimentu (-)
<i>4. Transport O₂</i>	
Stimulace aerobního rozkladu org. polutantů, zpomalení redukce síranů (redukce methylace rtuti) (+)	Oxidace sedimentů vedoucí ke zvýšené mobilitě kovů vázaných na sulfidy (-)
METABOLIZACE	
Odstranění org. polutantů ze sedimentu (+)	Metabolity jako potenciálně více toxicke a mobilní látky oproti mateřským sloučeninám (-)

4 Metodika

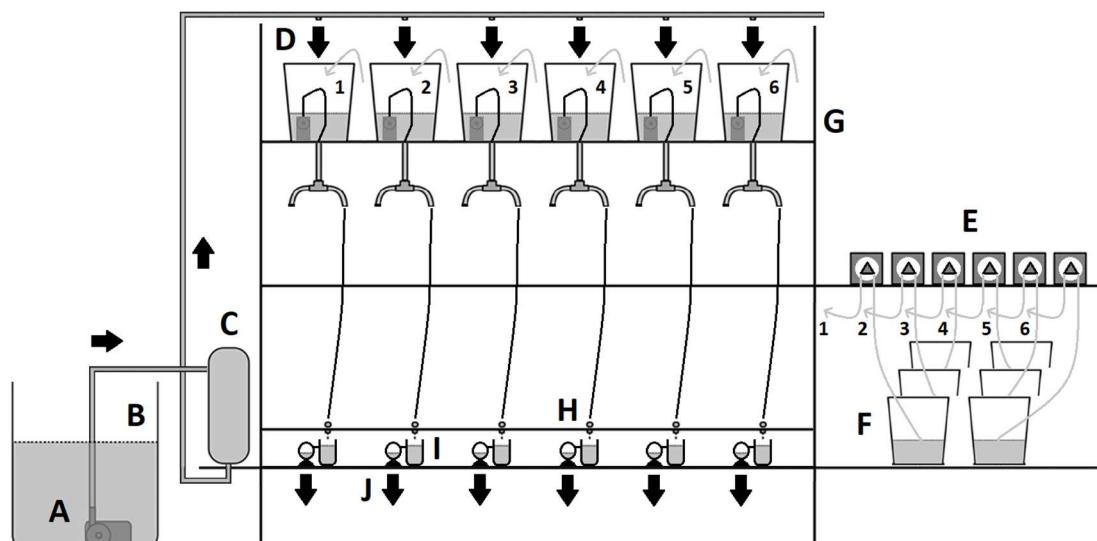
4.1 Experiment v prostorovém měřítku

4.1.1 Experimentální systém

Pro chod experimentu byl využit pulzní průtokový systém s automatickým dávkováním krmiva („pulsed flow-through (PFT) auto-feeding beaker system“) pro chov juvenilních mlží (Kunz et al. 2020). Tento systém je založen na principu periodického dodávání směsi vody a čerstvého krmiva do kádinek s mlži. Karel Douda a jeho tým jej sestavili v modifikované

podobě v laboratoři FAPPZ ČZU za účelem provádění laboratorních experimentů (více viz Mohammadi et al. 2022).

PFT systém je schematicky znázorněn na obr. 7 (A-J). Čerpadlo s časovým spínačem (A) dodávalo každou hodinu vodu z nádrže² (B; objem 200 l) přes filtr (C) přívodním potrubím do směšovacích nádrží (D; objem vody 1,25 l). Po dvou minutách do nich přidávala peristaltická čerpadla (E) 50 ml řasové suspenze (složení: 80 % *Ettlia oleoabundans* + 20 % Easyroti®; cílový objem buněk 5 nl/ml ve směšovací nádrži) ze zásobníků (F; objem 1,4 l, s každodenní výměnou), uložených v chladicím boxu (teplota 4 °C). Promíchání směsi vody a suspenze zajišťoval vzduchovací set s kompresorem³. Po uplynutí 5 min. došlo prostřednictvím malých čerpadel s časovým spínačem (G) k vyprázdnění nádrží do rozvodného systému potrubí (H), opatřeného koncovými hadicemi pro odvzdušnění systému. Každá větev rozvodného systému zásobovala prostřednictvím jehel uchycených silikonovými zátkami dohromady 6 kádinek (I; objem 1000 ml). Při každém cyklu (s opakováním každou hodinu) se ve všech 36 kádinkách vyměnilo cca 200 ml objemu, jež bylo odváděno odtokovou hadičkou do odpadního potrubí (J) a následně do kanalizace.



Obr. 7. Experimentální PFT systém (autor: Vojtěch Barák)

Všechny kádinky byly opatřeny dvěma hadičkami (pro odběr volné a pórové vody) a částečně vyplněny dvěma typy (předem propaným) substráty: 30 ml štěrku (průměr zrna 3-5 mm) ve spodní vrstvě a 420 ml křemičitého písku (průměr zrna 0,8-1,2 mm) ve svrchní vrstvě. Drenážní vrstva štěrku byla použita pro zajištění plynulého odběru vzorků pórové vody (Hebig et al. 2017), přičemž promíchání obou typů substrátu bránila síťovina o velikosti oka 500 µm. Vodní sloupec nad sedimentem vyplňoval 450 ml objemu kádinky (tzn. celkový objem vody a substrátu = 900 ml).

² Objem vody se postupně doplňoval z vodovodní sítě, hladina byla regulována plovákovým ventilem.

³ Podobně bylo zajištěno také provzdušnění (promíchání) nádrže (B) a zásobníků se suspenzí (F).

4.1.2 Experimentální jedinci

Pro experiment v PFT systému byly oproti původním plánům (*Corbicula* sp., *Dreissena* sp., *Sinanodonta* sp.) využity dva invazní druhy sladkovodních mlžů (kvůli získání dostatečně robustních dat pro analýzy). Subadultní jedinci *Sinanodonta woodiana* (18x; délka 56-71 mm) pocházeli z experimentálního chovu katedry zoologie a rybářství FAPPZ ČZU, zatímco jedinci *Corbicula fluminea* (90 + 20x (rezerva); délka 12-26 mm) byli nasbíráni na řece Ohři (ř. km 21,6; obec Radovesice, nad silničním mostem). Před umístěním do systému byli drženi v nádržích s říční vodou (pocházející z místa sběru) a dvakrát denně krmeni řasovou suspenzí.

4.2 Experiment v časovém měřítku

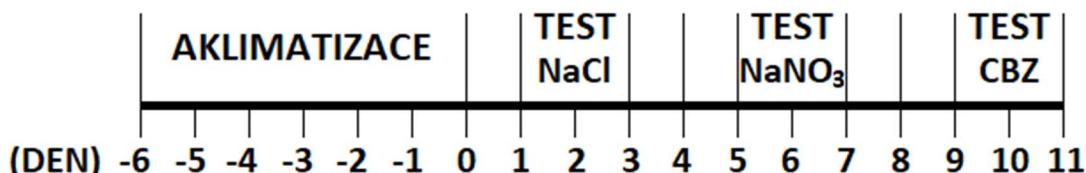
4.2.1 Aklimatizace

Mlži byli po očištění přesunuti do PFT systému dle schématu viz tab. 3: 9 kádinek po dvou jedincích *Sinanodonta woodiana* (W), 9 kádinek po deseti jedincích *Corbicula fluminea* (C) a zbývajících 18 kádinek bez mlžů (O). Do dvou kádinek (8-C, 18-O) byly umístěny data loggery pro kontinuální měření teploty vody (krok 1 hodina) a systém byl poté spuštěn.

Tab. 3. Schéma uspořádání kádinek v PFT systému (*S. woodiana* = W, *C. fluminea* = C, kontrola = O)

36-C	30-O	24-C	18-O	12-C	6-O
35-O	29-W	23-O	17-W	11-O	5-W
34-O	28-C	22-O	16-C	10-O	4-C
33-W	27-O	21-W	15-O	9-W	3-O
32-C	26-O	20-C	14-O	8-C	2-O
31-O	25-W	19-O	13-W	7-O	1-W

Během aklimatizace bylo prováděno každodenní sledování aktivity mlžů (filtrační aktivita, pozice v kádince) a doplňkové měření kyslíku ve volné i pórové vodě.



Obr. 8. Časová osa znázorňující průběh experimentu

Před prováděním testů byl provoz PFT systému přerušen, a tím ukončena aklimatizace mlžů (**den 0**; viz obr. 8). Systém bylo třeba vyčistit, přičemž tento proces zahrnoval vyjmout mlžů, vypuštění vody z kádinek, vyjmutí a proprání písku a čištění vnitřního povrchu kádinek (pro odstranění fekálních pelet a pseudopelet a nevyužité potravy). Kádinky byly poté znova vyplněny substrátem a vodou z nádrže pro zásobování PFT systému, a mlži byli do nich vráceni. Tři jedinci *Corbicula* během aklimatizace uhynuli, proto byli nahrazeni novými jedinci

s podobnými rozměry ze stejné lokality. Teplotní data loggery byly též vráceny do kádinek a celý systém se opět spustil.

4.2.2 Test NaCl

Pro první test byl použit standardní tracer NaCl, jenž je jednoduše sledovatelný pomocí měření konduktivity (měrné elektrické vodivosti). Chlorid představuje konzervativní typ traceru bez sorpce při transportu půdním profilem (Casey et al. 2004). Jeho chování v PFT systému bylo detailně zkoumáno pro predikci distribuce cílového polutantu CBZ ve vodě a sedimentu a pro volbu efektivní strategie odběrů vzorků. Roztok NaCl byl připraven smícháním 16 g NaCl a 700 ml destilované vody, přičemž výsledná koncentrace chloridů (Cl^-) ve vodě ve všech kádinkách (po aplikaci 15 ml roztoku) byla spočítána na 435 mg/l. Jde o hodnotu blízkou environmentálním hodnotám, naměřeným v povrchových vodách v důsledku splachu ze silnic po zimním solení (Gillis et al. 2022).

Odběry vzorků volné a pórové vody (po 15 ml) v závislosti na času od aplikace NaCl⁴ byly provedeny ve větším rozsahu, než je zde uvedeno. Ucelená data budou totiž využita pro publikování v odborném článku týmu pod vedením Karla Doudy, přičemž se počítá s tím, že budu spoluautorkou tohoto výstupu. V této práci se zaměřuji na následující časová okna odběrů, umožňující srovnání výsledků pro všechny tři provedené testy:

- $t = "-2 \text{ h}"$: kontrolní odběr před začátkem testu (**den 1**);
- $t = "0 \text{ h}"$: odběr po 15 min. od aplikace NaCl (předpoklad: maximální koncentrace ve volné vodě) (**den 1**);
- $t = "2 \text{ h}"$: odběr po 135 min. od aplikace NaCl (předpoklad: maximální koncentrace v sedimentu) (**den 1**);
- $t = "48 \text{ h}"$: kontrolní odběr na konci testu (**den 3**; viz obr. 8, str. 24).

V jednotlivých časových oknech bylo odebráno vždy 72 vzorků (36x volná voda + 36x pórová voda). S využitím multimetru proběhlo na všech vzorcích měření konduktivity, doplnkově se změřil kyslík (ve vzorcích volné vody také zákal za pomoci turbidimetru).

V průběhu testu bylo opět prováděno sledování aktivity mlžů, a to přibližně ve výše uvedených časových oknech.

Před prováděním dalšího testu bylo opět přistoupeno k přerušení provozu systému a jeho vyčištění, včetně nahrazení šesti uhynulých jedinců *Corbicula* (dva z nich uhynuli ještě před aplikací NaCl).

4.2.3 Test NaNO₃

Pro tento test byl použit jiný typ traceru (NaNO₃), jelikož bylo třeba zkoumat chování „jednoduše“ sledovatelných chemických látek v systému voda-sediment a případné rozdíly mezi nimi. V tomto případě bylo umožněno relativně snadno a rychle analyzovat NO₃-N ve vzorcích vody na přenosném spektrofotometru.

Roztok NaNO₃ byl získán smícháním 2,9 g NaNO₃ a 700 ml destilované vody, přičemž očekávaná koncentrace dusičnanového dusíku (NO₃-N) ve vodě v kádinkách (opět po aplikaci

⁴ Roztok NaCl byl aplikován do každé kádinky přibližně 24 hodin po navrácení mlžů do PFT systému.

15 ml roztoku) byla 28 mg/l. Jde o reálnou environmentální hodnotu, zjištěnou v povrchových vodách po splachu hnojiv ze zemědělských ploch (Owens et al. 1984). Tato koncentrace byla měřitelná použitým spektrofotometrem (max. 30 mg/l).

Pro odběr vzorků volné a pórové vody bylo využito stejných časových oken popsaných v kapitole 4.2.2 (**den 5 a 7**; viz obr. 8, str. 24). Doplňkové měření (konduktivita, kyslík a zákal) a sledování aktivity mlžů probíhalo stejně jako u prvního testu. Analýza NO₃-N byla provedena celkem na 99 vzorcích vody (což odpovídalo omezenému množství vzorků pro analýzy při CBZ testu): 9 vzorků volné vody pro časy "-2 h", "0 h" a "48 h", a 36 vzorků pórové vody pro "2 h" a "48 h". Před provedením analýz byly vzorky uloženy v lednici.

Při čištění systému po ukončení testu byli nahrazeni tři jedinci *Corbicula* (dva z nich uhynuli ještě před aplikací NaNO₃).

4.2.4 Test CBZ

Při posledním třetím testu byla sledována distribuce cílového polutantu CBZ ve vodě a sedimentu. Roztok byl připraven smícháním 5,08 mg CBZ a 750 ml destilované vody, a poté naředěn další destilovanou vodou přibližně v poměru 1:40. Výsledná koncentrace CBZ ve vodě v kádinkách (opět po aplikaci 15 ml roztoku) byla 5 µg/l, což odpovídá povrchovým vodám zatíženým výtokem z ČOV (Wilkinson et al. 2022). Koncentrace přitom nepřekročila hodnotu 9,2 µg/l pro ochranu 95 % sladkovodních druhů organismů před nepříznivými účinky CBZ (Kumar et al. 2016).

Pro odběr vzorků volné a pórové vody bylo opět využito časových oken popsaných v kapitole 4.2.2 (**den 9 a 11**; viz obr. 8, str. 24). Doplňkové měření parametrů jakosti vody a sledování aktivity mlžů bylo popsáno u předchozích dvou testů. Analýza CBZ byla provedena Filipem Merclem v laboratoři katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin FAPPZ ČZU na 99 vzorcích vody (počty vzorků v jednotlivých časových oknech viz kapitola 4.2.3). Před provedením analýz byly vzorky přefiltrovány přes stříkačkové filtry a uchovávány v mrazáku. V době dokončení této práce bylo k dispozici pouze 27 hodnot (3 analyzované vzorky volné vody pro časy "-2 h", "0 h" a "48 h", a 18 vzorků pórové vody pro "2 h").

Během testu byli zjištěni tři uhynulí jedinci *Corbicula*. Po jeho ukončení byl provoz systému přerušen, došlo k jeho vyčištění a vyjmutí teplotních data loggerů za účelem zpracování dat.

4.3 Zpracování dat

4.3.1 Statistické analýzy

Chování tracerů v PFT systému bylo statisticky vyhodnoceno pro dvě časová okna, v nichž došlo k odběru vody ve všech 36 kádinkách v rámci každého provedeného testu (tj. t = „2 h, 48 h“). V případě cílového polutantu (karbamazepinu) proběhlo vyhodnocení dat z 18 kádinek v čase „2 h“ (vzhledem k dosud nedokončeným analýzám vzorků). Vyhodnocení kompletního datasetu u karbamazepinu bude provedeno a publikováno v rámci připravovaného vědeckého článku založeného na výsledcích bakalářské práce.

Rozdíly mezi hodnotami konduktivity (test NaCl a NaNO₃), resp. koncentracemi NO₃-N (test NaNO₃) v pórové vodě byly hodnoceny v příslušném časovém okně mezi kádinkami

s přítomností a absencí mlže (18+18 měření). Poté byly podrobněji analyzovány v závislosti na rodu mlže (*Corbicula/Sinanodonta*; 9+9 měření). Omezený počet měření pro volnou vodu neumožňoval podrobnější analýzy, získaná data však posloužila jako referenční pro srovnání s hodnotami z pórové vody.

Rozdíly výběrových průměrů byly zjišťovány na hladině významnosti (α) rovné 0,05. Přednostně byl využíván dvouvýběrový t-test (za předpokladu normálního rozdělení a shody rozptylů obou výběrů). K ověření předpokladu o normálním rozdělení dat došlo za použití Shapirova-Wilkova testu (pro každý výběr), shoda rozptylů se zjišťovala pomocí Fisherova F-testu. Při pochybnostech o shodě rozptylů byl použit Welchův t-test. Pokud nebylo možné předpokládat ani normální rozdělení obou výběrů, místo t-testu bylo rozhodnuto o použití dvouvýběrového Wilcoxonova testu (známého též jako Mannův-Whitneyův test).

Mimo výše uvedených analýz zaměřených na rozdíly uvnitř jednotlivých časových oken bylo možné statisticky vyhodnotit změny hodnot mezi okny ($t = „,2\text{ h}“ \times t = „,48\text{ h}“$), a to pomocí párových testů pro tři typy kádinek: s přítomností mlže (*Sinanodonta* či *Corbicula*) a bez mlžů. Při splnění předpokladu o normálním rozdělení rozdílů dvojic hodnot byl k dispozici párový t-test, v opačném případě pak párový Wilcoxonův test.

Pro popis síly vzájemné závislosti konduktivity a dusičnanového dusíku ve vodě v kádinkách byl spočítán Spearmanův korelační koeficient r_s (bez předpokladu normálního rozdělení). Koeficienty regresních přímek (modelu sloužícího k vysvětlení variability koncentrace $\text{NO}_3\text{-N}$ prostřednictvím hodnot konduktivity) byly odhadnuty pomocí funkcí **lm()** a **summary()**.

Rozdíly koncentrací karbamazepinu (test CBZ) v pórové vodě byly v daném časovém okně vyhodnoceny mezi jednotlivými typy kádinek (*Corbicula/Sinanodonta*/kontrola s absencí mlže; 6+6+6 měření). Bylo přitom využito Kruskalova-Wallisova testu (přímého zobecnění dvouvýběrového Wilcoxonova testu; viz výše) a následně Wilcoxonova testu s Bonferronovi korekcí pro mnohonásobná porovnání. Stejně jako u tracerů, i zde data z volné vody posloužila jako referenční pro srovnání s hodnotami z pórové vody.

Veškeré analýzy byly provedeny ve statistickém programu R verze 3.6.0 (R Core Team 2020) v souladu se základní statistickou literaturou (Zvára 2013).

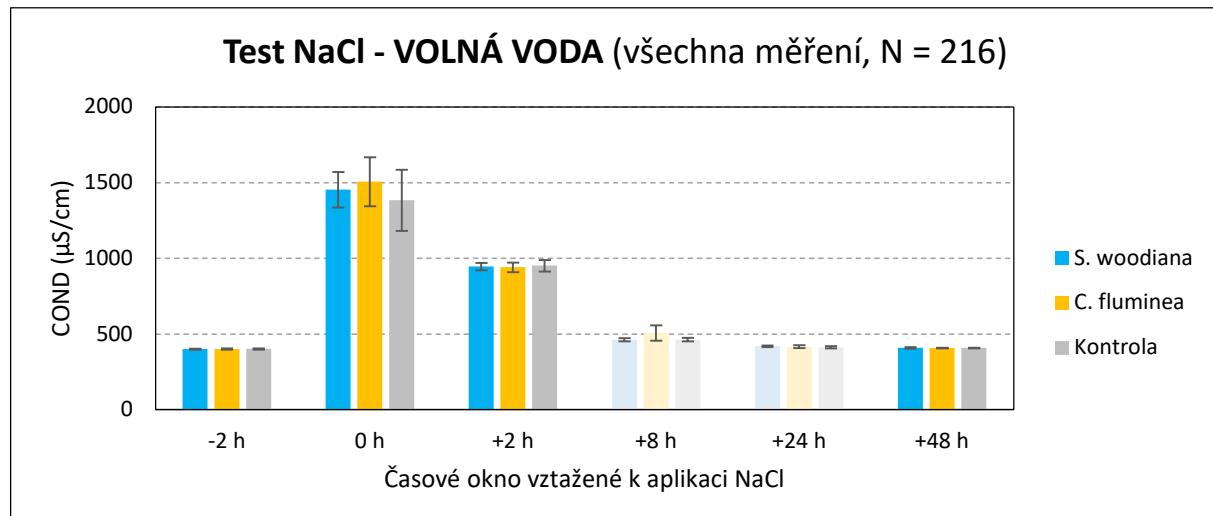
5 Výsledky

5.1 Pre-test NaCl

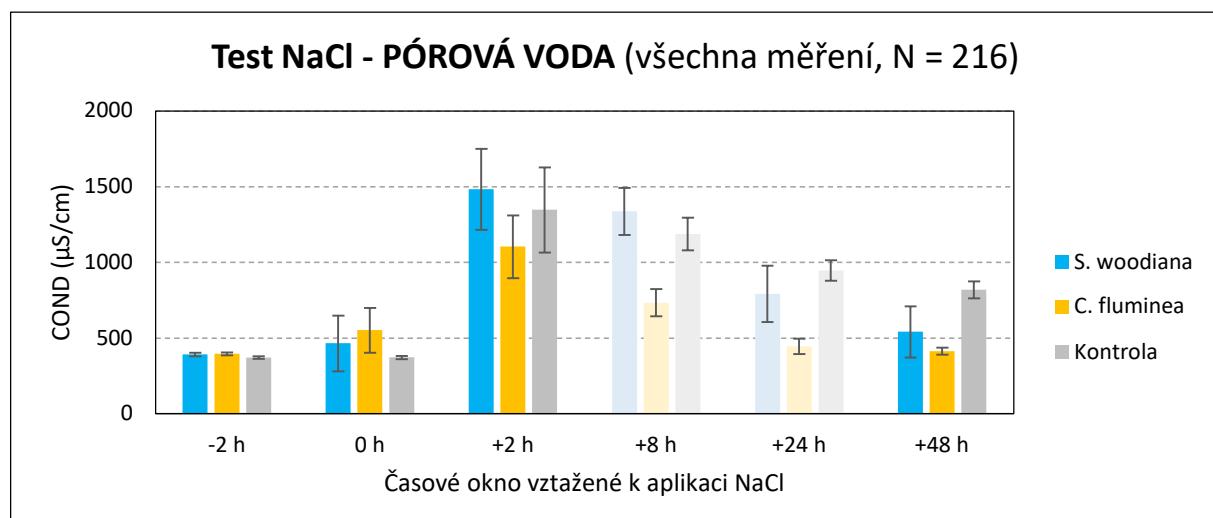
Při testu s NaCl bylo odebráno v každém časovém okně vždy 72 vzorků vody (viz kap. 4.2.2). Pro podrobnější popis chování látky v PFT systému byla využita data ze čtyř hlavních časových oken (tj. $t = „,-2\text{ h}, 0\text{ h}, 2\text{ h}, 48\text{ h}“$), navíc doplněna o další dvě časová okna ($t = „,8\text{ h}, 24\text{ h}“$). Analýzy dat se pak již zaměřily výhradně na hlavní časová okna.

Výsledky měření konduktivity (parametru pro sledování chování traceru NaCl) ve volné vodě jsou graficky zobrazeny na obr. 9 (str. 28). Hodnoty v kádinkách při kontrolním měření na začátku testu ($“,-2\text{ h}“$) odpovídaly hodnotám pro vodu dodávanou do PFT systému, mírně zvýšeným vzhledem k dávkování řasové suspenze (viz kap. 4.1.1). Těsně po aplikaci NaCl ($“,0\text{ h}“$) došlo k výraznému zvýšení hodnot. V dalších časových oknech ($“,2\text{ h}“$ a později) hodnoty opět poklesly, zejména v důsledku ředění při opakování dodávce čerstvé vody do systému a

obměně vody v kádinkách v rámci funkčního mechanismu PFT systému. V čase „8 h“ se volná voda téměř vyčistila od NaCl a naměřené hodnoty se blížily těm počátečním. Po uplynutí jednoho, resp. dvou dní („24 h“, resp. „48 h“) od aplikace NaCl již látka nebyla v PFT systému (přesněji ve volné vodě) detekována.



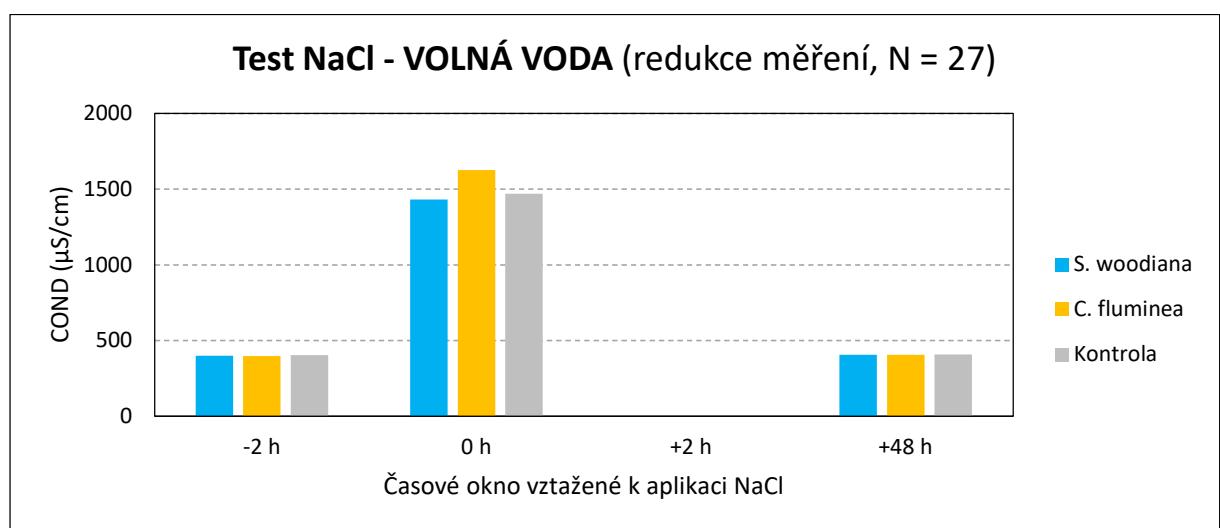
Obr. 9. Hodnoty konduktivity (vyjádřené jako průměr \pm SD) ve volné vodě v závislosti na času a typu kádinky (test NaCl)



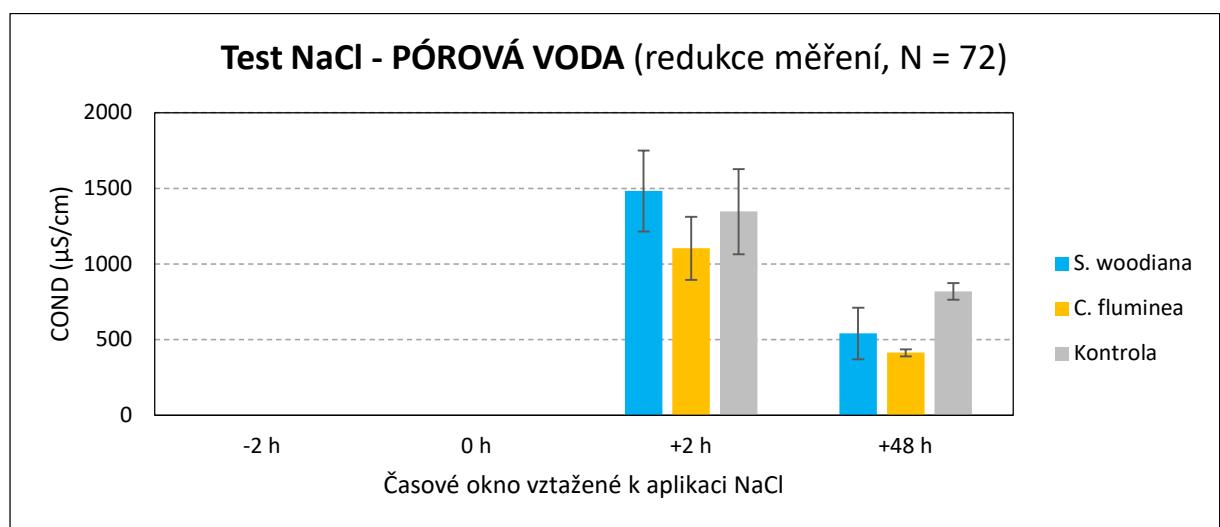
Obr. 10. Hodnoty konduktivity (vyjádřené jako průměr \pm SD) v pórové vodě v závislosti na času a typu kádinky (test NaCl)

Data získaná při měření konduktivity v sedimentu (v pórové vodě) jsou graficky znázorněna na obr. 10. Kontrolní hodnoty v čase „-2 h“ byly velice podobné hodnotám naměřeným ve volné vodě, nicméně v kádinkách s mlži se již mírně projevil efekt bioturbace (hodnoty pro pórovou vodu odpovídaly těm ve vodním sloupci, což ukazovalo na výměnu vody na rozhraní voda-sediment). Tento efekt byl zvýrazněn po aplikaci NaCl („0 h“), kdy se *Sinanodonta* a *Corbicula* (ve větší míře) podílely svou činností na vstupu látky do sedimentu. Hodnoty v přítomnosti mlžů vykazovaly větší variabilitu, což bylo dáno různou mírou aktivity v jednotlivých kádinkách. V čase „2 h“ dosáhla konduktivita svých maximálních hodnot ve

všech kádinkách. V sedimentu se zřetelně projevil časový posun mezi aplikací NaCl a jeho tokem z vodního sloupce do prostoru pórů. Variabilita dat zde však překryla efekt bioturbace. V dalších časových oknech („8 h“ a později) byl již tento efekt mnohem zřetelnější, a to za současného snižování hodnot v důsledku ředění. *Corbicula* svou činností zajišťovala propojení volné a pórové vody, což zároveň zvyšovalo ředící efekt. Hodnoty konduktivity byly mnohem nižší oproti ostatním typům kádinek (na konci experimentu byl NaCl z pórové vody již vyředěn). Význam bioturbace rodu *Corbicula* byl přitom doložen pro všechny kádinky s jeho přítomností, jak ukázala velmi malá variabilita naměřených hodnot. Vliv rodu *Sinanodonta* se projevil pozvolněji. Na konci experimentu se hodnoty přiblížovaly rodu *Corbicula*, nicméně vykazovaly větší variabilitu v důsledku různé míry aktivity mlžů. Kádinky bez přítomnosti mlže nevykazovaly známky výraznější výměny mezi vodou a sedimentem: v tomto případě bylo ředění jen velice pomalým procesem.



Obr. 11. Hodnoty konduktivity (vyjádřené jako průměr) ve volné vodě v závislosti na času a typu kádinky (test NaCl, redukovaná data)



Obr. 12. Hodnoty konduktivity (vyjádřené jako průměr \pm SD) v pórové vodě v závislosti na času a typu kádinky (test NaCl, redukovaná data)

Jak je patrné z obr. 11 (str. 29), redukovaný počet měření pro srovnání výsledků s dalšími provedenými testy (viz kap. 4.2.3, 4.2.4) poskytl tytéž informace jako v případě kompletního data setu (viz obr. 9, str. 28). Kontrolní hodnoty konduktivity před aplikací NaCl se ve volné vodě pohybovaly v průměru kolem 400 µS/cm bez ohledu na typ kádinky. Těsně po aplikaci látky dosahovaly nejvyšších hodnot (1235-1718 µS/cm), přičemž rozdíly byly zvýrazněny sníženým počtem měření. Na konci experimentu (po 48 h.) již nebyl NaCl ve vodě přítomen v žádné kádince a hodnoty (s průměrem 408 µS/cm) se vrátily zpět na úroveň na začátku testu.

Pro vyhodnocení měření konduktivity v pórové vodě byla vybrána časová okna „2 h“ (s nejvyššími dosaženými hodnotami) a „48 h“ (kontrolní měření na konci experimentu; viz obr. 12, str. 29).

V čase „2 h“ byly naměřeny následující hodnoty (vyjádřené jako průměr \pm SD): 1293 ± 303 µS/cm (kádinky s mlži), resp. 1346 ± 281 µS/cm (kádinky bez mlžů). Rozdíly přitom nebyly statisticky významné (t-test, $p = 0,76$). Nicméně při zohlednění druhu mlže se hodnoty lišily, přičemž pro rod *Corbicula* (1103 ± 208 µS/cm) byly významně nižší oproti rodu *Sinanodonta* (1483 ± 267 µS/cm) (t-test, $p < 0,01$). Svou roli hrála zejména zvýšená aktivita prvně jmenovaného mlže (spojená s výměnou a ředěním vody; viz výše).

Na konci experimentu byly zaznamenány daleko nižší hodnoty: 477 ± 135 µS/cm (kádinky s mlži), resp. 819 ± 56 µS/cm (kádinky bez mlžů). Vliv bioturbátorů na chování traceru se již výrazněji projevil, přičemž hodnoty konduktivity v pórové vodě byly v jejich přítomnosti významně sníženy (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $p < 0,001$). Rozdíly mezi mlži (*Corbicula*: 413 ± 24 µS/cm, *Sinanodonta*: 541 ± 170 µS/cm) byly také statisticky významné (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $p < 0,001$). Větší význam z hlediska bioturbace měla opět *Corbicula*, nicméně výsledky pro druhý druh byly ovlivněny sníženou aktivitou mlžů ve dvou kádinkách (814, resp. 860 µS/cm).

Při srovnání hodnot mezi oběma časovými okny bylo zjištěno, že došlo ke statisticky významnému poklesu konduktivity. To platilo jak v případě kádinek s mlži rodu *Sinanodonta* (1483 ± 267 µS/cm \rightarrow 541 ± 170 µS/cm; párový t-test, $p < 0,001$) a *Corbicula* (1103 ± 208 µS/cm \rightarrow 413 ± 24 µS/cm; párový t-test, $p < 0,001$), tak i v kontrolních kádinkách bez mlžů (1346 ± 281 µS/cm \rightarrow 819 ± 56 µS/cm; párový t-test, $p < 0,001$).

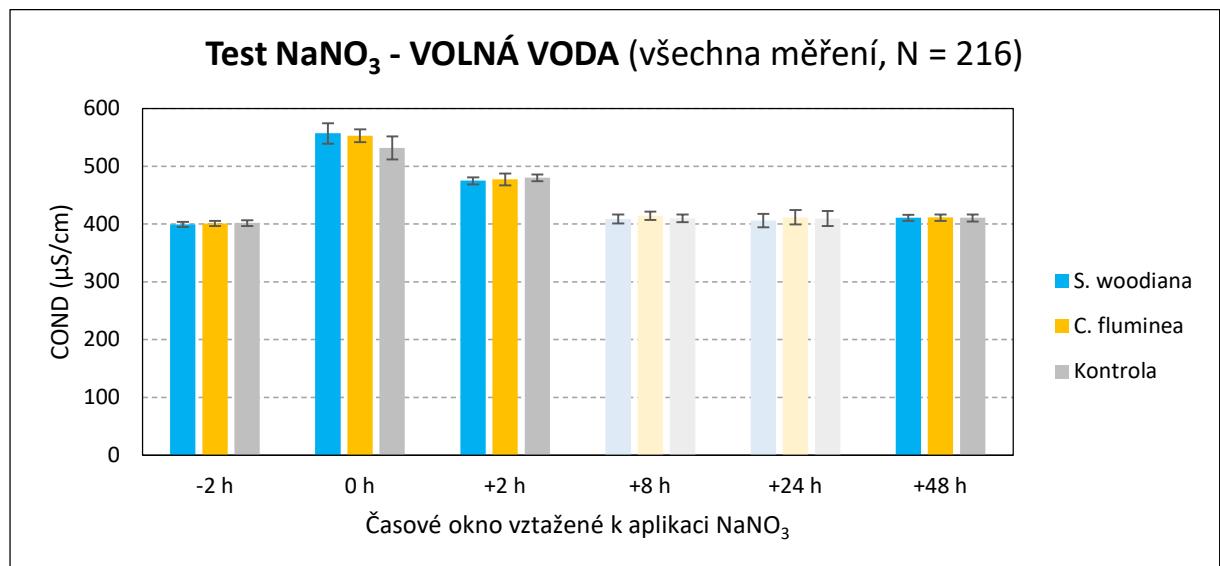
5.2 Pre-test NaNO₃

Při testu s NaNO₃ bylo stejně jako v případě testu s NaCl (viz kap. 5.1) odebráno 72 vzorků vody v každém časovém okně. Chování dusičnanu v PFT systému bylo nejprve popsáno s využitím hodnot konduktivity (měření k dispozici ve všech kádinkách ve všech časových oknech) a teprve poté za pomoci dusičnanového dusíku (s omezeným počtem měření NO₃-N). Tento postup přitom umožnila potvrzená závislost konduktivity a NO₃-N ve vodě ($r_s = 0,678$, $p < 0,001$).

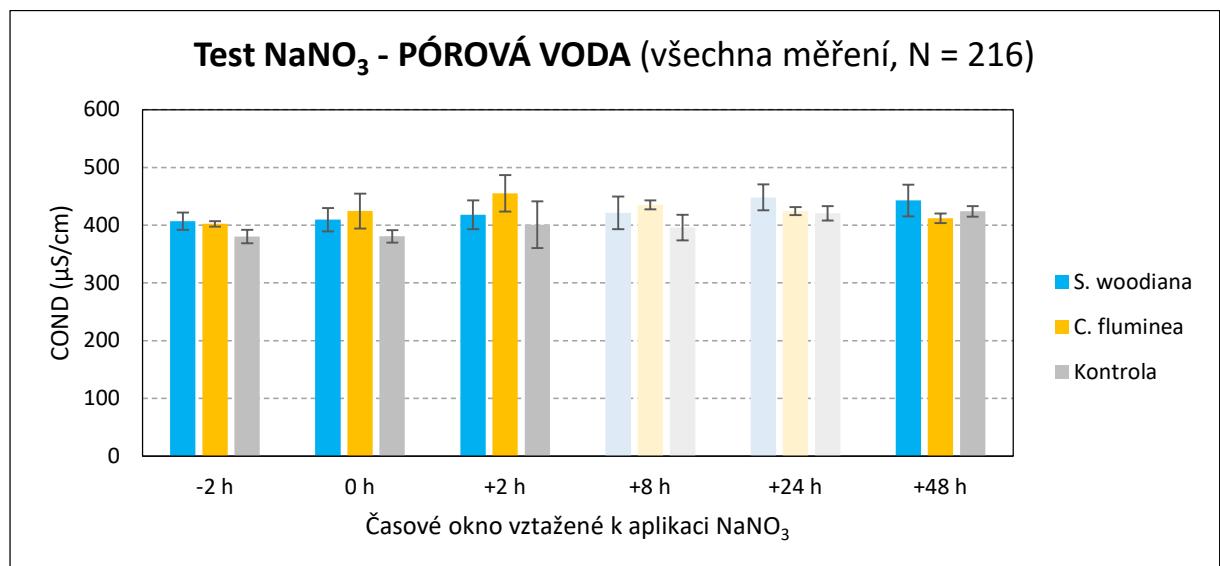
5.2.1 Hodnocení měření konduktivity

Hodnoty konduktivity ve volné vodě jsou graficky zobrazeny na obr. 13 (str. 31). Kontrolní měření na začátku testu („-2 h“) se nelišila od měření provedených při zahájení experimentu s NaCl (viz obr. 9, str. 28). Aplikace roztoku NaNO₃ způsobila mírné zvýšení

hodnot konduktivity („0 h“), přičemž v dalších časových oknech odběrů vzorků (od „2 h“ dále) se hodnoty postupně snižovaly. V čase „8 h“ se přitom dostaly na úroveň počátečních kontrolních měření a později se výrazně neměnily. Změny hodnot během 24 až 48 hodin od aplikace NaNO_3 se pohybovaly v řádu několika málo jednotek a byly ovlivněny množstvím řasové suspenze ve vzorku (viz kap. 5.1). Na konci experimentu („48 h“) bylo možné předpokládat, že se volná voda od NaNO_3 již prakticky vyčistila.



Obr. 13. Hodnoty konduktivity (vyjádřené jako průměr \pm SD) ve volné vodě v závislosti na času a typu kádinky (test NaNO_3)



Obr. 14. Hodnoty konduktivity (vyjádřené jako průměr \pm SD) v pórové vodě v závislosti na času a typu kádinky (test NaNO_3)

Výsledky měření konduktivity v pórové vodě jsou graficky znázorněny na obr. 14. Stejně jako při testu s NaCl odpovídaly kontrolní hodnoty v čase „-2 h“ hodnotám ve volné vodě, přičemž i zde byl patrný efekt bioturbace na začátku experimentu. Po aplikaci roztoku NaNO_3 („0 h“) se vlivem činnosti mlžů zvýšil vstup látky do substrátu, nicméně *Sinanodonta* měla jen

nepatrný vliv. Roli bioturbace dokládala větší variabilita hodnot v kádinkách s mlží oproti kontrolním kádinkám. Výraznější vliv rodu *Corbicula* lze sledovat i v čase „2 h“, kdy byla konduktivita na své nejvyšší úrovni. Zpoždění mezi aplikací roztoku a jeho vstupem do sedimentu bylo popsáno již u předchozího testu. Při dalších odběrech vzorků (od „8 h“ dále) se však projevily rozdíly mezi jednotlivými typy kádinek. Za přítomnosti rodu *Corbicula* se hodnoty konduktivity v póravé vodě postupně snižovaly (při velmi malé variabilitě hodnot), což souviselo s činností mlžů a ředícím efektem volné vody. Chování NaNO₃ v kádinkách s mlží rodu *Sinanodonta* se velice podobalo kontrolním kádinkám. V čase „8 h“ se hodnoty nepatrně zvýšily či stagnovaly, ale po uplynutí 24 hodin od aplikace látky bylo již zvýšení mnohem zřetelnější. Na konci experimentu („48 h“) pak došlo opět ke stagnaci. Na základě měření lze konstatovat, že vlivem aktivity rodu *Corbicula* došlo z velké části k vyředění NaNO₃ z póravé vody, zatímco rod *Sinanodonta* se v tomto smyslu nijak neprojevil. Chování látky v sedimentu (tj. hromadění v průběhu experimentu) bylo mnohem podobnější kádinkám bez bioturbačního efektu.

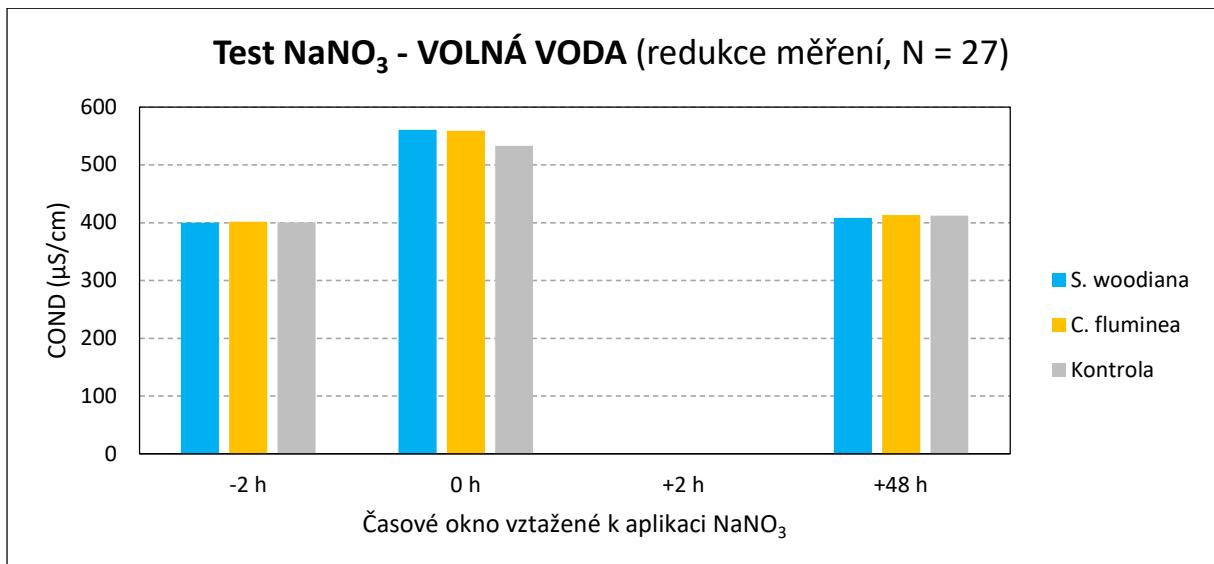
Redukovaný počet měření měl stejnou výpovědní hodnotu jako úplná datová sada, jak vyplývá ze srovnání obr. 13 a 15 (pro volnou vodu), a obr. 14 a 16 (pro póravou vodu; viz str. 31 a 33).

Konduktivita ve volné vodě (viz obr. 15, str. 33) dosahovala na začátku hodnot kolem 400 µS/cm, přičemž po aplikaci NaNO₃ došlo k jejich mírnému navýšení (496–566 µS/cm). Po uplynutí 48 hodin se látka ve vodě již prakticky nevyskytovala, jak dokazovaly hodnoty s průměrem 411 µS/cm (blízké počátečním podmínkám).

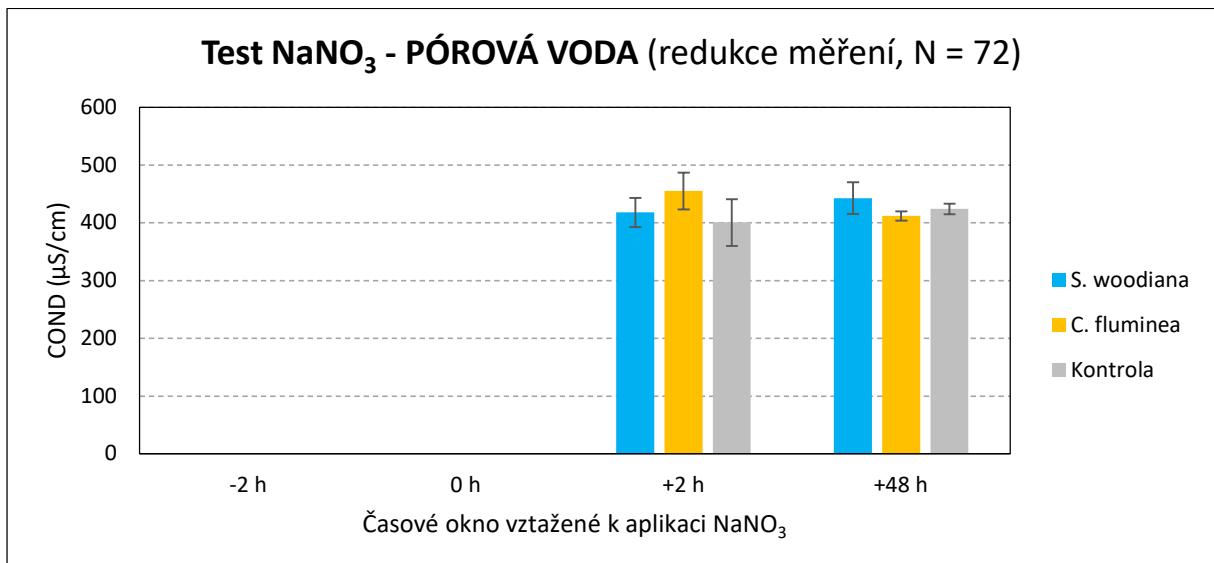
Hodnoty konduktivity v póravé vodě bylo možno vyhodnotit s využitím časových oken „2 h“ a „48 h“ (při omezeném počtu měření; viz obr. 16, str. 33). V prvním odběrovém okně byly zaznamenány tyto hodnoty (vyjádřené jako průměr ± SD): 437 ± 34 µS/cm (přítomnost mlžů), resp. 401 ± 40 µS/cm (absence mlžů). Rozdíly mezi oběma výběry byly statisticky významné (Wilcoxon-Mann-Whitney test, p < 0,01), nicméně svoji roli hrál i druh mlže. Hodnoty pro rod *Corbicula* (455 ± 32 µS/cm) byly totiž významně vyšší ve srovnání s rodem *Sinanodonta* (418 ± 25 µS/cm) (Wilcoxon-Mann-Whitney test, p < 0,05).

Efekt bioturbace byl méně zřetelný při zpracování měření na konci experimentu (po uplynutí 48 hodin), jelikož byly zjištěny velice podobné hodnoty konduktivity v póravé vodě bez ohledu na přítomnost (427 ± 25 µS/cm) či absenci (424 ± 9 µS/cm) mlžů. Jak vyplývá také ze statistického srovnání, tyto hodnoty se významně nelišily (Wilcoxon-Mann-Whitney test, p = 0,52). Nicméně stejně jako v čase „2 h“ i zde platilo, že rozdíly mezi oběma rody mlžů byly významné (*Corbicula*: 412 ± 8 µS/cm, *Sinanodonta*: 443 ± 27 µS/cm) (Welchův t-test, p = 0,01).

Rozdílné chování NaNO₃ v závislosti na typu kádinky nejlépe ilustruje párové srovnání hodnot napříč časem. Mlží rodu *Corbicula* se svou aktivitou podíleli na poklesu hodnot konduktivity v póravé vodě (455 ± 32 µS/cm → 412 ± 8 µS/cm), přičemž na konci experimentu byly rozdíly významně nižší (párový Wilcoxon test, p < 0,01). Nárůst hodnot i po 48-hodinovém experimentu byl zjištěn u většiny ostatních kádinek (*Sinanodonta*: 418 ± 25 µS/cm → 443 ± 27 µS/cm, resp. kontrolní kádinky: 401 ± 40 µS/cm → 424 ± 9 µS/cm). V obou případech však rozdíly nebyly statisticky významné (párový t-test, p = 0,08, resp. párový Wilcoxon test, p = 0,11), ačkoli se dosažená hladina testu (tj. p-hodnota) blížila hladině α = 0,05.



Obr. 15. Hodnoty konduktivity (vyjádřené jako průměr) ve volné vodě v závislosti na času a typu kádinky (test NaNO₃, redukovaná data)

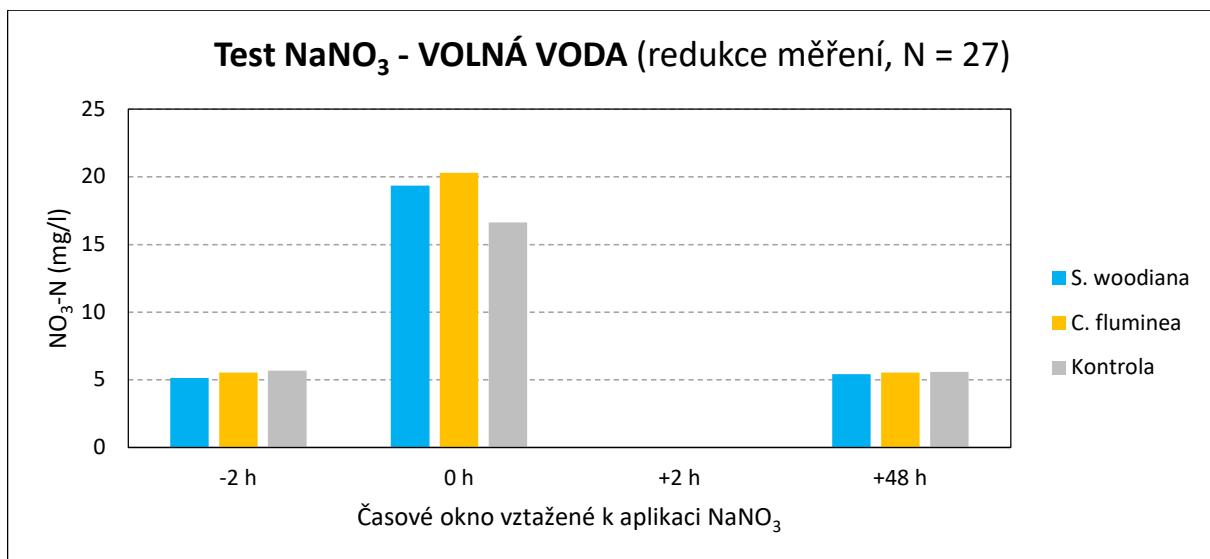


Obr. 16. Hodnoty konduktivity (vyjádřené jako průměr ± SD) v pórové vodě v závislosti na času a typu kádinky (test NaNO₃, redukovaná data)

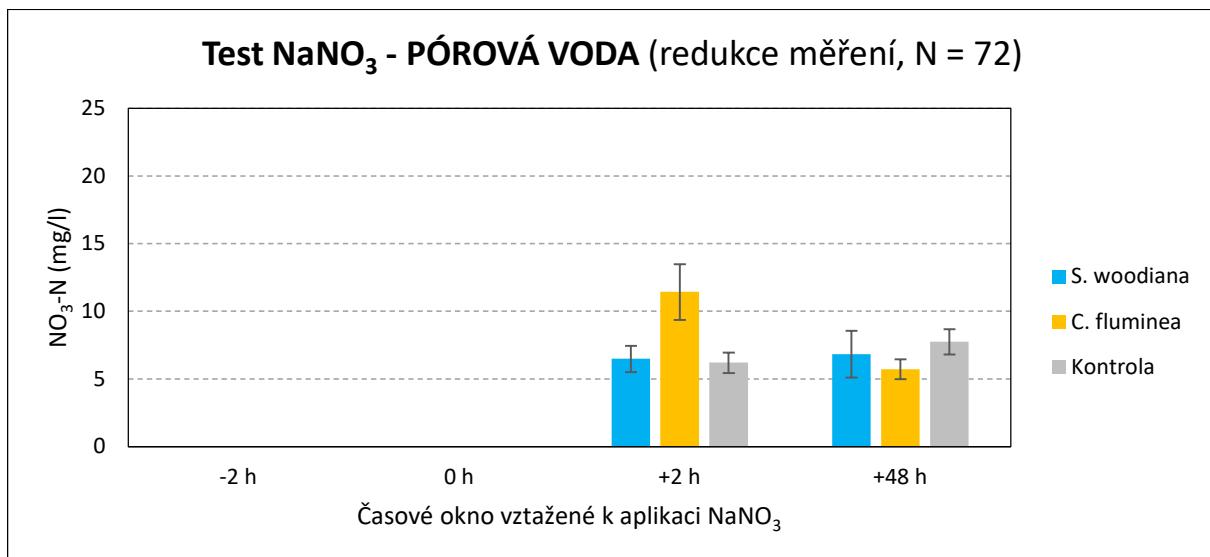
5.2.2 Hodnocení měření NO₃-N

Koncentrace dusičnanového dusíku ve vodě v kádinkách PFT systému lze vyhodnotit stejně jako v případě redukovaného data setu měření konduktivity (viz kap. 5.2.1) a následně je s těmito hodnotami také porovnat.

Hodnoty NO₃-N ve volné vodě (viz obr. 17, str. 34) se v čase „-2 h“ pohybovaly okolo průměru 5,4 mg/l, což odpovídalo hodnotám pro vodu dodávanou do PFT systému. Po aplikaci NaNO₃ („0 h“) se koncentrace navýšily na 15,5-24,3 mg/l (tj. 55-87 % očekávané koncentrace; viz kap. 4.2.3). Na konci experimentu („48 h“) se hodnoty vrátily na úroveň na začátku měření (5,5 mg/l). Hodnocení chování NaNO₃ ve volné vodě s využitím dusičnanového dusíku odpovídalo měření konduktivity (viz kap. 5.2.1).



Obr. 17. Hodnoty dusičnanu (vyjádřené jako průměr) ve volné vodě v závislosti na času a typu kádinky (test NaNO₃, redukovaná data)



Obr. 18. Hodnoty dusičnanu (vyjádřené jako průměr \pm SD) v pórové vodě v závislosti na času a typu kádinky (test NaNO₃, redukovaná data)

Hodnoty NO₃-N v pórové vodě (viz obr. 18) v čase „2 h“ se lišily v závislosti na přítomnosti mlže: $9,0 \pm 3,0$ mg/l (kádinky s mlži) $\times 6,2 \pm 0,8$ mg/l (kádinky bez mlžů; vyjádřeno jako průměr \pm SD). Rozdíly mezi oběma výběry byly statisticky významné (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $p = 0,001$). Koncentrace v případě rodu *Corbicula* ($11,4 \pm 2,1$ mg/l) byly přitom významně vyšší oproti rodu *Sinanodonta* ($6,5 \pm 1,0$ mg/l) (Welchův t-test, $p < 0,001$), což ukazovalo na rozdílný vliv mlžů. Veškeré zde uvedené výsledky byly v souladu s hodnocením konduktivity jakožto náhradního parametru pro měření dusičnanového dusíku.

Vliv přítomnosti mlžů na chování NaNO₃ v sedimentu byl patrný i při vyhodnocení měření na konci experimentu („48 h“). Hodnoty NO₃-N se v přítomnosti mlžů snížily na $6,3 \pm 1,4$ mg/l, zatímco v kontrolních kádinkách se zvýšily na $7,7 \pm 0,9$ mg/l. Rozdíly v čase „48 h“ byly statisticky významné (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $p < 0,001$), což při měření

konduktivity nebylo zjištěno (viz kap. 5.2.1). Koncentrace při zohlednění rodu mlže se již významně nelišily (*Corbicula*: $5,7 \pm 0,7$ mg/l, *Sinanodonta*: $6,8 \pm 1,7$ mg/l) (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $p = 0,09$). Ačkoli se rozdíly již neukázaly jako statisticky průkazné, dosažená hladina testu (tj. p-hodnota) byla blízká hladině $\alpha = 0,05$.

Srovnání hodnot zjištěných během experimentu (v časových oknech „2 h“ a „48 h“) ukázalo, že bioturbace mlžů rodu *Corbicula* hrála velice významnou roli při snižování koncentrace NO₃-N v sedimentu ($11,4 \pm 2,1$ mg/l → $5,7 \pm 0,7$ mg/l) (párový t-test, $p < 0,001$). Oproti tomu přítomnost rodu *Sinanodonta* se v tomto smyslu nejevila jako důležitá, neboť hodnoty v pórové vodě se prakticky nezměnily ($6,5 \pm 1,0$ mg/l → $6,8 \pm 1,7$ mg/l) (párový t-test, $p = 0,65$). V případě absence mlžů došlo ke zvýšení hodnot NO₃-N v sedimentu ($6,2 \pm 0,8$ mg/l → $7,7 \pm 0,9$ mg/l), přičemž tento nárůst byl statisticky významný (párový t-test, $p < 0,001$). Co se týká role mlžů, výsledky odpovídaly zjištěním při měření konduktivity. Vliv bioturbace na chování traceru (v pozitivním slova smyslu) byl zřejmý pro rod *Corbicula*, kdežto v případě rodu *Sinanodonta* mohl být překryt variabilitou aktivity mlžů. Zatímco ve čtyřech kádinkách byl zaznamenán pokles hodnot ($\Delta = 0,4\text{--}2,9$ mg/l), v dalších čtyřech koncentrace naopak vzrostly ($\Delta = 0,4\text{--}4,7$ mg/l). Změna hodnot NO₃-N v kádinkách bez mlžů v negativním slova smyslu pak byla oproti změně hodnot konduktivity již průkazná.

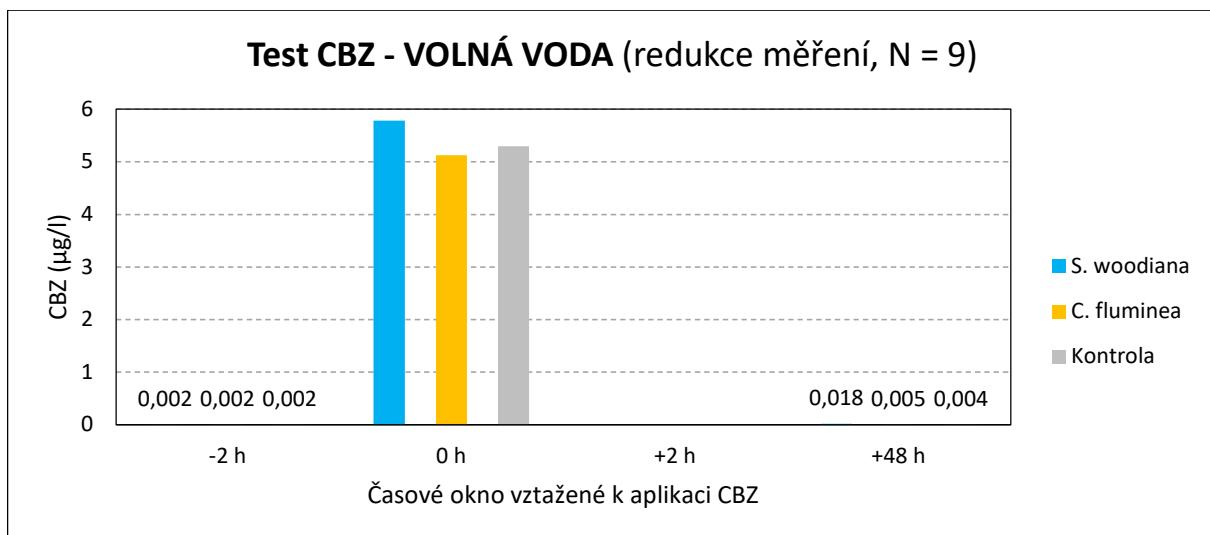
5.3 Test CBZ

Koncentrace cílového polutantu (karbamazepinu) v experimentálním PFT systému byly analyzovány na redukovaném počtu vzorků volné a pórové vody v kádinkách, přičemž v tomto případě již nebylo možné využít konduktivity jako náhradního parametru (viz kap. 5.2.1).

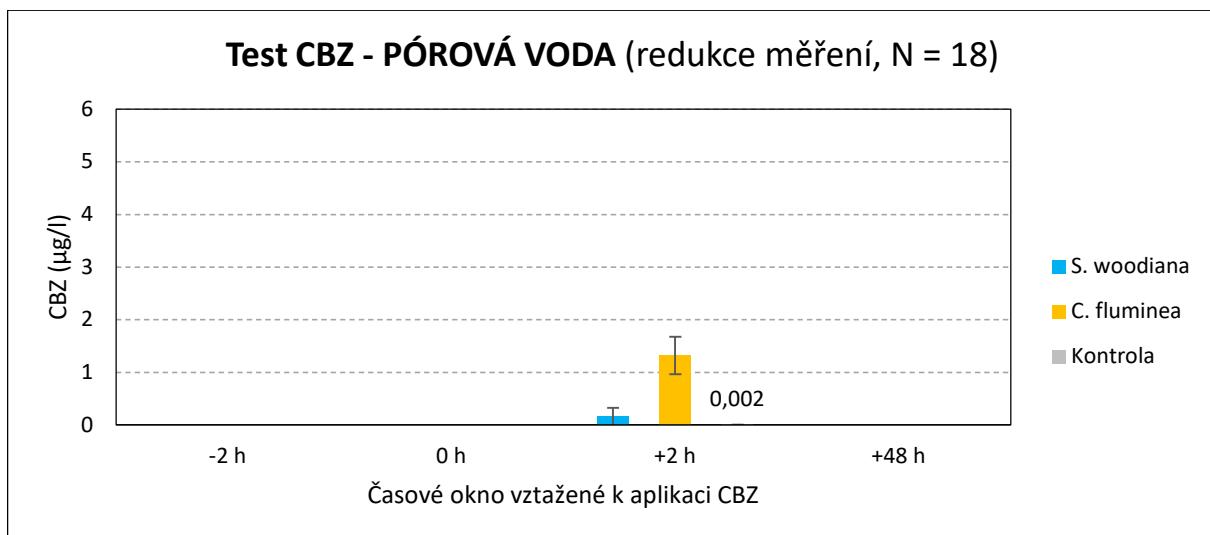
Hodnoty CBZ ve volné vodě (viz obr. 19, str. 36) na začátku testu ($t = \text{„}-2\text{ h“}$) nepřekročily mez detekce 2 ng/l (tj. 0,002 µg/l). Aplikace roztoku léčiva vedla k výraznému nárůstu koncentrace karbamazepinu ve vodě v čase „0 h“ (5,122–5,778 µg/l, což odpovídalo 102 až 116 % očekávané koncentrace; viz kap. 4.2.4). Po uplynutí 48 hodin tyto hodnoty následkem ředění výrazně poklesly až na úroveň 0,004–0,005 µg/l. V případě kádinky s přítomností rodu *Sinanodonta* sice byla zjištěna mírně zvýšená hodnota (0,018 µg/l), nicméně i tak lze konstatovat, že CBZ se ve volné vodě na konci experimentu již prakticky nevyskytoval.

Chování karbamazepinu v pórové vodě (viz obr. 20, str. 36) se v jednotlivých typech kádinek v čase „2 h“ významně lišilo (Kruskal-Wallis test, $p < 0,001$). Zatímco v případě přítomnosti rodu *Corbicula* dosahovaly koncentrace CBZ až 1,773 µg/l, druhý mlž (*Sinanodonta*) se svou činností podílel na vstupu polutantu do sedimentu v menší míře (max. koncentrace 0,474 µg/l). V kontrolních kádinkách bez mlžů byly (kromě jednoho vzorku) zjištěny hodnoty podmezí detekce. Párová srovnání ukázala, že uvedené skupiny se mezi sebou navzájem lišily (Wilcoxon test, $p < 0,01$).

Přes omezený počet hodnocených dat byl vliv bioturbace patrný již po 2 h. od aplikace látky. Výrazněji se v tomto smyslu projevila *Corbicula* než *Sinanodonta* (stejně jako při testu NaNO₃). Podrobnější zhodnocení však lze očekávat až po dokončení analýz všech vzorků.



Obr. 19. Hodnoty karbamazepinu (CBZ) ve volné vodě v závislosti na času a typu kádinky (test CBZ, redukovaná data)



Obr. 20. Hodnoty karbamazepinu (CBZ) (vyjádřené jako průměr \pm SD) v pórové vodě v závislosti na času a typu kádinky (test CBZ, redukovaná data)

6 Diskuze

6.1 Bioturbace mlžů a polutanty ve vodním prostředí

Pro sledování a následné bližší poznání chování látek ve vodním prostředí za přítomnosti biologického efektu mlžů byly zvoleny tři běžně se vyskytující polutanty: cílový karbamazepin (léčivo) a referenční látky typu chlorid (NaCl) a dusičnan (NaNO_3). Tok látek na rozhraní voda-sediment (v environmentálně reálných nebo blízkých koncentracích) byl kvantifikován v čase. Vzhledem k využití umělého sedimentu (písku/štěrku) během krátkodobých experimentů (48 h.) bylo možné zanedbat vliv biodegradace a sorpce, resp. fotodegradace perzistentního CBZ (Tixier et al. 2003; Khetan & Collins 2007; Arlos et al. 2015), a posílit tak význam přítomnosti mlžů.

V prostředí volné vody došlo ve všech třech experimentech k výraznému zvýšení hodnot parametrů pro sledování toku polutantů (tj. konduktivity, $\text{NO}_3\text{-N}$ a CBZ) těsně po vstupu látek do kádinek. Chování polutantů tedy odpovídalo předpokladu max. koncentrace látky ve volné vodě v daném časovém okně. Rozdíly mezi jednotlivými typy kádinek byly přitom zapříčiněny odlišnostmi při aplikaci látky v případě NaCl (intenzita stlačování pístu stříkačky s roztokem, rovnoměrnost aplikace po hladině vody v kádince aj.). Nominální a reálné koncentrace $\text{NO}_3\text{-N}$ se lišily zejména v důsledku konzervativního přístupu při výpočtech použitých pro míchání vody a roztoku látek (při stanovení objemu vody v kádinkách byl zohledněn pouze objem volné vody). Pokles hodnot v průběhu experimentů přisuzuji nejen procesu ředění v rámci PFT systému, ale i vstupu látek z vodního sloupce do sedimentu. Po uplynutí 48 hodin se polutanty ve volné vodě již (též) nevyskytovaly.

V podpovrchové (pórové) vodě také probíhal proces ředění, ovšem mnohem významněji se zde projevil biologický efekt mlžů. Přitom je třeba zohlednit nejen jejich přítomnost, ale i rozlišovat vliv konkrétního druhu.

Bioturbační aktivita rodu *Corbicula* měla za následek zvýšení toku všech sledovaných polutantů směrem do sedimentu po uplynutí několika málo hodin od vstupu látek do systému. Předpoklad max. koncentrace látky v pórové vodě v daném časovém okně byl tedy splněn v tomto případě. Zároveň se v důsledku zvýšení toku na rozhraní voda-sediment zvyšoval i ředící efekt, a proto se hodnoty měřených parametrů v pórové vodě na konci 48-hodinových experimentů blížily těm ve volné vodě. *Corbicula* je zástupcem infaunálních organismů, jež se zahrabávají do sedimentu (Turek & Hoellein 2015), což bylo možné pozorovat přímo v průběhu experimentů. Po ukončení každého testu byla zaznamenána pozice těchto mlžů v závislosti na hloubce sedimentu. V průměru se šest z deseti jedinců rodu *Corbicula* nacházelo ve spodní vrstvě sedimentu, což ukazuje na výraznou bioturbační aktivitu a přepracování substrátu.

Bioturbační aktivita rodu *Sinanodonta* se projevovala méně zřetelně ve srovnání s výše uvedeným mlžem. Navíc bylo možné pozorovat odlišnou dynamiku polutantů v závislosti na jejich původu. Při testu NaCl byl časový průběh hodnot konduktivity v pórové vodě podobný jako u rodu *Corbicula*, vliv velkých mlžů se pouze projevoval v pozvolnějším poklesu hodnot (tzn. v pomalejším procesu ředění). Při testu NaNO₃ však docházelo k výkyvům koncentrací $\text{NO}_3\text{-N}$ v čase, kdy na konci experimentu hodnoty v některých kádinkách poklesly, kdežto jinde naopak vzrostly oproti prvním hodinám po aplikaci roztoku látky (tok $\text{NO}_3\text{-N}$ se tak v mnohem podobal kádinkám bez mlžů). Na základě podrobných dat $\text{NO}_3\text{-N}$ lze uvažovat, že podobným způsobem se může chovat v přítomnosti jedinců *Sinanodonta* též karbamazepin. Rozdíly v toku referenčních polutantů na rozhraní voda-sediment lze přisuzovat jejich možným odlišným charakteristikám, což naznačuje i fakt, že NaNO₃ není běžně užívaným tracerem. *Sinanodonta* patří mezi epifaunální organismy, žijící ve svrchních vrstvách sedimentu (Kraszewski & Zdanowski 2007). Ve srovnání s infaunálními druhy tedy přepracovává sediment do menší hloubky, přičemž vyšší míru bioturbace endobentických organismů zjistili již Gilroy et al. (2012). Dva relativně velcí jedinci rodu *Sinanodonta* ve srovnání s deseti malými mlži rodu *Corbicula* v každé kádince měli mnohem méně prostoru k pohybu. To mohlo sehrát svou roli při snížené aktivitě velkých mlžů, jak uvádí Dupont et al. (2006) i pro jiné organismy. Naměřené hodnoty parametrů ve vzorcích pórové vody byly ovlivněny také umístěním odběrové hadičky ve vztahu k pozici málo se pohybujících mlžů. Vzhledem k nižší míře bioturbace rodu

Sinanodonta se tak může výrazněji projevit charakter sledovaných látek v rámci jejich toku mezi vodou a sedimentem.

6.2 Bioturbace vodních organismů a polutanty v prostředí

Bioturbátoři obecně svou aktivitou ovlivňují dynamiku živin/polutantů v prostředí. Leslie a Lamp (2019) se zabývali rolí hrabajících makrobezobratlých (kroužkovců (nitěnkovití), larev hmyzu (pakomárovití) a různonožých korýšů) při sledování distribuce fosforu mezi vodou a sedimentem odvodňovacích příkopů. Uvolnění fosforu ze sedimentu přitom dávali s odkazem na starší práce do souvislosti s dynamikou některých kovů (Fe, Al). Shen et al. (2020) zkoumali možnost využití tohoto poznatku v praxi, kdy sledovali chování plže *Bellamya aeruginosa* a jeho význam z hlediska imobilizace fosforu v sedimentu. V rámci dlouhodobého experimentu (trvajícího téměř jeden rok) zjistili, že plži jsou schopni podporovat zahrabání aplikovaných reziduí z úpraven vody, obsahujících imobilizační činidla (soli Fe, Al), a jejich promíchání se sedimentem. V důsledku bioturbace plžů tak může docházet k redukci transportu mobilního fosforu v sedimentu. Lze předpokládat, že podobný význam mohou mít také mlži (zejména infaunální druhy se schopností výrazného přepracování substrátu, jak dokládá tato bakalářská práce). Yang et al. (2021) se zaměřili na distribuci dusíku v prostředí volné vody a sedimentu při působení bioturbace larev pakomárovitých (*Propsilocerus akamusi*) a přítomnosti biofilmu. Ve svém experimentu prokázali, že právě jejich kombinace se může podílet na zvýšení míry odstranění dusíku ve sladkých vodách. Bioturbátoři totiž svou činností uvolňují látky ze sedimentu a zároveň zvyšují diverzitu bakteriálního společenstva, jež poté efektivněji dané látky převádí a odstraňuje z prostředí. V případě transportu polutantů směrem do volné vody bylo zjištěno, že právě uvolněné látky mohou posloužit jako zdroj potravy pro biofilm v sedimentových mikrobiálních palivových článcích (Xu et al. 2019).

Kromě kovů se autoři zabývají také problematikou perzistentních organických polutantů ve vodním prostředí. Mustajärvi et al. (2017) uvádí, že tyto látky se uvolňují ze sedimentu, a pro sledování jejich toku na rozhraní voda-sediment vyvinuli průtočné bentické „komory“. Jejich předchůdci využívali podobná zařízení, jež však byla uzavřena, což zapříčinilo vyčerpání kyslíku uvnitř „komory“. Nová zařízení s nepřetržitým pumpováním vody skrz „komoru“ byla instalována v Baltském moři a měření potvrdila zvýšený tok PCB a PAU mezi sedimentem a volnou vodou, jež lze alespoň částečně přisoudit účinku bioturbace zdejší makrofauny. Význam hrabání organismů na tok polutantů byl zjištěn i v této práci (v laboratorních podmínkách), tento efekt však může být v reálném prostředí překryt dalšími vlivy. Tian et al. (2019) se zabývali rolí mnohoštětinatého kroužkovce (*Perinereis aibuhitensis*) v procesu uvolňování uhlovodíků včetně PAU v pobřežním sedimentu. Autoři zjistili, že organismy se svou činností podílely na vyrovnaní průběhu křivky koncentrací polutantů ve vertikálním profilu sedimentu, a tyto změny přisuzují zvýšenému toku látek směrem do volné vody. Tong et al. (2019) provedli obdobný experiment bez volné vody. Také v tomto případě se koncentrace ropných uhlovodíků v sedimentu za přítomnosti *Perinereis aibuhitensis* značně snížily, tudíž role mikroorganismů při degradaci polutantů, resp. strávení látek vlastním bioturbátorem hrají významnější roli, než se původně předpokládalo. Lin et al. (2018) hodnotili vliv bioturbace kroužkovců (*Lumbriculus variegatus*) při čištění sedimentu (kontaminace DDT) pomocí tenké vrstvy aktivního uhlí. Aktivní uhlí se silnými sorpčními vlastnostmi (Ghosh et al. 2011) mělo výrazný podíl na snížení

toku DDT bez bioturbace i s ní. Nicméně význam organismů se projevil v pozitivním slova smyslu tehdy, když došlo k překrytí vrstvy uhlí dalším sedimentem, jelikož v důsledku míchání vrstev byl tok DDT nižší o 77 % oproti absenci bioturbátorů. Stejně jako v případě promíchání sedimentu a reziduí z úpraven vody, i zde by se mohla významněji projevit aktivita mlžů.

Uvolněné polutanty v důsledku bioturbační aktivity mají vliv na jejich expozici a příjem pro samotné bioturbátory i celé společenstvo okolo nich (Pang et al. 2012). Kovy se mohou akumulovat jak ve vodních rostlinách, tak rybách (Tian et al. 2020). Van der Meer et al. (2017) na základě starších studií (zaměřených na působení mědi na larvy hmyzu, kroužkovce a korýše) zjistili, že nejaktivnější bioturbátoři patří mezi nejcitlivější bentické bezobratlé živočichy vůči kontaminaci prostředí. Polutanty totiž mohou zpětně ovlivnit vlastní aktivitu bioturbátorů (Nogaro et al. 2009; Pang et al. 2012). Dairain et al. (2018) zkoumali účinek kadmia na bioturbaci korýše *Upogebia* cf. *pusilla*, přičemž bylo zjištěno, že kontaminace stimuluje aktivitu tohoto druhu. Autoři nicméně upozorňují, že experiment byl prováděn s individuálně drženými korýši, ačkoli *Upogebia* je známa vysokou hustotou ve svém přirozeném prostředí. Tong et al. (2019) také odhalili stimulaci účinnosti bioturbace při vysoké koncentraci polutantů, nicméně na jedno akvárium opět připadal jediný organismus. Boj o prostor přitom často vede ke snížení aktivity jedinců (Duport et al. 2006), což bylo uvažováno jako jeden z důvodů nižší míry ovlivnění toku polutantů ve zde popisovaných kádinkách s mlži rodu *Sinanodonta*. Thit et al. (2020) při nízké koncentraci mědi a nízké hustotě bioturbátorů (nitěnka *Tubifex tubifex*) též zaznamenali zvýšenou aktivitu organismů, kdežto Hoang et al. (2018) nezjistili žádné ovlivnění bioturbace nitěnek, tentokrát hromadně držených v prostředí obohaceném kadmiem.

Pohyb látek mezi vodním sloupcem a sedimentem je obousměrný: v této bakalářské práci jsem se soustředila na popis toku znečišťujících látek z volné do podpovrchové vody. Hoang et al. (2018) zjistili, že nitěnky se mohou podílet na transportu (vázaného) kadmia směrem dolů do hlubších vrstev sedimentu. Polutanty se dostávají do okolí kořenů mokřadních rostlin, jako např. *Typha latifolia*, přičemž dochází k vyšší bioakumulaci Cd v těchto rostlinách. Bioturbace v kombinaci s fytoremediací má potenciální využití při procesech bioremediace znečištěného sedimentu (Hoang et al. 2018) nebo při odstranění polutantů v umělých mokřadech (Yang et al. 2020). Pennafirme et al. (2020) se zabývali vztahem bioturbace (makroorganismů) a mikroorganismů při kontaminaci kovy (Zn, Cu, Cd). Jelikož kovy nejsou biodegradabilní, jejich transport prostřednictvím aktivity mořského kroužkovce *Laeonereis acuta* z volné vody do sedimentu zpřístupňuje polutanty bakteriálním nárostům, vyskytujícím se ve vyhrabaných chodbách. Bakterie využívají sekret kroužkovců na stěnách chodeb jako zdroj uhlíku, přičemž dochází ke zlepšení tvorby biofilmu a zvýšení imobilizace kovů. Struktura chodeb infaunálních mlžů na rozdíl od uvedené práce nebyla bohužel blíže zkoumána.

Pro sledování toku látek na rozhraní voda-sediment se mimo laboratorních a terénních měření/experimentů využívají simulace pomocí nejrůznějších modelů. Kvůli značné nejistotě při nastavení parametrů popisujících bioturbaci tento proces často není uvažován (Mustajärvi et al. 2017), ačkoliv i zde představené výsledky dokládají jeho význam. Lin et al. (2018) využili matematického modelu přesunu hmoty se zohledněním aktivity organismů, přičemž výsledky modelu potvrdily experimentální výsledky. Digitální 3D modelování pomocí PC tomografie se ukázalo jako užitečný nástroj při monitoringu chodeb organismů, jako např. kroužkovců (Pennafirme et al. 2019; Pennafirme et al. 2020). Tento nástroj by mohl najít uplatnění také při dalším výzkumu role bioturbátorů včetně mlžů v závislosti na použitém typu substrátu.

7 Závěr

- Cílem této práce bylo v rámci laboratorního experimentu charakterizovat chování kontaminantů ve vodním prostředí s biologickým efektem bentických organismů za použití referenčního a cílového kontaminantu, přičemž časoprostorová distribuce látek mezi volnou a podpovrchovou vodou byla vyhodnocena se zohledněním výskytu mlžů na jejich rozhraní.
- V prostředí volné vody bylo chování všech látek ovlivněno zejména procesem ředění a v menší míře také vstupem z vodního sloupce do sedimentu. Bioturbační aktivita sledovaných invazních mlžů (*Corbicula fluminea*, *Sinanodonta woodiana*) měla za následek zvýšení toku referenčního kontaminantu NaCl směrem do hloubky dnového substrátu. Přepracování sedimentu nicméně umožnilo také zvýšený tok volné vody, jež se podílela na ředění kontaminované vody v prostorech pórů mezi zrny substrátu. Při sledování chování doplňkového referenčního kontaminantu NaNO₃ a cílového léčiva karbamazepinu (CBZ) se přítomnost druhu *Corbicula fluminea* projevila obdobným způsobem (tzn. zvýšením toku látek mezi vodou a sedimentem a zároveň zvýšením ředícího efektu). Druh *Sinanodonta woodiana* svou činností ovlivňoval distribuci uvedených látek mezi volnou a podpovrchovou vodou v menší míře. Jeho bioturbační efekt byl často překryt variabilitou dat v závislosti na aktivitě daného druhu mlže v jednotlivých kádinkách. Při vyšší aktivitě jeho přítomnost měla podobný vliv na chování NaNO₃, resp. CBZ, jako *Corbicula*, zatímco při nižší aktivitě nedošlo k výraznějšímu přepracování substrátu a příslušné látky jenom obtížně pronikaly do sedimentu (jako v případě absence mlžů).
- Stanovené cíle práce tedy byly splněny, oproti původnímu záměru byl hodnocen tok tří (dvou referenčních a jednoho cílového) kontaminantů mezi vodou a sedimentem. Ukázalo se, že právě doplňkový kontaminant NaNO₃ (v podobě dusičnanového dusíku) se svým chováním blížil chování CBZ, nicméně infaunální organismy se svou bioturbační aktivitou projevovaly výrazněji než ty epifaunální bez ohledu na typ použitého kontaminantu.
- Zjištěné poznatky lze uplatnit při hodnocení ekosystémových služeb bioturbátorů jakožto ekosystémových inženýrů a měly by být také zohledněny při sledování vlivu biotické disturbance na tok látek ve vodním prostředí. Dále mohou být využity i při hodnocení vlivu invazních mlžů na organismy žijící uvnitř dna vodních útvarů (včetně raných vývojových stádií původních druhů velkých mlžů).
- Další výzkum lze směřovat na využití dalších druhů bioturbátorů a jejich vzájemnou interakci při ovlivnění toku kontaminantů jak z volné do podpovrchové vody, tak také v opačném směru. Pro větší přiblížení se reálným podmínkám by navíc kontaminanty měly být experimentálně zkoumány při vícenásobném výskytu znečišťujících látek. To může být předmětem dalších bakalářských, resp. diplomových prací.

8 Literatura

- Aguirre-Martínez GV, Del Valls AT, Martín-Díaz ML. 2015. Yes, caffeine, ibuprofen, carbamazepine, novobiocin and tamoxifen have an effect on *Corbicula fluminea* (Müller, 1774). Ecotoxicology and Environmental Safety **120**:142-154.
- Achard M, Baudrimont M, Boudou A, Bourdineaud JP. 2004. Induction of a multixenobiotic resistance protein (MXR) in the Asiatic clam *Corbicula fluminea* after heavy metal exposure. Aquatic Toxicology **67**:347-357.
- Alder AC, et al. 2006. Consumption and occurrence. Pages 15-54 in Ternes TA, Joss A, editors. Human pharmaceuticals, hormones and fragrances: the challenge of micropollutants in urban water management. IWA, London.
- Aldridge D, Madhyastha A, Van Damme D. 2012. IUCN: *Corbicula fluminea*. IUCN Red List of threatened species. Available from <https://www.iucnredlist.org/species/155736/735697> (accessed March 2022).
- Almeida A, Calisto V, Esteves VI, Schneider RJ, Soares AMVM, Figueira E, Freitas R. 2014. Presence of the pharmaceutical drug carbamazepine in coastal systems: Effects on bivalves. Aquatic Toxicology **156**:74-87.
- Alvarino T, Suarez S, Lema JM, Omil F. 2014. Understanding the removal mechanisms of PPCPs and the influence of main technological parameters in anaerobic UASB and aerobic CAS reactors. Journal of Hazardous Materials **278**:506-513.
- Andreozzi R, Raffaele M, Paxéus N. 2003. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. Chemosphere **50**:1319-1330.
- Araujo R, et al. 2009. The naiades of the Iberian Peninsula. Iberus **27**:7-72.
- Archambault JM, Prochazka ST, Cope WG, Shea D, Lazaro PR. 2018. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface waters, sediments, and unionid mussels: Relation to road crossings and implications for chronic mussel exposure. Hydrobiologia **810**:465-476.
- Arlos MJ, Bragg LM, Parker WJ, Servos MR. 2015. Distribution of selected antiandrogens and pharmaceuticals in a highly impacted watershed. Water Research **72**:40-50.
- Atkinson CL. 2013. Razor-backed musk turtle (*Sternotherus carinatus*) diet across a gradient of invasion. Herpetological Conservation and Biology **8**:561-570.
- Banta GT, Andersen O. 2003. Bioturbation and the fate of sediment pollutants: Experimental case studies of selected infauna species. Vie Milieu **53**:233-248.
- Banzhaf S, Nödler K, Licha T, Krein A, Scheytt T. 2012. Redox-sensitivity and mobility of selected pharmaceutical compounds in a low flow column experiment. Science of the Total Environment **438**:113-121.
- Barnhart MC, Haag WR, Roston WN. 2008. Adaptations to host infection and larval parasitism in Unionoida. Journal of the North American Benthological Society **27**:370-394.

- Baudrimont M, Andres S, Durrieu G, Boudou A. 2003. The key role of metallothioneins in the bivalve *Corbicula fluminea* during depuration phase, after in situ exposure to Cd and Zn. *Aquatic Toxicology* **63**:89-102.
- Beckett DC, Green BW, Thomas SA, Miller AC. 1996. Epizoic invertebrate communities on upper Mississippi River unionid bivalves. *American Midland Naturalist* **135**:102-114.
- Bellona C, Drewes JE, Oelker G, Luna J, Filteau G, Amy G. 2008. Comparing nanofiltration and reverse osmosis for drinking water augmentation. *Journal of the American Water Works Association* **100**:102-116.
- Beran L. 2018. Korbikula asijská – další přistěhovalec dobývá Prahu. *Živa* **5**:257-258.
- Bespalya YV, Aksanova OV, Zubriy NA. 2018. Molluscan fauna of the lower reaches of the Syoyakha River (Yamal Peninsula). *Arctic Environmental Research* **18**:76-81.
- Bielen A, Bošnjak I, Sepčić K, Jaklič M, Cvitanic M, Lušić J, Lajtner J, Simčić T, Hudina S. 2016. Differences in tolerance to anthropogenic stress between invasive and native bivalves. *Science of the Total Environment* **543**:449-459.
- Bieler R, et al. 2014. Investigating the bivalve tree of life – an exemplar-based approach combining molecular and novel morphological characters. *Invertebrate Systematics* **28**:32-115.
- Bódis E, Tóth B, Sousa R. 2014. Massive mortality of invasive bivalves as a potential resource subsidy for the adjacent terrestrial food web. *Hydrobiologia* **735**:253-262.
- Boeker C, Lueders T, Mueller M, Pander J, Geist J. 2016. Alteration of physico-chemical and microbial properties in freshwater substrates by burrowing invertebrates. *Limnologica* **59**:131-139.
- Bolotov I, et al. 2014. Ecology and conservation of the endangered Indochinese freshwater pearl mussel, *Margaritifera laosensis* (Lea, 1863) in the Nam Pe and Nam Long Rivers, Northern Laos. *Tropical Conservation Science* **7**:706-719.
- Bound JP, Voulvoulis N. 2005. Household disposal of pharmaceuticals as a pathway for aquatic contamination in the United Kingdom. *Environmental Health Perspectives* **113**:1705-1711.
- Brandão FP, Rodrigues S, Castro BB, Goncalves F, Antunes SC, Nunes B. 2013. Short-term effects of neuroactive pharmaceutical drugs on a fish species: Biochemical and behavioural effects. *Aquatic Toxicology* **144-145**:218-229.
- Brodie MJ. 2010. Antiepileptic drug therapy the story so far. *Seizure* **19**:650-655.
- Brodie MJ. 2017. Tolerability and safety of commonly used antiepileptic drugs in adolescents and adults: a clinician's overview. *CNS Drugs* **31**:135-147.
- Bruesewitz DA, Tank JL, Bernot MJ. 2008. Delineating the effects of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) on N transformation rates using laboratory mesocosms. *Journal of the North American Benthological Society* **27**:236-251.

- Brun GL, Bernier M, Losier R, Doe K, Jackman P, Lee HB. 2006. Pharmaceutically active compounds in Atlantic Canadian sewage treatment plant effluents and receiving waters, and potential for environmental effects as measured by acute and chronic aquatic toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry* **25**:2163-2176.
- Buchwalter DB, Cain DJ, Clements WH, Luoma SN. 2007. Using biodynamic models to reconcile differences between laboratory toxicity tests and field biomonitoring with aquatic insects. *Environmental Science and Technology* **41**:4821-4828.
- Calisto V, Domingues MRM, Erny GL, Esteves VI. 2011. Direct photodegradation of carbamazepine followed by micellar electrokinetic chromatography and mass spectrometry. *Water Research* **45**:1095-1104.
- Carlton JT, Geller JB. 1993. Ecological roulette: the global transport of non-indigenous marine organisms. *Science* **261**:78-82.
- Casey FXM, Hakk H, Šimůnek J, Larsen GL. 2004. Fate and transport of testosterone in agricultural soils. *Environmental Science and Technology* **38**:790-798.
- Cataldo D, Boltovskoy D. 1999. Population dynamics of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) in the Paraná River delta (Argentina). *Hydrobiologia* **380**:153-163.
- Cataldo D, Boltovskoy D, Stripeikis J, Pose M. 2001a. Condition index and growth rates of field caged *Corbicula fluminea* (Bivalvia) as biomarkers of pollution gradients in the Paraná River delta (Argentina). *Aquatic Ecosystem Health and Management* **4**:187-201.
- Cataldo D, Colombo JC, Boltovskoy D, Bilos C, Landoni P. 2001b. Environmental toxicity assessment in the Paraná River delta (Argentina): Simultaneous evaluation of selected pollutants and mortality rates of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) early juveniles. *Environmental Pollution* **112**:379-389.
- Clara M, Strenn B, Kreuzinger N. 2004. Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: Investigations on the behaviour of carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water Research* **38**:947-954.
- Clements WH, Cadmus P, Brinkman SF. 2013. Responses of aquatic insects to Cu and Zn in stream microcosms: Understanding differences between single species tests and field responses. *Environmental Science and Technology* **47**:7506-7513.
- Cleuvers M. 2003. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters* **142**:185-194.
- Cohen AN, Carlton JT. 1998. Accelerating invasion rate in a highly invaded estuary. *Science* **279**:555-558.
- Cohen RRH, Dresler PV, Phillips EJP, Cory RL. 1984. The effect of the Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, on phytoplankton of the Potomac River, Maryland. *Limnology and Oceanography* **29**:170-180.
- Corsi I, Pastore AM, Lodde A, Palmerini E, Castagnolo L, Focardi S. 2007. Potential role of cholinesterases in the invasive capacity of the freshwater bivalve, *Anodonta woodiana* (Bivalvia: Unionacea): a comparative study with the indigenous species of the genus,

- Anodonta* sp. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology **145**:413-419.
- Cunningham VL, Perino C, D'Aco VJ, Hartmann A, Bechter R. 2010. Human health risk assessment of carbamazepine in surface waters of North America and Europe. Regulatory Toxicology and Pharmacology **56**:343-351.
- Cuttelod A, Seddon M, Neubert E. 2011. European Red List of non-marine molluscs. Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- Czapinski P, Blaszczyk B, Czuczwar SJ. 2005. Mechanisms of action of antiepileptic drugs. Current Topics in Medicinal Chemistry **5**:3-14.
- Dairain A, de Montaudouin X, Gonzalez P, Ciutat A, Baudrimont M, Maire O, Legeay A. 2018. Do trace metal contamination and parasitism influence the activities of the bioturbating mud shrimp *Upogebia* cf. *pusilla*? Aquatic Toxicology **204**:46-58.
- Darrigran G. 2002. Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland freshwater environments. Biological Invasions **4**:145-156.
- Daughton CG. 2003. Cradle-to-cradle stewardship of drugs for minimizing their environmental disposition while promoting human health. I. Rationale for and avenues toward a green pharmacy. Environmental Health Perspectives **111**:757-774.
- Daughton CG, Ternes TA. 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? Environmental Health Perspectives **107**:907-938.
- de Solla SR, Gilroy EAM, Klinck JS, King LE, McInnis R, Struger J, Backus SM, Gillis PL. 2016. Bioaccumulation of pharmaceuticals and personal care products in the unionid mussel *Lasmigona costata* in a river receiving wastewater effluent. Chemosphere **146**:486-496.
- Deckers CLP, Czuczwar SJ, Hekster YA, Keyser A, Kubova H, Meinardi H, Patsalos PN, Renier WO, Van Rijn CM. 2000. Selection of antiepileptic drug polytherapy based on mechanisms of action: the evidence reviewed. Epilepsia **41**:1364-1374.
- Díaz-Cruz MS, López de Alda MJ, Barceló D. 2003. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. Trends in Analytical Chemistry **22**:340-351.
- Dillon RT. 2004. The ecology of freshwater molluscs. Cambridge University Press, Cambridge.
- Dobler AH, Hoos P, Geist J. 2022. Distribution and potential impacts of non-native Chinese pond mussels *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) in Bavaria, Germany. Biological Invasions (in press).
- Doherty FG. 1990. The Asiatic clam, *Corbicula* spp., as a biological monitor in freshwater environments. Environmental Monitoring and Assessment **14**:143-181.
- Doherty FG, Cherry DS, Cairns J. 1987. Spawning periodicity of the Asiatic clam *Corbicula fluminea* in the New River, Virginia. American Midland Naturalist **117**:71–82.

- Doll TE, Frimmel FH. 2003. Fate of pharmaceuticals – photodegradation by simulated solar UV-light. *Chemosphere* **52**:1757-1769.
- Douda K. 2018. Škeblice asijská – černý pasažér mezi jinak ohroženými mlži. *Živa* **5**:254-255.
- 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.
- Drewes JE, Heberer T, Rauch T, Reddersen K. 2003. Fate of pharmaceuticals during ground water recharge. *Ground Water Monitoring and Remediation* **23**:64-72.
- Dudgeon D, Morton B. 1983. The population dynamics and sexual strategy of *Anodonta woodiana* (Bivalvia: Unionacea) in Plover Cove Reservoir, Hong Kong. *Journal of Zoology* **201**:161-183.
- Dudgeon D, et al. 2006. Freshwater biodiversity: Importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews* **81**:163-182.
- Duport E, Stora G, Tremblay P, Gilbert F. 2006. Effects of population density on the sediment mixing induced by the gallery-diffusor *Hediste (Nereis) diversicolor* O. F. Müller, 1776. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **336**:33-41.
- Ehrenfeld JG. 2010. Ecosystem consequences of biological invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **41**:59-80.
- Evgenidou EN, Konstantinou IK, Lambropoulou DA. 2015. Occurrence and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: a review. *Science of the Total Environment* **505**:905-926.
- Faust C, Stallknecht D, Swayne D, Brown J. 2009. Filter-feeding bivalves can remove avian influenza viruses from water and reduce infectivity. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* **276**:3727-3735.
- Fent K, Weston AA, Caminada D. 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* **76**:122-159.
- Fernández C, González-Doncel M, Pro J, Carbonell G, Tarazona JV. 2010. Occurrence of pharmaceutically active compounds in surface waters of the Henares-Jarama-Tajo river system (Madrid, Spain) and a potential risk characterization. *Science of the Total Environment* **408**:543-551.
- Ferrari B, Paxéus N, Lo Guidice R, Pollio A, Garric J. 2003. Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: Study of carbamazepine, clofibrate acid, and diclofenac. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **55**:359-370.
- Ferrer I, Thurman EM. 2012. Analysis of 100 pharmaceuticals and their degradates in water samples by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1259**:148-157.
- Freitas R, Almeida A, Pires A, Velez C, Calisto V, Schneider RJ, Esteves VI, Wrona FJ, Figueira E, Soares AMVM. 2015. The effects of carbamazepine on macroinvertebrate

- species: Comparing bivalves and polychaetes biochemical responses. *Water Research* **85**:137-147.
- Fuller SLH, Richardson JW. 1977. Amensalistic competition between *Corbicula manilensis* (Philippi), the Asiatic clam (Corbiculidae), and freshwater mussels (Unionidae) in the Savannah River of Georgia and South Carolina (Mollusca: Bivalvia). *Bulletin of the Association of Southeastern Biologists* **24**:52.
- Gavrilescu M, Demnerová K, Aamand J, Agathos S, Fava F. 2015. Emerging pollutants in the environment: Present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New Biotechnology* **32**:147-156.
- Geist J. 2011. Integrative freshwater ecology and biodiversity conservation. *Ecological Indicators* **11**:1507-1516.
- Gerino M, Stora G, Francois-Carcaillet F, Gilbert F, Poggiale JC, Mermilliod-Blondin F, Desrosiers G, Vervier P. 2003. Macro-invertebrate functional groups in freshwater and marine sediments: a common mechanistic classification. *Vie Milieu* **53**:221-231.
- Ghosh U, Luthy RG, Cornelissen G, Werner D, Menzie CA. 2011. In-situ sorbent amendments: a new direction in contaminated sediment management. *Environmental Science and Technology* **45**:1163-1168.
- Gillis PL, Salerno J, McKay VL, Bennett CJ, Lemon KLK, Rochfort QJ, Prosser RS. 2022. Salt-laden winter runoff and freshwater mussels: Assessing the effect on early life stages in the laboratory and wild mussel populations in receiving waters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **82**:239-254.
- Gilroy EAM, Balakrishnan VK, Solomon KR, Sverko E, Sibley PK. 2012. Behaviour of pharmaceuticals in spiked lake sediments – Effects and interactions with benthic invertebrates. *Chemosphere* **86**:578-584.
- Gioia R, Dachs J. 2012. The riverine input–output paradox for organic pollutants. *Frontiers in Ecology and the Environment* **10**:405-406.
- González VL, Giribet G. 2015. A multilocus phylogeny of archiheterodont bivalves (Mollusca, Bivalvia, Archiheterodonta). *Zoologica Scripta* **44**:41-58.
- González VL, Andrade SCS, Bieler R, Collins TM, Dunn CW, Mikkelsen PM, Taylor JD, Giribet G. 2015. A phylogenetic backbone for Bivalvia: an RNA-seq approach. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* **282** (20142332) DOI: 10.1098/rspb.2014.2332.
- Gust M, Fortier M, Garric J, Fournier M, Gagné. 2013. Effects of short-term exposure to environmentally relevant concentrations of different pharmaceutical mixtures on the immune response of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Science of the Total Environment* **445-446**:210-218.
- Gutiérrez JL, Jones CG, Strayer DL, Iribarne OO. 2003. Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. *Oikos* **101**:79-90.

- Haag WR. 2012. North American freshwater mussels: Natural history, ecology and conservation. Cambridge University Press, New York.
- Hai FI, Yang S, Asif MB, Sencadas V, Shawkat S, Sanderson-Smith M, Gorman J, Xu ZQ, Yamamoto K. 2018. Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in water: Occurrences, toxicological effects, regulations and removal by wastewater treatment technologies. *Water* 10 (107) DOI: 10.3390/w10020107.
- Hakenkamp CC, Palmer MA. 1999. Introduced bivalves in freshwater ecosystems: the impact of *Corbicula* on organic matter dynamics in a sandy stream. *Oecologia* **119**:445-451.
- Halling-Sørensen B, Nors Nielsen S, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lützhoff HC, Jørgensen SE. 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – a review. *Chemosphere* **36**:357-393.
- Han GH, Hur HG, Kim SD. 2006. Ecotoxicological risk of pharmaceuticals from wastewater treatment plants in Korea: Occurrence and toxicity to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **25**:265-271.
- Harper EM, Dreyer H, Steiner G. 2006. Reconstructing the Anomalodesmata (Mollusca: Bivalvia): Morphology and molecules. *Zoological Journal of the Linnean Society* **148**:395-420.
- Heberer T. 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters* **131**:5-17.
- Heberer T, Feldmann D. 2005. Contribution of effluents from hospitals and private households to the total loads of diclofenac and carbamazepine in municipal sewage effluents—modelling versus measurements. *Journal of Hazardous Materials* **122**:211-218.
- Heberer T, Reddersen K, Mechlinski A. 2002. From municipal sewage to drinking water: Fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment in urban areas. *Water Science and Technology* **46**:81-88.
- Heberer T, Mechlinski A, Fanck B, Knappe A, Massmann G, Pekdeger A, Fritz B. 2004. Field studies on the fate and transport of pharmaceutical residues in bank filtration. *Ground Water Monitoring and Remediation* **24**:70-77.
- Hebig KH, Groza LG, Sabourin MJ, Scheytt TJ, Ptacek CJ. 2017. Transport behavior of the pharmaceutical compounds carbamazepine, sulfamethoxazole, gemfibrozil, ibuprofen, and naproxen, and the lifestyle drug caffeine, in saturated laboratory columns. *Science of the Total Environment* **590-591**:708-719.
- Hernando MD, Mezcua M, Fernández-Alba AR, Barceló D. 2006. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta* **69**:334-342.
- Hoang TK, Probst A, Orange D, Gilbert F, Elger A, Kallerhoff J, Laurent F, Bassil S, Duong TT, Gerino M. 2018. Bioturbation effects on bioaccumulation of cadmium in the wetland plant *Typha latifolia*: a nature-based experiment. *Science of the Total Environment* **618**:1284-1297.

- Hornbach DJ. 1992. Life history traits of a riverine population of the Asian clam *Corbicula fluminea*. American Midland Naturalist **127**:248-257.
- Horsák M. 2018. Odkud a kdy k nám přišly nepůvodní druhy měkkýšů. Živa **5**:249-250.
- Hughes SR, Kay P, Brown LE. 2012. Global synthesis and critical evaluation of pharmaceutical data sets collected from river systems. Environmental Science and Technology **47**:661-677.
- Humphries P, Winemiller KO. 2009. Historical impacts on river fauna, shifting baselines, and challenges for restoration. BioScience **59**:673-684.
- Inza B, Ribeyre F, Maury-Brachet R, Boudou A. 1997. Tissue distribution of inorganic mercury, methylmercury and cadmium in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) in relation to the contamination levels of the water column and sediment. Chemosphere **35**:2817-2836.
- Ismail NS, Müller CE, Morgan RR, Luthy RG. 2014. Uptake of contaminants of emerging concern by the bivalves *Anodonta californiensis* and *Corbicula fluminea*. Environmental Science and Technology **48**:9211-9219.
- Jelic A, Fatone F, Di Fabio S, Petrovic M, Cecchi F, Barceló D. 2012. Tracing pharmaceuticals in a municipal plant for integrated wastewater and organic solid waste treatment. Science of the Total Environment **433**:352-361.
- Jjemba PK. 2006. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. Ecotoxicology and Environmental Safety **63**:113-130.
- Jones OAH, Voulvoulis N, Lester JN. 2002. Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. Water Research **36**:5013-5022.
- Jos A, Repetto G, Rios JC, Hazen MJ, Molero ML, del Peso A, Salguero M, Fernández-Freire P, Pérez-Martín JM, Cameán A. 2003. Ecotoxicological evaluation of carbamazepine using six different model systems with eighteen endpoints. Toxicology in Vitro **17**:525-532.
- Joss A, Keller E, Alder AC, Göbel A, McArdell CS, Ternes T, Siegrist H. 2005. Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. Water Research **39**:3139-3152.
- Kasim NA, et al. 2004. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. Molecular Pharmaceutics **1**:85-96.
- Khan MI, Zahoor M, Khan A, Gulfam N, Khisroon M. 2019. Bioaccumulation of heavy metals and their genotoxic effect on freshwater mussel. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology **102**:52-58.
- Khetan SK, Collins TJ. 2007. Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a challenge to green chemistry. Chemical Reviews **107**:2319-2364.

- Kiecak A, Breuer F, Stumpp C. 2020. Column experiments on sorption coefficients and biodegradation rates of selected pharmaceuticals in three aquifer sediments. *Water* 12 (14) DOI: 10.3390/w12010014.
- Kinney CA, Furlong ET, Werner SL, Cahill JD. 2006. Presence and distribution of wastewater-derived pharmaceuticals in soil irrigated with reclaimed water. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25:317-326.
- Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT. 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environmental Science and Technology* 36:1202-1211.
- Kondakov AV, Palatov DM, Rajabov ZP, Gofarov MY, Konopleva ES, Tomilova AA, Vikhrev IV, Bolotov IN. 2018. DNA analysis of a non-native lineage of *Sinanodonta woodiana* species complex (Bivalvia: Unionidae) from Middle Asia supports the Chinese origin of the European invaders. *Zootaxa* 4462:511-522.
- Kondakov AV, Bespalaya YV, Vkhrev IV, Konopleva ES, Gofarov MY, Tomilova AA, Vinarski MV, Bolotov IN. 2020. The Asian pond mussels rapidly colonize Russia: Successful invasions of two cryptic species to the Volga and Ob rivers. *BioInvasions Records* 9:504-518.
- Kondor AC, et al. 2022. Pharmaceuticals in water and sediment of small streams under the pressure of urbanization: Concentrations, interactions, and risks. *Science of the Total Environment* 808 (152160) DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.152160.
- Konečný A, Popa OP, Bartáková V, Douda K, Bryja J, Smith C, Popa LO, Reichard M. 2018. Modelling the invasion history of *Sinanodonta woodiana* in Europe: Tracking the routes of a sedentary aquatic invader with mobile parasitic larvae. *Evolutionary Applications* 11:1975-1989.
- Kožíšek F, Čadek V. 2008. Léčiva v pitných vodách. Pages 77-88 in Dolejš P, editor. Konference Pitná voda 2008. W&ET Team, České Budějovice.
- Kožíšek F, Pomykačová I, Jeligová H, Čadek V, Svobodová V. 2013. Survey of human pharmaceuticals in drinking water in the Czech Republic. *Journal of Water and Health* 11:84-97.
- Krantzberg G. 1985. The influence of bioturbation on physical, chemical and biological parameters in aquatic environments: a review. *Environmental Pollution (Series A)* 39:99-122.
- Krascsenits Z, Hiller E, Bartal M. 2008. Distribution of four human pharmaceuticals, carbamazepine, diclofenac, gemfibrozil, and ibuprofen between sediment and water. *Journal of Hydrology and Hydromechanics* 56:237-246.
- Kraszewski A, Zdanowski B. 2007. *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) (Mollusca) – a new mussel species in Poland: Occurrence and habitat preferences in a heated lake system. *Polish Journal of Ecology* 55:337-356.

- Krolak E, Lewandowski K, Kasprzykowski Z. 2017. Impact of heated waters on water quality and macroinvertebrate community in the Narew River (Poland). Open Life Sciences **12**:190-205.
- Kumar A, Batley GE, Nidumolu B, Hutchinson TH. 2016. Derivation of water quality guidelines for priority pharmaceuticals. Environmental Toxicology and Chemistry **35**:1815-1824.
- Kunz JL, Brunson EL, Barnhart MC, Glidewell EA, Wang N, Ingersoll CG. 2020. Pulsed flow-through auto-feeding beaker systems for the laboratory culture of juvenile freshwater mussels. Aquaculture 520 (734959) DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.734959.
- Labecká AM, Domagala J. 2016. Continuous reproduction of *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1824) females: an invasive mussel species in a female-biased population. Hydrobiologia **810**:57-76.
- Lagauzere S, Motelica-Heino M, Viollier E, Stora G, Bonzom JM. 2014. Remobilisation of uranium from contaminated freshwater sediments by bioturbation. Biogeosciences **11**:3381-3396.
- Lajtner J, Crnčan P. 2011. Distribution of the invasive bivalve *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) in Croatia. Aquatic Invasions **6**:119-124.
- Lam MW, Young CJ, Brain RA, Johnson DJ, Hanson MA, Wilson CJ, Richards SM, Solomon KR, Mabury SA. 2004. Aquatic persistence of eight pharmaceuticals in a microcosm study. Environmental Toxicology and Chemistry **23**:1431-1440.
- Lamichhane K, Garcia SN, Huggett DB, DeAngelis DL, La Point TW. 2013. Chronic effects of carbamazepine on life-history strategies of *Ceriodaphnia dubia* in three successive generations. Archives of Environmental Contamination and Toxicology **64**:427-438.
- Lapworth DJ, Baran N, Stuart ME, Ward RS. 2012. Emerging organic contaminants in groundwater: a review of sources, fate and occurrence. Environmental Pollution **163**:287-303.
- Lemer S, Bieler R, Giribet G. 2019. Resolving the relationships of clams and cockles: Dense transcriptome sampling drastically improves the bivalve tree of life. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences 286 (20182684) DOI: 10.1098/rspb.2018.2684.
- Leslie AW, Lamp WO. 2019. Burrowing macroinvertebrates alter phosphorus dynamics in drainage ditch sediments. Aquatic Sciences 81 (23) DOI: 10.1007/s00027-019-0621-8.
- Levinton J. 1995. Bioturbators as ecosystem engineers: Control of the sediment fabric, inter-individual interactions, and material fluxes. Pages 29-36 in Jones CG, Lawton JH, editors. Linking species & ecosystems. Springer, Boston.
- Lin D, Cho YM, Tommerdahl JP, Werner D, Luthy RG. 2018. Bioturbation facilitates DDT sequestration by activated carbon against recontamination by sediment deposition. Environmental Toxicology and Chemistry **37**:2013-2021.

- Liu Y, Jiang DS, Li YJ, Zhang RF, Li M, Cui YB. 2014. Influence of environmental factors on the acute toxicity of ammonia to *Corbicula fluminea* and *Limnodrilus hoffmeisteri*. Research of Environmental Sciences **27**:1067-1073.
- Lo JCY. 2014. Carbamazepine. Pages 665-667 in Wexler P, editor. Encyclopaedia of toxicology. Academic Press, Cambridge.
- Löffler D, Römbke J, Meller M, Ternes TA. 2005. Environmental fate of pharmaceuticals in water/sediment systems. Environmental Science and Technology **39**:5209-5218.
- Lopes-Lima M, Teixeira A, Froufe E, Lopes A, Varandas S, Sousa R. 2014. Biology and conservation of freshwater bivalves: Past, present and future perspectives. Hydrobiologia **735**:1-13.
- Lopes-Lima M, Burlakova LE, Karataev AY, Mehler K, Seddon M, Sousa R. 2018. Conservation of freshwater bivalves at the global scale: Diversity, threats and research needs. Hydrobiologia **810**:1-14.
- Luo Y, Guo W, Ngo HH, Nghiem LD, Hai FI, Zhang J, Liang S, Wang XC. 2014. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. Science of the Total Environment **473-474**:619-641.
- Majdi N, Bardon L, Gilbert F. 2014. Quantification of sediment reworking by the Asiatic clam *Corbicula fluminea* Müller, 1774. Hydrobiologia **732**:85-92.
- Mari L, et al. 2022. Levetiracetam, lamotrigine and carbamazepine: Which monotherapy during pregnancy? Neurological Sciences **43**:1993-2001.
- Matsumoto M. 2003. Phylogenetic analysis of the subclass Pteriomorpha (Bivalvia) from mtDNA COI sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution **27**:429-440.
- McCall PL, Tevesz MJS, Schwelgien SF. 1979. Sediment mixing by *Lampsilis radiata siliquoidea* (Mollusca) from Western Lake Erie. Journal of Great Lakes Research **5**:105-111.
- McMahon RF. 1991. Mollusca: Bivalvia. Pages 315-390 in Thorp JH, Covich AP, editors. Ecology and classification of North American freshwater invertebrates. Academic Press, New York.
- McMahon RF. 2000. Invasive characteristics of the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. Pages 315-343 in Claudi R, Leach JH, editors. Nonindigenous freshwater organisms: Vectors, biology and impacts. Lewis Publishers, Boca Raton.
- McMahon RF. 2002. Evolutionary and physiological adaptations of aquatic invasive animals: *r* selection versus resistance. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences **59**:1235-1244.
- McNamara O. 2001. Drugs effective in the therapy of the epilepsies. Pages 521-548 in Hardman G, Limbird E, Goodman A, editors. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. McGraw-Hill Companies Inc., New York.

- Mermillod-Blondin F, Nogaro G, Vallier F, Gibert J. 2008. Laboratory study highlights the key influences of stormwater sediment thickness and bioturbation by tubificid worms on dynamics of nutrients and pollutants in stormwater retention systems. *Chemosphere* **72**:213-223.
- Mersmann P, Scheytt T, Heberer T. 2002. Column experiments on the transport behavior of pharmaceutically active compounds in the saturated zone. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* **30**:275-284.
- Mohammadi M, Barák V, Escobar-Calderón F, Lamilla Tamayo L, Ranglová K, Douda K. 2022. Individual quantification of feeding and substrate effects on freshwater bivalve growth performance in a pulse flow-through system. *Aquaculture* (in prep.).
- Monteiro SC, Boxall ABA. 2009. Factors affecting the degradation of pharmaceuticals in agricultural soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* **28**:2546-2554.
- Mouthon J. 2001a. Life cycle and populations dynamics of the Asian clam *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae) in the Saône River at Lyon (France). *Hydrobiologia* **452**:109-119.
- Mouthon J. 2001b. Life cycle and populations dynamics of the Asian clam *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae) in the Rhône River at Creys-Malville (France). *Archiv fur Hydrobiologie* **151**:571-589.
- Müller B, Scheytt T, Grützmacher G. 2013. Transport of primidone, carbamazepine, and sulfamethoxazole in thermally treated sediments – laboratory column experiments. *Journal of Soils and Sediments* **13**:953-965.
- Mustajärvi L, Eek E, Cornelissen G, Eriksson-Wiklund AK, Undeman E, Sobek A. 2017. *In situ* benthic flow-through chambers to determine sediment-to-water fluxes of legacy hydrophobic organic contaminants. *Environmental Pollution* **231**:854-862.
- Newell RIE, Cornwell JC, Owens MS. 2002. Influence of simulated bivalve biodeposition and microphytobenthos on sediment nitrogen dynamics: a laboratory study. *Limnology and Oceanography* **47**:1367-1379.
- Nogaro G, Mermillod-Blondin F. 2009. Stormwater sediment and bioturbation influences on hydraulic functioning, biogeochemical processes, and pollutant dynamics in laboratory infiltration systems. *Environmental Science and Technology* **43**:3632-3638.
- Nogaro G, Mermillod-Blondin F, Valett MH, Francois-Carcaillet F, Gaudet JP, Lafont M, Gibert J. 2009. Ecosystem engineering at the sediment–water interface: Bioturbation and consumer-substrate interaction. *Oecologia* **161**:125-138.
- Novák J. 2022. BioLib: Korbikula asijská (*Corbicula fluminea* O. F. Müller, 1774). Biological Library. Available from <https://www.biolib.cz/cz/taxon/id3009/> (accessed March 2022).
- Oliveira P, Almeida A, Calisto V, Esteves VI, Schneider RJ, Wrona FJ, Soares AMVM, Figueira E, Freitas R. 2017. Physiological and biochemical alterations induced in the mussel *Mytilus galloprovincialis* after short and long-term exposure to carbamazepine. *Water Research* **117**:102-114.

- Oppel J, Broll G, Löffler D, Meller M, Römbke J, Ternes T. 2004. Leaching behaviour of pharmaceuticals in soil-testing-systems: a part of an environmental risk assessment for groundwater protection. *Science of the Total Environment* **328**:265-273.
- Owens LB, Edwards WM, Van Keuren RW. 1984. Peak nitrate-nitrogen values in surface runoff from fertilized pastures. *Journal of Environmental Quality* **13**:310-312.
- Pang J, Sun B, Li H, Tyler Mehler W, You J. 2012. Influence of bioturbation on bioavailability and toxicity of PAHs in sediment from an electronic waste recycling site in South China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **84**:227-233.
- Patterson BM, Shackleton M, Furness AJ, Pearce J, Descourvieres C, Linge KL, Busetti F, Spadek T. 2010. Fate of nine recycled water trace organic contaminants and metal(loid)s during managed aquifer recharge into an anaerobic aquifer: Column studies. *Water Research* **44**:1471-1481.
- Patterson BM, Shackleton M, Furness AJ, Bekele E, Pearce J, Linge KL, Busetti F, Spadek T, Toze S. 2011. Behavior and fate of nine recycled water trace organics during managed aquifer recharge in an aerobic aquifer. *Journal of Contaminant Hydrology* **122**:53-62.
- Pedersen JA, Soliman M, Suffet IH. 2005. Human pharmaceuticals, hormones, and personal care product ingredients in runoff from agricultural fields irrigated with treated wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**:1625-1632.
- Pelegrí, SP Blackburn, TH. 1995. Effect of bioturbation by *Nereis* sp., *Mya arenaria* and *Cerastoderma* sp. on nitrification and denitrification in estuarine sediments. *Ophelia* **42**:289-299.
- Pennafirmé S, Machado AS, Machado AC, Lopes RT, Lima ICB, Crapez MAC. 2019. Monitoring bioturbation by a small marine polychaete using microcomputed tomography. *Micron* **121**:77-83.
- Pennafirmé S, Machado AC, Machado AS, Pérez CA, Pereira DC, Lima I, Lopes RT, Crapez MAC. 2020. Unveiling the role of bioturbation on bacterial activity in metal-contaminated sediments. *Science of the Total Environment* **744** (140988) DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.140988.
- Pimentel D, Lach L, Zuniga R, Morrison D. 2000. Environmental and economic costs associated with non-indigenous species in the United States. *BioScience* **50**:53-65.
- Preuß G, Willme U, Zullei-Seibert N. 2001. Behaviour of some pharmaceuticals during artificial groundwater recharge – elimination and effects on microbiology. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* **29**:269-277.
- Prosser RS, Sibley PK. 2015. Human health risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in plant tissue due to biosolids and manure amendments, and wastewater irrigation. *Environment International* **75**:223-233.
- Pyšek P, Richardson DM. 2007. Traits associated with invasiveness in alien plants: Where do we stand? Pages 97-125 in Nentwig W, editor. *Biological invasions*. Springer, Berlin & Heidelberg.

- Quinn B, Gagné F, Blaise C. 2008. An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of the Total Environment* **389**:306-314.
- R Core Team. 2020. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Available from <https://www.R-project.org/> (accessed December 2021).
- Rabiet M, Togola A, Brissaud F, Seidel J-L, Budzinski H, Elbaz-Poulichet F. 2006. Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized Mediterranean catchment. *Environmental Science and Technology* **40**:5282-5288.
- Radjenovic J, Petrovic M, Ventura F, Barceló D. 2008. Rejection of pharmaceuticals in nanofiltration and reverse osmosis membrane drinking water treatment. *Water Research* **42**:3601-3610.
- Rajagopal S, van der Velde G, bij de Vaate A. 2000. Reproductive biology of the Asiatic clams *Corbicula fluminalis* and *Corbicula fluminea* in the river Rhine. *Archiv fur Hydrobiologie* **149**:403-420.
- Rauch-Williams T, Hoppe-Jones C, Drewes JE. 2010. The role of organic matter in the removal of emerging trace organic chemicals during managed aquifer recharge. *Water Research* **44**:449-460.
- Reid RGB, McMahon RF, Foighil DO, Finnigan R. 1992. Anterior inhalant currents and pedal feeding in bivalves. *Veliger* **35**:93-104.
- Reith DM, Appleton DB, Hooper W, Eadie MJ. 2000. The effect of body size on the metabolic clearance of carbamazepine. *Biopharmaceutics & Drug Disposition* **21**:103-111.
- Remaili TM, Simpson SL, Amato ED, Spadaro DA, Jarolimek CV, Jolley DF. 2016. The impact of sediment bioturbation by secondary organisms on metal bioavailability, bioaccumulation and toxicity to target organisms in benthic bioassays: Implications for sediment quality assessment. *Environmental Pollution* **208**:590-599.
- Sárkány-Kiss A, Sirbu I, Hulea O. 2000. Expansion of the adventive species *Anodonta woodiana* (Lea, 1834) (Mollusca, Bivalvia, Unionoidea) in Central and Eastern Europe. *Acta Oecologica Carpatica* **7**:49-57.
- Sharma PP, Zardus JD, Boyle EE, González VL, Jennings RM, McIntyre E, Wheeler WC, Etter RJ, Giribet G. 2013. Into the deep: a phylogenetic approach to the bivalve subclass Protobranchia. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **69**:188-204.
- Shen X, Yuan N, Wang C. 2020. The bioturbation effect of the snail *Bellamya aeruginosa* on phosphorus immobilisation by drinking water treatment residue in sediment: a long-term continuous flow test. *Journal of Environmental Management* **266** (110579) DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.110579.

- Scheytt TJ, Mersmann P, Heberer T. 2006. Mobility of pharmaceuticals carbamazepine, diclofenac, ibuprofen, and propyphenazone in miscible-displacement experiments. *Journal of Contaminant Hydrology* **83**:53-69.
- Scheytt T, Mersmann P, Lindstädt R, Heberer T. 2005. 1-octanol/water partition coefficients of 5 pharmaceuticals from human medical care: Carbamazepine, clofibrate acid, diclofenac, ibuprofen, and propyphenazone. *Water, Air, and Soil Pollution* **165**:3-11.
- Simberloff D. 2011. How common are invasion-induced ecosystem impacts? *Biological Invasions* **13**:1255-1268.
- Smith DA, Koch KM, Arya N, Bowen CJ, Herendeen JM, Beelen A. 2009. Effects of ketoconazole and carbamazepine on lapatinib pharmacokinetics in healthy subjects. *British Journal of Clinical Pharmacology* **67**:421-426.
- Solan M, Cardinale BJ, Downing AL, Engelhardt KAM, Ruesink JL, Srivastava DS. 2004. Extinction and ecosystem function in the marine benthos. *Science* **306**:1177-1180.
- Sousa R, Morais P, Dias E, Antunes C. 2011. Biological invasions and ecosystem functioning: Time to merge. *Biological Invasions* **13**:1055-1058.
- Sousa R, Novais A, Costa R, Strayer DL. 2014. Invasive bivalves in fresh waters: Impacts from individuals to ecosystems and possible control strategies. *Hydrobiologia* **735**:233-251.
- Stackelberg PE, Furlong ET, Meyer MT, Zaugg SD, Henderson AK, Reissman DB. 2004. Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant. *Science of the Total Environment* **329**:99-113.
- Strayer DL. 1999. Effects of alien species on freshwater mollusks in North America. *Journal of the North American Benthological Society* **18**:74-98.
- Strayer DL. 2006. Challenges for freshwater invertebrate conservation. *Journal of the North American Benthological Society* **25**:271-287.
- Strayer DL. 2009. Benthic invertebrate fauna, lakes and reservoirs. Pages 191-204 in Likens GE, editor. *Encyclopedia of inland waters*. Academic Press, Cambridge.
- Strayer DL. 2012. Eight questions about invasions and ecosystem functioning. *Ecology Letters* **15**:1199-1210.
- Strayer DL, Caraco NF, Cole JJ, Findley S, Pace ML. 1999. Transformation of freshwater ecosystems by bivalves. *BioScience* **49**:19-27.
- Stuart M, Lapworth D, Crane E, Hart A. 2012. Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. *Science of the Total Environment* **416**:1-21.
- Tangamornsuksan W, Chaiyakunapruk N, Somkrua R, Lohitnavy M, Tassaneeyakul W. 2013. Relationship between the HLA-B*1502 allele and carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *JAMA Dermatology* **149**:1025-1032.
- Ternes TA. 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research* **32**:3245-3260.

- Ternes TA. 2001. Pharmaceuticals and metabolites as contaminants of the aquatic environment. Pages 39-54 in Daughton CG, Jones-Lepp TL, editors. Pharmaceuticals and personal care products in the environment. American Chemical Society, Washington DC.
- Ternes TA, Herrmann N, Bonerz M, Knacker T, Siegrist H, Joss A. 2004. A rapid method to measure the solid–water distribution coefficient (Kd) for pharmaceuticals and musk fragrances in sewage sludge. *Water Research* **38**:4075-4084.
- Thacker PD. 2005. Pharmaceutical data elude researchers. *Environmental Science and Technology* **39**:193A-194A.
- Thit A, Banta GT, Palmqvist A, Selck H. 2020. Effects of sediment-associated Cu on *Tubifex tubifex* – Insights gained by standard ecotoxicological and novel, but simple, bioturbation endpoints. *Environmental Pollution* **266** (115251) DOI: 10.1016/j.envpol.2020.115251.
- Tian S, Tong Y, Hou Y. 2019. The effect of bioturbation by polychaete *Perinereis aibuhitensis* on release and distribution of buried hydrocarbon pollutants in coastal muddy sediment. *Marine Pollution Bulletin* **149** (110487) DOI: 10.1016/j.marpolbul.2019.110487.
- Tian J, Hua X, Jiang X, Dong D, Liang D, Guo Z, Zheng N, Huang X. 2020. Effects of tubificid bioturbation on bioaccumulation of Cu and Zn released from sediment by aquatic organisms. *Science of the Total Environment* **742** (140471) DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.140471.
- Tixier C, Singer HP, Oellers S, Müller SR. 2003. Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. *Environmental Science and Technology* **37**:1061-1068.
- Tong Y, Li J, Cheng Q, Gao C, Yang Y, Tian S. 2019. Enhanced removal of sediment-associated total petroleum hydrocarbons under bioturbation by polychaete *Perinereis aibuhitensis*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* **54**:391-397.
- Turek KA, Hoellein TJ. 2015. The invasive Asian clam (*Corbicula fluminea*) increases sediment denitrification and ammonium flux in 2 streams in the midwestern USA. *Freshwater Science* **34**:472-484.
- Tyrrell M, Hornbach DJ. 1998. Selective predation by muskrats on freshwater mussels in 2 Minnesota rivers. *Journal of the North American Benthological Society* **17**:301-310.
- van der Meer TV, de Baat ML, Verdonschot PFM, Kraak MHS. 2017. Benthic invertebrate bioturbation activity determines species specific sensitivity to sediment contamination. *Frontiers in Environmental Science* **5** (83) DOI: 10.3389/fenvs.2017.00083.
- Vaughn CC. 2018. Ecosystem services provided by freshwater mussels. *Hydrobiologia* **810**:15-27.
- Vaughn CC, Hakenkamp CC. 2001. The functional role of burrowing bivalves in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology* **46**:1431-1446.
- Vaughn CC, Hoellein TJ. 2018. Bivalve impacts in freshwater and marine ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **49**:183-208.

- Vila M, et al. 2010. How well do we understand the impacts of alien species on ecosystem services? A pan-European, cross-taxa assessment. *Frontiers in Ecology and the Environment* **8**:135-144.
- Vione D. 2021. Insights into the time evolution of slowly photodegrading contaminants. *Molecules* **26** (5223). DOI: 10.3390/molecules26175223.
- Wachtler K, Dreher-Mansur MC, Richter T. 2001. Larval types and early postlarval biology in naiads (Unionoida). Pages 93-125 in Bauer G, Wachtler K, editors. *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*. Springer, Berlin & Heidelberg.
- Wang J, Ou S-W, Wang Y-J. 2017. Distribution and function of voltage-gated sodium channels in the nervous system. *Channels* **11**:534-554.
- Wick A, Fink G, Joss A, Siegrist H, Ternes TA. 2009. Fate of beta blockers and psycho-active drugs in conventional wastewater treatment. *Water Research* **43**:1060-1074.
- Wiegel S, Bester K, Hühnerfuss H. 2001. New method for rapid solid-phase extraction of large-volume water samples and its application to non-target screening of North Sea water for organic contaminants by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **912**:151-161.
- Wiegel S, Aulinger A, Brockmeyer R, Harms H, Löffler J, Reincke H, Schmidt R, Stachel B, von Tümping W, Wanke A. 2004. Pharmaceuticals in the river Elbe and its tributaries. *Chemosphere* **57**:107-126.
- Wijekoon KC, Hai FI, Kang J, Price WE, Guo W, Ngo HH, Nghiem LD. 2013. The fate of pharmaceuticals, steroid hormones, phytoestrogens, UV-filters and pesticides during MBR treatment. *Bioresource Technology* **144**:247-254.
- Wilkinson JL, et al. 2022. Pharmaceutical pollution of the world's rivers. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **119** (e2113947119) DOI: 10.1073/pnas.2113947119.
- Wishart DS, Knox C, Guo AC, Shrivastava S, Hassanali M, Stothard P, Chang Z, Woolsey J. 2006. DrugBank: a comprehensive resource for *in silico* drug discovery and exploration. *Nucleic Acids Research* **34**:668-672.
- Xu P, Wang HP, Wang X, Yang WL, Yu EH, Yan XJ. 2019. Impacts of bioturbation from Tubificidae on the electrochemical performance and microbial community of sediment microbial fuel cells. *Applied Ecology and Environmental Research* **17**:9247-9261.
- Yan Q, Gao X, Huang L, Gan X-M, Zhang Y-X, Chen Y-P, Peng X-Y, Guo J-S. 2014. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the largest municipal wastewater treatment plant in Southwest China: Mass balance analysis and consumption back-calculated model. *Chemosphere* **99**:160-170.
- Yang J, Li Q, An Y, Zhang M, Du J, Chen C, Zhao R, Zhao D, An S. 2020. The improvement of pollutant removal efficiency in saturated vertical flow constructed wetlands by *Tubifex tubifex*. *Bioresource Technology* **318** (124202) DOI: 10.1016/j.biortech.2020.124202.
- Yang W, Yao J, He Y, Huang Y, Liu H, Zhi Y, Qian S, Yan X, Jian S, Li W. 2021. Nitrogen removal enhanced by benthic bioturbation coupled with biofilm formation: a new strategy

- to alleviate freshwater eutrophication. *Journal of Environmental Management* **292** (112814) DOI: 10.1016/j.jenvman.2021.112814.
- Ying GG, Kookana RS, Kolpin DW. 2009. Occurrence and removal of pharmaceutically active compounds in sewage treatment plants with different technologies. *Journal of Environmental Monitoring* **11**:1498-1505.
- Yuan S, Jiang X, Xia X, Zhang H, Zheng S. 2013. Detection, occurrence and fate of 22 psychiatric pharmaceuticals in psychiatric hospital and municipal wastewater treatment plants in Beijing, China. *Chemosphere* **90**:2520-2525.
- Yuan X, Meng L, Wang L, Zhao S, Li H. 2016. Responses of scallop biodeposits to bioturbation by a deposit-feeder *Apostichopus japonicus* (Echinodermata: Holothuroidea): Does the holothurian density matter? *Aquaculture Research* **47**:512-523.
- Zhang Y, Geißen SU, Gal C. 2008. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere* **73**:1151-1161.
- Zhang L, Shen Q, Hu H, Shao S, Fan C. 2011. Impacts of *Corbicula fluminea* on oxygen uptake and nutrient fluxes across the sediment–water interface. *Water, Air, and Soil Pollution* **220**:399-411.
- Zhao J-L, Ying G-G, Liu Y-S, Chen F, Yang J-F, Wang L, Yang X-B, Stauber JL, Warne MSJ. 2010. Occurrence and a screening-level risk assessment of human pharmaceuticals in the Pearl River system, South China. *Environmental Toxicology and Chemistry* **29**:1377-1384.
- Zvára K. 2013. Základy statistiky v prostředí R. Karolinum, Praha.