

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



**Vliv parazita (tasemnice) na příjem a exkreci zinku
u hostitele**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Martina Brixová

Vedoucí práce: prof. Ing. Iva Langrová, CSc.

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv parazita (tasemnice) na příjem a exkreci zinku u hostitele" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové 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 diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10.4.2015

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí své diplomové práce prof. Ing. Ivě Langrové, CSc. a Ing. Vladislavu Sloupovi za jeho cenné rady, pomoc, věnovaný čas a osobní přístup. V neposlední řadě patří můj dík mým rodičům a přátelům za podporu po celou dobu studia.

Vliv parazita (tasemnice) na příjem a exkreci zinku u hostitele

Souhrn

Znečišťování těžkými kovy přináší s rozvojem průmyslu a lidské činnosti výrazné zatížení životního prostředí. Ve větším množství mohou poškozovat zdraví. Některé jsou ale pro rostlinné i živočišné organismy velmi prospěšné. K takovým mikroprvkům patří zinek, který je ve zvířecí výživě nezbytný. Zinek je přítomný ve všech biologických systémech a díky všestranným fyzikálně - chemickým vlastnostem plní v těle rozmanité funkce. Je to prvek, který se podílí na katalytických, strukturních, regulačních a buněčných funkcích. Plní roli biokatalyzátorů, transportérů, detoxikantů i transkripčních faktorů. Dále se významně podílí na růstu a vývoji jedince, správnou funkci imunitního a reprodukčního systému. Deficit zinku způsobuje klinické i patologické změny. Mezi hlavní projevy nedostatku zinku patří poruchy metabolismu, zpomalení růstu a poruchy reprodukčních schopností samců i samic.

Cílem práce bylo zjistit vliv tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*) na exkreci zinku u laboratorního potkana (*Rattus norvegicus* var. alba). Bylo využito 24 potkanů, kteří byli drženi v bilančních klecích po dobu 6 týdnů ve dvou etapách pokusu. V jednotlivých etapách byli potkani rozděleni na kontrolní skupinu bez tasemnice (krmení směsí ST – 1), skupinu bez tasemnice krmenou příměsí hyperakumulující rostliny huseníčku hallerova (*Arabidopsis halleri*), skupinu uměle nakaženou tasemnicí krysí (*Hymenolepis diminuta*), (krmení ST – 1) a skupinu uměle nakaženou tasemnicí krysí krmenou příměsí huseníčku. Dávka zinku pro skupiny bez hyperakumulující rostliny byla 1,75mg Zn/den, denní dávka zinku pro potkany krmené příměsí huseníčku činila 20,5mg. Každý čtvrtek byly odebírány vzorky moči a výkalů, které se uchovávaly k následné analýze ICP – MS. Výsledky ukázaly, že potkani krmení příměsí akumulující rostliny s tasemnicí, vylučovali výkaly průměrně o 3,48mg zinku méně, než potkani bez tasemnice krmení huseníčkem. Z toho vyplývá, že tasemnice ovlivňuje exkreci zinku u potkana.

Klíčová slova: těžké kovy, zinek, tasemnice, potkan, akumulace

The effect of the parasite (tapeworm) on intake and excretion of zinc in the host

Summary

Heavy metal pollution produced from industrial and human activities brings a serious problem with significant impact on the environment. In considerable volume can damage health. But some of them are very beneficial for plant and animal organisms. One of the very important micro elements which is essential in animal nutrition is zinc for example. Zinc is present in all biological systems and due to versatile physico-chemical properties, performs multiple functions in the body. It is an element that contributes to the catalytic, structural, regulatory and cellular functions. Zinc performs the role of biocatalysts, transporters, detoxicants and transcription factors. Furthermore, zinc contributes significantly for the growth and development of individuals and for proper function of the immune and reproductive systems. Zinc deficiency causes clinical and pathological changes. The main symptoms of zinc deficiency include metabolic disorders, growth retardation, and disorders of the reproductive males and females.

The aim of my dissertation was to determine the effect of *Hymenolepis diminuta* on the excretion of zinc in the *Rattus norvegicus* var. alba. Were used 24 rats that were kept in balance cages for 6 weeks in two phases of the attempt. At individual stages, the rats were divided into a control group without tapeworm (fed with mixture of ST - 1), the group without a tapeworm fed with additive of hyperaccumulator plants *Arabidopsis halleri*, the group artificially infected by tapeworm (*Hymenolepis diminuta*)(fed with ST - 1) and group of artificially infected rats fed with admixture of Arabidopsis. The zinc dose of groups without hyperaccumulator plants were 1,75mg Zn/day, the daily dose of zinc in rats fed with admixture of Arabidopsis was 20,5mg. Every Thursday were sampled urine and faeces are retained for subsequent ICP – MS analysis. The results showed that the rats, were fed with additive of accumulating plants with tapeworms, excreted an average of 3,48mg zinc less in their excreta than rats were fed with Arabidopsis without tapeworm. Research shows that tapeworm affects the excretion of zinc in rats.

Keywords: heavy metals, zinc, tapeworm, rat, accumulation

Obsah

1	Úvod	7
2	Cíl práce	8
2.1	Hypotéza	8
3	LITERÁRNÍ REŠERŽE	9
3.1	Zatížení prostředí	9
3.1.1	Těžké kovy.....	9
3.2	Zinek	10
3.2.1	Fyzikální a chemické vlastnosti	10
3.2.2	Výskyt zinku a kontaminace prostředí.....	11
3.2.3	Biochemické funkce	12
3.2.4	Metabolismus zinku	13
3.2.5	Fyziologické funkce zinku.....	17
3.2.6	Zinek v krmivech	18
3.2.7	Deficit zinku	19
3.3	Zinek v rostlinách	20
3.3.1	Hyperakumulátory	21
3.4	Fytoremediace	22
3.5	Parazitismus	24
3.6	Bioindikace	25
3.6.1	Bioakumulace zinku v parazitech.....	25
3.6.2	Směr budoucího výzkumu	27
3.6.3	Tasemnice krysí (<i>Hymenolepis diminuta</i>)	27
3.7	Potkan obecný (<i>Rattus norvegicus</i>)	30
4	MATERIÁL A METODY	32
4.1	Experimentální plán	32
4.2	Laboratorní analýza	33
4.3	Laboratorní potkan (<i>Rattus norvegicus</i> var. <i>alba</i>)	33
4.4	Huseníček hallerův (<i>Arabidopsis halleri</i>)	34
5	VÝSLEDKY	35
6	DISKUZE	45
7	ZÁVĚR	48
8	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	50

1 Úvod

Antropogenní činnosti mají stále větší vliv na znečištění životního prostředí. To s sebou přináší rizika kontaminace prostředí rizikovými kovy, jako jsou chrom, kobalt, nikl, měď, zinek, arsen, selen, stříbro, antimon, rtuť, thalium a olovo. Tyto prvky představují velké zdravotní riziko, díky škodlivým účinkům a možnému potenciálu akumulovat v organismu, což bývá často diskutovaný problém dnešní doby. Hledají se proto způsoby, jak míru znečištění prostředí monitorovat a posuzovat. Jednou z možností je použití tzv. bioindikátorů. Nejslibnější skupinou pro sledování akumulace kovů z vnějšího prostředí jsou tasemnice a vrtejši. Tasemnice jsou hojným parazitem u suchozemských zvířat a jsou tak užitečné při biomonitoringu. Některé rizikové kovy ale mohou být pro rostlinné i živočišné organismy prospěšné. Jedním z nich je zinek, který je přítomný ve všech biologických systémech a díky všestranným fyzikálně-chemickým vlastnostem plní v těle rozmanité funkce.

V rostlinách zastává katalytickou a strukturální úlohu v enzymatických reakcích. Rostliny, které mají schopnost akumulovat těžké kovy ve svých orgánech, se nazývají hyperakumulátory. Genetický základ tolerance a hyperakumulace zinku byl zjištěn u huseníčku hallerova (*Arabidopsis halleri*), který je schopen hyperakumulovat velké množství Zn v nadzemní části rostliny a to v rozmezí 1 800 - 13 100 ppm Zn. Hyperakumulátory lze využívat k odstraňování nebo detoxikaci znečištěného životního prostředí, přes přirozené biologické, chemické a fyzikální procesy probíhající v rostlinách.

Pro sledování a kontrolu úrovně kontaminace těžkými kovy se stále častěji využívají indikátorové organismy z řad živočichů i rostlin, které jsou závislé na faktorech znečištění životního prostředí, tzv. bioindikátory. Již počátkem 20. století byla objevena schopnost organismů polutanty akumulovat z vnějšího prostředí do svého těla. Organismy, které dokáží koncentrovat některé těžké kovy, jsou mimo jiné střevní parazité obratlovců, zejména tasemnice, které parazitují ve střevech. Parazité, hlavně vrtejši (*Acanthocephala*) a tasemnice (*Cestoda*) jsou schopny akumulovat mnohonásobné množství těžkých kovů, než jejich hostitel a částečně ho rizikových látek zbavují. Je stále větší potřeba hledat nové informace o základních fyziologických funkcích parazitů, které mají vliv na hostitele v souvislosti s bioakumulací těžkých kovů.

2 Cíl práce

Cílem práce bude zjistit vliv tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*) na exkreci zinku u laboratorního potkana (*Rattus norvegicus* var. alba).

2.1 Hypotéza

Tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*) je schopna akumulovat zinek přijatý svým definitivním hostitelem potkanem obecným (*Rattus norvegicus*) a tím snížit exkreci tohoto kovu v moči a ve výkalech hostitele.

3 LITERÁRNÍ REŠERŽE

3.1 Zatížení prostředí

Kontaminace biosféry těžkými kovy se prudce zvýšil na počátku 20. století. Od průmyslové revoluce výroba těžkých kovů, jako je olovo, měď a zinek, exponenciálně vzrostla. Přebytek množství těžkých kovů způsobil nerovnováhu v přírodě, protože nejsou biologicky rozložitelné a hromadí se. To znamená významné zatížení životního prostředí a problémy se zdravím lidí po celém světě. Znečištění kovy je považováno za nebezpečné pro biologické systémy zejména pro jejich oxidační a karcinogenní potenciál (Subhashini et Swamy, 2013). Těžké kovy se ocitnou v agroekosystému v půdě z přírodních materiálů (minerály) nebo díky vstupům lidské činnosti. Kontaminace půdy těžkými kovy a toxickými prvky z mateřských prvků se vyskytuje v omezeném prostoru a je snadno identifikovatelná. Ale opakované používání kovově obohacených chemikálií, hnojiv a organických činidel (čistírenské kaly a odpadní vody), může způsobit škody ve velkém měřítku. Půdní mikroorganismy jsou první organismy, které jsou vystaveny dopadům znečištění prostředí kovy, a proto mohou být využívány k indikaci znečištění půdy. Budoucí výzkum by se měl zaměřit na bilanci těžkých kovů v agroekosystému a diagnostice kontaminace životního prostředí (Zhenli et al., 2005).

3.1.1 Těžké kovy

Těžké kovy jsou chemické prvky, které představují reálnou hrozbu pro životní prostředí. Často uváděnými těžkými kovy jsou chrom, kobalt, nikl, měď, zinek, arsen, selen, stříbro, antimon, rtuť, thalium a olovo. Některé (měď, zinek) mohou být pro živočišný i rostlinný organismus nezbytné a prospěšné, ve větším množství však mohou poškozovat zdraví (Sengupta, 2002). Jsou obecně definovány jako ty, které mají hustotu větší než 5g/cm^3 . (Järup, 2003). Pojem těžké kovy není zcela ustálený, neboť běžně používané hmotnostní kritérium neplatí pro kovy jako je hliník nebo selen. Proto je vhodnějším označením pojem rizikové kovy. Vzhledem k širokému a stoupajícímu uplatnění kovů a jejich sloučenin v průmyslu vzrůstá i jejich hromadění v přírodě a to především proto, že tvoří nedegradovatelný odpad s vysokým bioakumulačním potenciálem. Mnohé z kovů jsou

však v malých koncentracích důležité nebo dokonce nepostradatelné pro živé organizmy. Jsou součástí metaloenzymů, enzymů, jejichž proteiny obsahují vázaný kovový ion. Kovy na jedné straně katalyzují v malých množstvích důležité biochemické reakce v organizmech, na straně druhé vyvolávají vážná onemocnění a poškození různých orgánů. Za mimořádně nebezpečné je třeba považovat zejména ty kovy, které se váží na SH skupiny enzymů nebo na aminokyseliny (Hg, Pb, Cd, As, Se a další). Při bioakumulaci kovů často dochází ke změnám fyzikálně-chemických vlastností, například k redukci nebo oxidaci (As, Mn, Se, Te), ale i k metylaci, čímž se významně mění jejich toxicita. Ve směsích se toxické účinky jednotlivých kovů mohou vzájemně zesilovat (synergismus: např. Ni + Zn, Hg + Cu), ale také zeslabovat (antagonismus: např. Se + Cd, Se + Hg) (Angelova et al., 2004). Vypouštění těžkých kovů do životního prostředí může mít vážný dopad na ovzduší, půdu, vodu a kovy mohou vstoupit do potravinového řetězce a nepříznivě ovlivňovat zdraví lidí a živočichů (Chua et Hua, 1996).

Zájem o výzkum těžkých kovů byl doposud nejvíce podpořen těmito zjištěními o těžkých kovech:

- bioakumulace v živých organismech (As, Cd, Ni, Cr, Be)
- toxicita, velmi často i ve velmi nízkých koncentracích
koncentrační nárůst v životním prostředí (za posledních zhruba let)
- nedegradabilita, persistence (kovy nemění svojí podstatu, pouze oxidační číslo)
(Adriano, 2001).

3.2 Zinek

3.2.1 Fyzikální a chemické vlastnosti

Zinek (lat. Zincum, Zn). Elementární zinek je lesklý, modrobílý až šedý kov, který je v podstatě nerozpustný ve vodě. Teplota tání je 419,5 ° C a teplota varu 908 ° C (Stedeford et al. 2005). S atomovým číslem 30 a s relativní hmotností 65,38 se nachází ve 4. periodě II. B skupiny periodické tabulky (Erdman et al. 2012). V životním prostředí je zinek všudypřítomný a v zemské kůře je jeho koncentrace v průměru asi 70mg/kg. V přírodě se volně téměř nevyskytuje, spíše tvoří součást minerálů, například sfalerit (sulfid zinečnatý),

smithsonite (uhličitan zinečnatý) a zinkit (oxid zinečnatý), vždy v jednom oxidačním čísle, a to jako dvojmocný kationt Zn^{2+} . Průměrný obsah zinku v rostlinách bývá v rozmezí od 15 do 100mg/kg (Stedeford et al., 2005). Obsah zinku v živočišném organismu se pohybuje ve svalech - 57%, v kostech - 29%, ostatní tkáně a krev - přibližně 14% (Erdman et al., 2012).

3.2.2 Výskyt zinku a kontaminace prostředí

Zinek tvoří okolo 0,02% hmotnosti zemské kůry a vyskytuje se jako 25. nejhojnější prvek na Zemi. Nachází se ve vzduchu, v půdě i ve vodě a tím pádem je přítomný v různém rozsahu v potravinových složkách. V přírodě je výskyt kovového zinku velmi vzácný, protože se vyskytuje pouze ve sloučeninách. Ve většině hornin a minerálů je zastoupen v různém množství (Dastych, 2004).

Do atmosféry je zinek emitován v podobě jemných prachových částic a kouře z hornictví, při výrobě oceli, mosazi nebo z jiných průmyslových odvětvích pracujících s kovy. Tyto činnosti výrazně zvyšují výskyt zinku v atmosféře. Prach se usazuje v půdě a ve vodě. V ovzduší jsou hodnoty zinku relativně nízké, průměrné koncentrace dosahují méně než $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$. V půdě je jeho celkový obsah značně rozdílný a zejména závisí na obsahu zinku v mateční hornině a charakteru půdy. Půdy s vysokým obsahem jílu a organickými látkami mají vyšší adsorpční schopnost pro zinek (až 95mg/kg Zn), než půdy písčité a minimem organických látek (10 - 30mg/kg Zn)(ATSRD, 2005). Do vody se dostává převážná většina sloučenin zinku následkem eroze. Pro některé ryby a vodní organismy je zinek značně toxický ($LD_{50} = \text{mg}/\text{l}$). Zvláště citlivé jsou lososovití. (Dastych, 2004). Pitná voda může obsahovat určité množství zinku, hodnoty jsou vyšší, pokud je voda skladována v kovových nádržích. Průmyslové zdroje mohou způsobit dosažení vysoké úrovně množství zinku v pitné vodě a způsobit tím zdravotní problém (Subhashini et Swamy, 2013).

Do atmosféry se zinek uvolňuje při spalování fosilních paliv a při těžbě a zpracování zinkových rud (i rud jiných kovů, které mohou obsahovat příměsi zinku). Atmosférickou depozicí se dostává do půdy a vody. Zdrojem zinku v půdách jsou také hnojiva obsahující zinek jako znečišťující příměs nebo deponované čistírenské kaly. Antropogenním zdrojem v přírodních vodách je především atmosférický spad. Zinek se může do vody také dostat splachem z půd. Z průmyslových odpadních vod obsahují zinek např. vody ze zpracování

neželezných rud, z mořiren mosazi, ze zpracování tuků a z povrchové úpravy kovů, kde je zinek zpravidla vázán v různých komplexech. Zdrojem ve vodě jsou také nádoby ze zinku nebo z pozinkovaných kovů (vědra, plechy, okapy), se kterými voda přichází bezprostředně do styku. Přírodním zdrojem je také zvětrávání půd s obsahem zinku. Ve vzduchu se zinek váže na půdní a prachové částice. Atmosférickou depozicí mohou tyto částice dostávat do vody nebo půdy. Zinek je běžnou součástí hornin, půd a sedimentů (Harte et al., 1991).

3.2.3 Biochemické funkce

Zinkové metaloproteiny

Zinkové proteiny jsou nejpočetnější skupinou metaloproteinů lidského genomu. Jejich struktura je tak rozličná, jak pestré jsou funkce, které v organismu plní – od biokatalyzátorů, přes transportéry, detoxikanty až po transkripční faktory. Proteiny spojené se zinkem je možno formálně rozdělit na zinkové enzymy a zinkové neenzymové proteiny. Mezi zinkové neenzymové proteiny patří proteiny pro distribuci zinku, proteiny se zinkovými prsty, a metalothioneiny (Kukačka et al., 2008).

Zinkové metaloenzymy

Metaloenzymy jsou enzymatické proteiny, které obsahují ionty kovů (kovové kofaktory), které jsou přímo vázány na protein. Asi jedna třetina všech známých enzymů jsou metaloenzymy (Hoppert, 2011). Prezentovány jsou ve všech šesti enzymových třídách, kde v enzymech závislých na zinku zastávají tři důležité funkce – katalytickou, ko-katalytickou a strukturní. Zinek se v enzymech podílí na katalytických procesech. Je zde definován jako Lewisova kyselina, která přijímá elektron (např. při karboanhydráze, alkoholdehydrogenáze). Atom zinku je v aktivním místě řízen třemi aminokyselinami, nejčastěji histidinem, a jednou molekulou vody. Zinek může mít v enzymech také ko-katalytickou funkci, obsahující 2 nebo 3 atomy zinku. Tam, kde zinek zastává strukturní funkci, je kov nejčastěji vázán 4 aminokyselinovými zbytky uvnitř proteinu a zajišťuje jeho aktivitu (Hotz et Brown, 2004).

Příklady některých metaloproteinů (proteiny, enzymy, hormony) zinku:

Karboxyhydráza A se podílí na trávení proteinů ze stravy, karboxydáza B se podílí na trávení proteinů ze stravy, alkoholdehydrogenáza se uplatňuje v metabolismu alkoholu (přeměňuje ethanol na acetaldehyd), karboanhydráza vzájemně přeměňuje CO₂ a bikarbonát, proteokináza C zajišťuje přenos signálů uvnitř buňky, metalothionein skladuje zinek a má detoxikační účinky, fruktóza-1,6-difosfatáza je zapojena do glukogeneze, dehydratáza aminolevulové kyseliny se účastní biosyntézy hemu, laktalbumin/galaktosyltransferáza se podílí na syntéze laktózy (Salgueiro, 2000).

Zinkové prsty

Zinkové prsty jsou malé proteinové domény, jsou strukturálně různorodé a jsou přítomny mezi těmi proteiny, které vykonávají široký rozsah funkcí v buněčných procesech. Fungují jako interakce modulů a vážou na sebe širokou škálu sloučenin, např. nukleové kyseliny, proteiny a malé molekuly (Krishna et al., 2003). Název zinkové prsty vznikl podle tvaru, který vytváří při specifické posloupnosti zhruba 30 aminokyselin s pevnou vazbou k zinečnatému atomu. Proteiny, které obsahují zinkové prsty, jsou významné např. při rozvoji epitelu, organizaci cytoskeletonu, transkripci, translaci, buněčné adhezi a uspořádání proteinů do terciálních struktur (Brody, 1998).

3.2.4 Metabolismus zinku

Zinek je jedním z nejdůležitějších mikroprvků ve zvířecí výživě (Jian-Yi et al., 2010). Je ze všech stopových prvků nejvíce se podílející na metabolismu živočišných organismů (Hotz et Brown, 2004). Zinek je přítomný ve všech biologických systémech a má bohaté a rozmanité funkce. Je to dáno díky neobvykle všestranným fyzikálně-chemickým vlastnostem. Je to ideální prvek, který se podílí na katalytických, strukturních a buněčných regulačních funkcích v organismu (Erdman et al., 2012). V organismu plní mnoho funkcí – od biokatalyzátorů, přes transportéry, detoxikanty až po transkripční faktory (Kukačka et al., 2008). Pro správnou funkci mnoha proteinů, klíčových enzymů i transkripčních faktorů je zinek považován za klíčový prvek (Jian-Yi et al., 2010). Více než 300 specifických enzymů vyžadují zinek pro své katalytické funkce. Pokud je zinek z katalytického místa odstraněn,

enzymatická aktivita je ukončena. Na rozdíl od jiných kovů, enzymy vyžadující zinek se nachází ve všech šesti enzymatických třídách (oxidoreduktázy, transferázy, hydrolázy, isomerázy, lyázy a lygázy). Umožňuje aktivitu enzymů tím, že slouží jako akceptor elektronů. Do procesů, které zinek také reguluje, patří i apoptóza, neboli programovaná buněčná smrt. Podílí se na zdvojení DNA a transkripci RNA. Důležitou roli hraje také pro funkci a činnost hormonů, například růstový hormon, pohlavní hormony, insulin, glukagon a dalších (Hotz et Brown, 2004). Přibližně 10% proteinů kódovaných v savčím genomu potřebují zinek pro svojí správnou strukturu a funkci. Důležitou roli hraje v metabolismu bílkovin a nukleových kyselin. Je nezbytný pro normální strukturu a funkci buněčných membrán. Podílí se na tvorbě pojivové tkáně, zubů, nehtů, vlasů (srsti). Dále je zinek důležitý při vstřebávání vápníku v kostech a má vliv na působení růstového hormonu (Erdman et al., 2012). Zinek, který se nachází v játrech, kostře, plazmě a pankreatu rychle tvoří rezervní metabolizovatelný rezervní fond. Pokud se v krmné dávce nachází v nedostatku, zinek se ze zmíněných orgánů odčerpá, přičemž se koncentrace v mozku a svalech nemění. V jaterních buňkách je zinek přítomný v cytoplazmě, mitochondriích, buněčném jádru a mikrozomech. V pankreatu je koncentrace zinku soustředěna v beta buňkách Langerhansových ostrůvků, kde je důležitou součástí při tvorbě inzulinu (Anke, 2002). Metabolismus zinku mohou negativně ovlivnit některé látky. Jedná se zejména o chelatační činidla, ale také některá antibiotika, např. penicilin (Kafka et Punčochářová, 2002).

Absorpce a transport

Absorpce je proces příjmu zinku enterocyty a přes bazolaterální membránu a dopravení do portálního oběhu (Liuzzi et Cousins, 2006). Z potravy je zinek uvolňován v podobě volných iontů. Primárně k tomu dochází v oblasti distálního duodena a proximálního jejunu. Přibližně 60% absorpce dochází v duodenu, 30% v ileu, 8% v jejunu a přibližně 3% ve slepém a tlustém střevě. Absorpce zinku se může odehrávat dvěma mechanismy, aktivním a pasivním transportem. (Hotz et Brown, 2004). Aktivní transport se uplatňuje pomocí specifických přenašečů a jeho účinnost je vyšší při nízkém příjmu zinku v potravě. Paracelulární (pasivní) transport funguje na mechanismu difúze a jeho účinnost je přímo úměrná koncentraci zinku ve střevě (Krebs, 2000). Portální systém zinek přináší přímo do jater, odkud se rychle uvolňuje do krevního oběhu a dochází k přechodu do dalších tkání. Asi 70% zinku v krevním oběhu se váže na albumin.

Koncentrace cirkulujícího zinku je podmíněna jeho využitím v tkáních (Hotz et Brown, 2004). Na tomto transportu se podílí několik proteinů, tzv. transportéry zinku. Intracelulární distribuce a buněčná absorpce je přesně organizovaný proces. Popsány byly dvě skupiny transportérů zinku (Liuzzi et Cousins, 2006).

První skupinou jsou transportéry ZnT, obsahující 10 členů (ZnT-1 - 10). Přenášejí zinek z cytoplasmy do cílových orgánů. Např. ZnT-1 slouží jako exportér zinku z buňky do téměř všech tkáních. ZnT-2 je spojován s transportem zinku do střev, ledvin a varlat. ZnT-3 dopravuje zinek do vezikul v oblasti mozku, což dokazuje významnou roli zinku v centrálním nervovém systému. Druhou skupinou jsou ZIP transportéry, které podporují dopravu zinku z extracelulární tekutiny nebo z intracelulárních vezikul do cytoplasmy. Obsahují 14 členů ZIP-1 – 14 (Liuzzi et Cousins, 2006). Jakákoliv porucha regulace transportu zinku prostřednictvím jejich specifických transportérů je většinou spojena se specifickým onemocněním. Příkladem jsou neurodegenerativní poruchy (Kukačka et al., 2008).

Využití zinku ovlivňuje i jeho chemická forma. Nejlépe se resorbuje v trávicím traktu ze síranu zinečnatého a to o 14 - 42 %. Stravitelnost je závislá na složení směsi. Obecně se uvádí, že nejvyšší stravitelnost zinku je z krmiv mléčného původu, například kasein vstřebávání zinku zvyšuje. V krvi je zinek ze 75 % vázán v plazmě (především na bílkovinách), z 22 % na erytrocytech a z 3 % na leukocytech. Zinek, který se nachází v plazmě, játrech, pankreatu a v kostře, tvoří rychle metabolizovatelný rezervní fond. Při nedostatku v krmné dávce se zinek z těchto orgánů odčerpává, přičemž se koncentrace ve svalech a mozku nemění. Při akutním deficitu zinku rychlost jeho odčerpávání nekompensuje potřebu a vznikají příznaky deficiencie (Zeman et al., 2006).

Homeostáza

Homeostatická regulace metabolismu zinku je obecně chápána jako rovnováha mezi příjmem zinku v potravě a vylučováním (Erdman et al., 2012). Centrum pro udržování homeostázy zinku je gastrointestinální systém, především tenké střevo, slinivka břišní a játra. Rozhodující jsou konkrétně procesy jako absorpce exogenního zinku, gastrointestinální sekrece a vylučování endogenního zinku (Krebs, 2000). Řídí jí především buňky epitelů

kryjící sliznici gastrointestinálního traktu pomocí absorpce exogenního zinku, který pochází ze stravy a exkrecí endogenního zinku. Sekundární homeostatické opatření zahrnuje např. snížené vylučování zinku močí nebo zadržení zinku ve vybraných tkáních. Dále je uchováván v kůži, vlasech a v kosterní svalovině (King et al., 2000).

Exkrece

Exkrece zinku probíhá především prostřednictvím výkalů, ve kterých se nachází neabsorbovaný zinek přijatý potravou, dále zinek obsažený v buňkách střevního epitelu a endogenní zinek vyloučený do střeva ze žlučníku, slinivky břišní, gastroduodenálními sekrety a transepiteliální přestup Zn z buněk mukózy (Erdman et al., 2012). Exkrece zinku výkaly pochází ze dvou zdrojů. První je přímo z potravy a druhý je zinek, který se dostává do gastrointestinálního traktu z pankreatických šťáv a žluči. Střevní a pankreatická recirkulace zinku se zdá být velmi důležitá pro udržení správné homeostázy tohoto prvku. Také bylo prokázáno, že exogenní zinek ovlivňuje absorpci zinku endogenního. Zinek se vstřebává pasivní difúzí ve dvanáctníku a tenkém střevě (Tubek, 2006).

Z údajů ze studií věnujících se exkreci zinku vyplývá, že 90 – 98% se vylučuje výkaly, zatímco pouze 2 – 10% se vylučuje močí. Děje se tak v důsledku toho, že 95% zinku, který je filtrován v ledvinách v glomerulu, se resorbuje. I přes to, že je exkrece zinku močí relativně malá, napomáhá udržovat homeostázu při extrémním příjmu zinku. Ultrafiltrovaný zinek se z moči se vstřebává jak v distální, tak proximální části nefronu a je vylučován v distální tubulové oblasti. Exkrece zinku močí je pravděpodobně kontrolován renin-angiotenzin-aldosteron systémem (RAAS) a jinými steroidy, jako například inzulínu, růstového hormonu a parathormonu (Tubek, 2006). K významným ztrátám zinku močí dochází v situaci svalového katabolismu, např. při případech těžkých popálenin, traumatech, hladovění, nebo při léčbě chelatačními činidly nebo při onemocnění jater. Svalový anabolismus zinkurémii naopak snižuje (Erdman et al., 2012). Alkohol snižuje koncentraci zinku v plazmě a krvi a zvyšuje vylučování zinku močí (Zeman et al., 2006). Vyloučení zinku potem, vlasy, spermatem a odlupováním buněk epitelu představuje přibližně 17%. V době růstu nebo laktace se exkrece zinku výrazně snižuje (Hotz et Brown, 2004).

K odstranění těžkých kovů používají játra metalothioneiny, skupinu na cystein bohatých proteinů s vysokou afinitou k dvojmocným kovovým iontům jako Cd^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+}

a Zn^{2+} . Tyto kovové ionty indukují tvorbu metalothioneinů pomocí zvláštního kovy regulujícího elementu (MRE) v genovém promotoru (Koolman et Röhm, 2012).

U lidí je při dostatečném příjmu zinku 24 hodinová exkrece zinku močí relativně vyrovnaná (přibližně 4 až 9mmol/l). Snížením tělních zásob zinku se sníží exkrece zinku močí, častěji předtím, než jsou změny koncentrace zinku zjistitelné v séru nebo plasmě. U zdravého člověka je močí vyloučeno přibližně 0,5mg/den a stolicí 1 – 3mg/den (Roohani et al., 2013).

3.2.5 Fyziologické funkce zinku

Vývoj a růst

Je známo, že zinek je potřebný pro růst mnoha organismů, přes bakterie až po člověka. Není překvapivé, že díky nepostradatelné roli zinku v endokrinním systému, metabolických pochodech, replikaci DNA a transkripci RNA je jeho dostatek ovlivňuje tělesný růst a vývin. Častý následek nedostatku růstu u experimentálních zvířat je právě nedostatek zinku. Při jeho nedostatečném příjmu se brzy stává nedostupný pro nové tkáně. Je důležitý především pro mláďata, v období dospívání a gravidity, kdy je růst nejintenzivnější. Velmi důležitá je regulační funkce zinku v primárním endokrinním systému, kde řídí růst (růstová osa somatotropinu). Zinek je spojován se sníženou koncentrací růstového faktoru, jehož účinek je nezbytný pro správnou funkci somatotropinu. Experimenty na zvířatech dále dokázaly, že nedostatek zinku vede k poklesu příjmu potravy (Caballero et al., 2005).

Imunitní systém

Další nezastupitelnou roli hraje zinek v udržení zdravého imunitního systému a tím pomáhá bojovat proti řadě infekcí. Zinek ovlivňuje několik aspektů imunitního systému, zahrnující jak specifickou tak nespecifickou imunitu. Nedostatek zinku nepříznivě ovlivňuje funkci makrofágů, dochází k dysregulaci intracelulárního zabíjení, produkce cytokinů a fagocytózy. Již několik desetiletí jsou studovány mechanismy, díky kterým zinek reguluje vnímavost k infekcím. Pro normální funkci a vývoj buněk zajišťující vrozenou imunitu (fagocyty, NK-buňky – přirození zabíječi) je zinek rozhodující. Při nedostatku zinku byla

pozorována snížená aktivita thymulinu (specifický hormon vyžadující pro svoji činnost zinek) a atrofie brzlíku. Je narušena i produkce protilátek, obzvláště IgG a vývoj B-lymfocytů. Při deficitu zinku mohou být ovlivňovány také makrofágy, dochází k dysregulaci vnitrobuněčného usmrcování, fagocytóze a produkci cytokinů (Caballero et al., 2005).

Reprodukce

I v procesu reprodukce hraje zinek nezbytnou roli. Nedostatek způsobuje opožděný pohlavní vývoj v dospívání a hypogonadismus – nedostačující funkce samčích pohlavních žláz a tím spojenou nízkou hladinu testosteronu a sníženou tvorbu spermií. Zinek je potřebný při tvorbě a zrání spermií při spermatogenezi, růstu varlat, syntézu steroidních hormonů, syntézu stimulačního hormonu (FSH) a luteinizačního hormonu (LH). Jako zprostředkovatel pro biologické účinky estrogenů a androgenů slouží zinkové prsty. Při experimentu na potkanech se zjistilo, že zvířata s nedostatkem zinku měli výrazně menší Leydigovy buňky než zvířata s optimální hladinou. Také se potvrdilo, že se samcům potkanů s nedostatkem zinku snížila koncentrace hladiny testosteronu a pohlavních steroidních hormonů. Z toho vyplývá, že nedostatek zinku vede k patogenezi a vznikají reprodukční dysfunkce a neplodnost (Salgueiro, 2000). Při deficitu zinku se u samců snižuje vylučování hypofyzárních gonadotropinů, androgenů a testosteronu, dochází k atrofii varlat, poruchám spermiogeneze a zpomaluje se vývoj primárních a sekundárních pohlavních znaků. Zinek se podílí i na motilitě a penetraci spermií. U samic je zinek potřebný při syntéze prostaglandinů a kyseliny arachidonové. Ovlivňuje regulační mechanismus vylučování prolaktinu z předního laloku hypofýzy a kontrakce děložního svalstva při porodu. Nedostatek zinku u březích samic zapříčiňuje zpomalení vývoje plodu, kongenitální malformace, nepravidelné a těžké porody, sníženou laktaci a nízkou životaschopnost narozených mláďat. Nepříznivý vliv na vývoj pohlavních žláz může být způsobován zinkem i dodatečně tak, že deficit zinku redukuje produkci gonadotropinu a následně pak produkci androgenů (Zeman et al., 2006).

3.2.6 Zinek v krmivech

V krmivech se zinek nachází ve zvýšené míře převážně v živočišných moučkách a některých krmných zbytcích průmyslových výrob se sníženým podílem endospermu.

Vzhledem k širokému rozsahu obsahu zinku v půdách se i u rostlin projevují poměrně velké výkyvy v závislosti na půdě. V průměrném pasterním porostu je to 30 - 100ppm, jako průměr se udává 25 - 50ppm, s krajními rozsahy 8ppm a 300ppm. Lze konstatovat, že obsah zinku v půdách a jeho množství v rostlinách bývá dostatečné pro výživu zvířat při pasterním využití porostů. Z krmiv mají poměrně vysoký obsah zinku luštěniny. Semeno bobu nebo hrachu obsahuje 30mg zinku v původní hmotě, odrůda hrachu zahradního až 62mg. Bob koňský obsahuje faktor, který ztěžuje retenci železa a zinku. Při zkrmování vyšších dávek bobu je proto třeba krmivo doplnit solemi mikroelementů. Podíl bobu v krmné dávce by neměl převyšovat 10%. Řepka rovněž obsahuje větší množství zinku. Obsah zinku v obilných zrnech a ostatních semenech má poměrně velkou variabilitu. Je to hlavně v důsledku půdních rozdílů, protože druhové rozdíly mezi obilovinami jsou malé. Průměrný obsah zinku v pšenici, ovsu, ječmeni, kukuřici a prosu se blíží 20 - 30ppm, kromě těch, které rostou na půdách chudých na zinek, kde mohou hladiny klesat na 14 - 16ppm. V zrně se zinek soustřeďuje převážně v endospermu. Na zinek jsou bohaté pšeničné klíčky, které obsahují 115mg zinku na 1kg původní sušiny, dále ječný sladový květ (126mg) a pšeničné otruby s obsahem 90mg. Krmění pšeničnými otrubami má však negativní vliv na využití vápníku a zinku z krmné dávky. Extrahované šroty a pokrutiny obsahují v průměru 40 - 70mg zinku. Co se týče objemných krmiv na našem území, je většina z nich na zinek deficitní (Zeman et al., 2006).

3.2.7 Deficit zinku

Hlavní příčina nedostatku zinku závisí za základě sníženého příjmu zinku potravou, při konzumaci potravin chudých na zinek, či při nedostatku dobře využitelného zinku ve stravě (tzv. nutriční příčiny). Další důvody vedoucí k deficitu je zvýšená potřeba organismem, např. při růstu a dospívání, těhotenství a kojení, rekonvalescenci, po operacích, průjmech, popáleninách a nádorových onemocněních (Hendricks et Duggan, 2005). Klinické a patologické projevy nedostatku zinku se mění v závislosti na druhu, pohlaví a věku. Vždy se však dostavuje zastavení nebo zpomalení růstu a poškozování kůže a jejích produktů (vlasy, vlna, atd.). Laboratorní kritéria, týkající se hodnocení a diagnózy nedostatku zinku, jsou založena na přímém a nepřímém měření. Zinek může být přímo měřen v plazmě, srsti, moči a výkalech. Při klinické diagnostice se používá hlavně stanovení zinku v plazmě. Ačkoli jde o poměrně jednoduchou zkoušku, je zde riziko kontaminace během odběru a zpracování,

a proto musí být těmto úkonům věnována dostatečná pozornost. Zjišťování obsahu zinku ve vlasech či srsti vyžaduje složitější metodu a může být ovlivněno řadou faktorů. Nejpoužívanější je stanovení zinku ve výkalech a v moči. Nepřímá měření zahrnují měření obsahu metaloenzymů zinku v plazmě, z nichž nejčastěji klinicky používané je stanovení aktivity alkalické fosfatázy. Dále může být použito stanovení albuminu, transferrinu, prealbuminu či retinol vazebného proteinu, jejichž hladina je snížena při deficitu zinku. Při nedostatku přívodu zinku v krmné dávce nebo při jeho špatném využívání můžeme u zvířat pozorovat ztrátu chuti k žrádлу, zaostávání v růstu, zvýšení spotřeby krmiva na kg přírůstku, poruchy metabolismu tuků, sacharidů a bílkovin a poruchy reprodukčních schopností samic a samců. V případě vzniku deficitu lze zinek podávat buď v injekcích, nebo v krmivu jako lizy a minerální přísady, obsahující 1 - 2% zinku. Do krmiva lze použít oxid, uhličitan i síran zinečnatý (Zeman et al., 2006).

3.3 Zinek v rostlinách

Zinek je rostlinami přijímán převážně jako kationt Zn^{2+} . Jeho obsah v sušině rostlin se pohybuje v průměru od 20 do 100 $\mu g\ g^{-1}$. Hodnota 20 $g\ g^{-1}$ může být považována za kritickou a při obsahu od 10 do 20 $\mu g\ g^{-1}$ se může hovořit o latentním respektive i akutním nedostatku zinku. Když je obsah zinku nižší než 10 $\mu g\ g^{-1}$, ve většině případů jsou na rostlinách patrné morfologické symptomy deficitu. Za toxický obsah zinku v půdě je považována hodnota 300 $\mu g\ g^{-1}$. Toxicita se projevuje redukcí růstu kořenů a listů. Vysoké hladiny zinku v živném prostředí působí depresivně na příjem fosforu a železa (Florián, 2004). Zinek se, jako esenciální mikroelement, vyskytuje v rostlinách jako volný ion, nebo v komplexu s různými nízkomolekulárními sloučeninami, metaloproteiny a v nerozpustné formě zabudovaný do buněčných stěn (Kochian, 1991). Zinek tvoří komplexy s N, O a S-ligandy, a tím hraje katalytickou a strukturální úlohu v enzymatických reakcích (Vallee et Auld, 1990).

Příjem zinku rostlinou je velmi aktivní proces. Příjem a akumulace vykazuje v průběhu času hyperbolickou saturační křivku – po podání zinku následuje rychlé lineární zvýšení a je následováno pomalým zvyšováním až ustálením maximální rychlosti příjmu a akumulace (Yang et al., 2006). Na příjem zinku a jeho následnou akumulaci v rostlinách má vliv forma, v jaké je zinek přítomný v půdě (Zhang et Song, 2006).

Příjem kovů rostlinami ovlivňují především vlastnosti rostliny, půdní vlastnosti, hloubka růstu kořenů, schopnost translokace, interakce a podmínky prostředí, např. povětrnostní vlivy. Těžké kovy a jejich průměrné obsahy v rostlinách stoupají s obsahy v půdě, ne ale v přesně stejném poměru. Rostlinný příjem kovů nebývá lineárně závislý na celkovém obsahu v půdách, ale na jeho dostupnosti. Rostliny jsou schopny přijímat pouze volné ionty. Příjem těžkých kovů rostlinou bývá odlišný jak mezi jednotlivými rostlinami, ale i mezi orgány rostlin, například rozdíl koncentrace kovu ve slámě a zru. Závisí to na schopnosti rostliny přemístit molekulu kovu z půdy do kořenů. Právě v kořenech se vyskytují nejvyšší obsahy těžkých kovů a pouze malá část se dostává z kořene do stonku a listu. Nejmenší podíl se vyskytuje v plodech. Rostliny, které mají velký počet tenkých kořenů, přijímají a akumulují mnohem větší množství těžkých kovů než rostliny se silnými kořeny (Swartjes et al., 2007). V rostlinách se zinek akumuluje ve větší míře v meristematických pletivech, v kořenech a v mladých listech, kde je uložen především v žilnatině a abaxiální epidermis (Page et Feller, 2005). Nejvyšší obsahy zinku jsou v chloroplastech, a to až 2 - 3krát vyšší než v celém listu. Rozdílný obsah zinku v listech různého stáří je z větší části vysvětlován růstem rostlin (Chardonnens et al., 1999). Zinek obsažený v rostlinách je obvykle spojen s kyselinou fytovou (Zeman et al., 2006).

3.3.1 Hyperakumulátory

Rostliny, které mají schopnost růst na půdách s vysokým obsahem těžkých kovů a ve svých orgánech je akumulovat, je nazývají hyperakumulátory. Hyperakumulátory jsou obvykle definovány jako druhy schopné akumulovat kovy v hladinách 100x vyších než jsou koncentrace stanovené v běžných neakumulujících rostlinách. U zinku jsou schopny koncentrovat více než 10 000ppm (Soudek et al., 2008). Hyperakumulátory zinku na sebe váží více jak 10 000 μ g/g suché biomasy, to je téměř 100krát více, než u běžných rostlin. Je známo 15 rostlinných druhů, z toho 10 druhů patří do rodu *Thlaspi*. Některé hyperakumulátory zinku jsou zároveň i hyperakumulátory kadmia (Munkhtsenseg et al., 2014). K hyperakumulačním rostlinám patří také například víceleté trávy s hlubokým kořenovým systémem nebo dřeviny rodu vrba (*Salix*) a topol (*Populus*). Perspektivní jsou i rostliny produkující sekundární metabolity, např. heřmánek pravý (*Chamomilla recutita*) nebo třezalka tečkovaná (*Hypericum Perforatum*)(Masarovičová et al., 2002). V současné době byl okruh rostlin rozšířen o *Sedum*

alfredii Hance (Yang et al., 2004). Některé druhy hyperakumulátorů, například penízek modravý (*Thlaspi caerulescens*), huseníček hallerův (*Arabidopsis halleri*), mají i populace rostoucí na nekontaminovaných půdách, ale i přesto jsou vůči toxickým kovům tolerantní. Hyperakumulace zinku u penízku modravého (*Thlaspi caerulescens*) je potenciálně závislá na existenci vysokých koncentrací pro rostliny dostupného zinku v půdě, což naznačuje, že základní kořenové mechanismy spojené se zvýšením dostupnosti kovu v rhizosféře (okyselení rhizosféry nebo uvolnění Zn-mobilizujících organických kyselin z kořene) hrají pouze vedlejší roli v hyperakumulaci kovů u tohoto druhu (Chaney et al., 1997). Genetický základ tolerance a hyperakumulace zinku byl studován u huseníčku hallerova (*Arabidopsis halleri*). V současnosti se věnuje pozornost i produkci geneticky modifikovaných rostlin se zvýšenou tolerancí vůči toxickým kovům. Někteří jedinci *Arabidopsis halleri* jsou schopni hyperakumulovat velké množství Zn v nadzemní části rostliny a to v rozmezí 1 800 - 13 100ppm Zn (Bert et al., 2002).

O adaptivním významu hyperakumulace se vede hypotéz. Hyperakumulace je především ekofyziologickou adaptací proti vysoké koncentraci těžkých kovů v prostředí. Je to tedy projev jisté tolerance ke kovům. Mohou se také v rostlině akumulovat neúmyslně jako důsledek vysoké afinity kovu k ostatním přijatým prvkům, které mohli být omezeny na více mineralizovaných půdách. Dále pak může zvyšovat rezistenci listů v případě nedostatku vody. Nejvíce potvrzenou a prozkoumanou hypotézou je, že hyperakumulace kovů slouží hlavně jako obranný mechanismus proti patogenům a herbivorům (Pollard et al., 2000).

3.4 Fytoremediace

Fytoremediaci lze definovat jako efektivní využití rostlin k odstranění nebo detoxikaci znečištěného životního prostředí v růstové matici (půda, voda), přes přirozené biologické, chemické nebo fyzické aktivity a procesy probíhající v rostlinách. Fytoremediace zahrnuje pěstování rostlin v kontaminovaném prostředí po požadovanou dobu růstu, vedoucí k odstranění nebo degradaci (detoxikaci) znečišťujících látek. Rostliny mohou být následně sklizeny a zpracovány nebo zlikvidovány. V poslední době se fytoremediaci dostává pozornosti jako inovativní, nákladově efektivní a dlouhodobou alternativu používanou v místech nebezpečných odpadů. Stává se důležitým nástrojem pro dekontaminaci půdy, vody a vzduchu. Některé rostliny mají schopnost přejímat škodlivé látky a poté je ukládat či

metabolizovat. To znamená možnost využití fytořemediace na půdách kontaminovaných organickými a anorganickými, či radioaktivními látkami, které jsou obtížně odstranitelné pomocí konvenčních metod. Na zinkem kontaminované půdy se například osvědčila mochnýň - *Physalis minima* (Sublashini, 2013).

Fytodegradace - fytodegradace je proces, při němž dochází k absorpci, přeměně a odbourávání kontaminantu uvnitř rostliny. Za fytodegradaci lze považovat i proces snižování kontaminantu v důsledku uvolňování enzymatických metabolitů rostliny do půdy. Fytodegradace se používají především pro odstraňování organických polutantů. Při fytodegradacích je potřeba zajistit, aby nedocházelo k přeměnám na metabolity, které jsou toxičtější, než samotný polutant (Soudek et al., 2008). Při fytodegradacích je potřeba zajistit, aby nedocházelo k přeměnám na metabolity, které jsou toxičtější, než samotný polutant. Technologie fytořemediace zahrnuje fytoextrakci, fytodegradaci, rhizofiltraci, fytovolatilizaci a fytostabilizaci (Chaney et al., 1997).

- Rhizodegradace - Metoda pracuje na základě zvýšení množství půdních bakterií v půdě díky kořenovému systému vysázených rostlin, což umožňuje snížit množství kontaminantu v půdě. Kořeny vylučují do půdy mnoho organických sloučenin (např. cukry nebo alkoholy), jež se stávají potravou pro půdní bakterie. Díky dostatku živin počet mikroorganismů rapidně vzrůstá a dochází také ke stimulaci jejich aktivity, což je důležité pro odbourávání okolních polutantů.
- Fytostabilizace - Fytostabilizace využívá rostliny k imobilizaci vodních a půdních kontaminantů. Závisí na chemických, biologických a fyzikálních vlastnostech půdy. Kořenový systém díky absorpci, adsorpci, komplexaci a precipitaci snižuje možnost vymývání kontaminantu z půdy, sedimentů a kalů. Při fytostabilizaci se dále uplatňuje vliv produkce huminových látek, které váží kontaminant v půdě. Svým vzrůstem také zabraňují vodní a větrné erozi, čímž zabraňují rozptylu kontaminace na povrchu. Fytostabilizace lze užit tam, kde je potřeba obnovit vegetační pokrývku, ale kvůli vysoké kontaminaci nelze na zasaženém území aplikovat běžnou vegetaci. Užívá se pro finální úpravu ploch, kde byly k odstranění znečištění použity jiné sanační technologie.

- **Fytoakumulace** - je metoda založená na absorpci kontaminantu kořeny rostliny s následnou akumulací v nadzemní části rostliny. Po této fázi následuje sklizeň rostlin, se kterými je nutno zacházet jako s odpadem a je tedy nutné před samotnou aplikací rostlin dobře uvážit, jakým způsobem bude s takto vzniklým odpadem dále nakládáno. Nutným předpokladem pro fungování metody je hyperakumulační vlastnost rostlinného druhu vůči sanovanému kontaminantu. Metoda se s úspěchem používá při sanaci těžkých kovů, polokovů (As, Se), radionuklidů a nekovů (např. B), avšak není příliš vhodná pro organické látky, které mohou být rostliny metabolizovány na ještě toxickejší sloučeninu nebo mohou být rostlinou vydychány do ovzduší.
- **Rhizofiltrace** - Rhizofiltrace se aplikuje při odstraňování kontaminantu z povrchových, splaškových nebo vyčerpaných podzemních vod použitím kořenového systému rostlin. Na rozdíl od fytoextrakce jsou při rhizofiltraci cílovou částí rostliny kořeny.
- **Fytovolatilizace** - Při fytovolatilizaci dochází k příjmu kontaminantu kořenovým systémem rostliny a transportu do nadzemní části, v některých případech ještě následovaný biotransformací kontaminantu. Příkladem je použití topolu žlutého na půdy znečištěné trutí. Použití fytovolatilizace je nicméně kontroverzní, neboť nedochází k odstranění kontaminace, ale pouze k přesunu kontaminantu z půdy do ovzduší (Soudek et al., 2008).

3.5 Parazitismus

Široká definice parazitismu by měla zahrnovat všechny mezidruhové svazky v gradientu vzájemné závislosti. Proto jsou zde zahrnuté také jevy jako komensalismus, mutualismus a symbióza. Parazité jsou všechny organismy, rostliny nebo zvířata, jejichž život závisí alespoň z části na životu jiného organismu. Jsou nalézány v každém existujícím druhu na Zemi. Systém hostitel-parazit-prostředí je nesmírně dynamicky vyvážen, bylo toho dosaženo díky vzájemné evoluci. Tento systém zajišťuje, že jakákoliv změna v jednom subsystému ovlivňuje další dva. Mnoho parazitů je považováno za neškodné, nebo dokonce nezbytné pro život hostitele (Jansen et al., 2003). Jestliže podnět (např. vliv člověka apod.) snižuje rezistenci hostitele nebo roste hustota populace hostitele, parazitismus může stoupat. Může ale také klesat, pokud klesá počet mezihostitelů nebo definitivních hostitelů. Ať už

přímo - díky toxickému efektu na parazity nebo nepřímo – hostitelská populace trpí různou měrou mortality (Lafferty, 1997).

3.6 Bioindikace

Bioindikátor je organismus nebo skupina organismů, která je závislá na faktorech prostředí a v mnoha případech mohou sloužit jako jeho ukazatelé. Bioindikátory se často používají při monitoringu kvality životního prostředí. Ideálními vlastnostmi bioindikátoru jsou snadná možnost determinance, velká početnost, taxonomická spolehlivost, ekologická různorodost a kosmopolitní rozšíření. Jako bioindikátory k odhadu kvality prostředí lze využívat parazity. Pokud jde o monitorování antropogenního znečištění prostředí, jsou parazité velmi spolehlivými bioindikátory (Jeney et al., 2002).

3.6.1 Bioakumulace zinku v parazitech

V poslední době se ukázalo, že parazité savců mají schopnost bioakumulace několika těžkých kovů na viditelně vyšší koncentraci než tkáně jejich konečných hostitelů. Takové organismy účinně akumulují z prostředí příslušné látky a příjem je vyrovnáván jejich exkrecí. Takovými indikátory mohou být parazitičtí helminté (Sures et al. 2002). Především vrtejší a některé tasemnice mají největší schopnost těžké kovy akumulovat. U vrtejšů a tasemnic chybí trávicí soustava a živiny přijímají pomocí celým, metabolicky aktivním povrchem těla (tegumentem). O jednotlivé prvky včetně těžkých kovů soupeří se střevní stěnou hostitele (Sures 2001, 2003).

Již počátkem 20. století byla objevena schopnost organismů polutanty akumulovat z vnějšího prostředí do svého těla. Akumulující indikátoři mohou těžké kovy integrovat postupem doby a jsou tudíž schopni je detekovat postupně, i když nejsou permanentně přítomni v zatíženém prostředí. (Sures, 1999). Nejslibnější skupinou pro akumulaci kovů z vnějšího prostředí jsou tasemnice a vrtejší (Sures, 2004). Tasemnice jsou hojným parazitem u suchozemských zvířat a jsou tak užitečné při biomonitoringu. Ve studiích dopadu na životní prostředí může určitý organismus poskytnout cenné informace o chemickém stavu životního prostředí a jejich schopnost koncentrovat toxiny v tkáních. Organismy, které dokáží

koncentrovat některé těžké kovy, jsou mimo jiné střevní parazité obratlovců. Hlavně tasemnice, které parazitují ve střevech. V nedávné studii, kterou prováděl B. Sures (2003) a jeho spolupracovníci byla studována schopnost parazitů akumulovat kovy u prasat a potkanů. V parazitech byly objeveny až 100krát vyšší koncentrace ve srovnání s různými tkáněmi hostitele (Sures et al., 2002). Nejvíce prací, které sledovaly akumulaci těžkých kovů v parazitech, bylo provedeno na helmitech ryb. Mezi významné bioindikátory environmentálního znečištění těžkými kovy, se v současné době nejvíce využívá převážně rodů Acanthocephala a Cestoda. Ty akumulují kovy ve větší míře než je koncentrace ve vnějším prostředí a to až 1000krát více, než jejich hostitel. Nejvhodnější jsou mnohobuněční endoparazité (Sures, 1999). Mnohem méně informací je dostupných o parazitech suchozemských zvířat, studie s endohelminty savců se týkaly především parazitů potkanů, prasat, skotu nebo ptáků. Hlístice nejsou jako bioindikátoři příliš vhodné. Bylo sledováno chemické složení škrkavky prasečí (*Ascaris suum*) a zjistila se 1 – 10krát vyšší koncentrace olova, kadmia, železa, zinku, selenu a manganu v ledvinách prasat, než v *A. suum*. Množství kovů v těchto parazitech bylo průměrně stejně vysoké, jako ve svalovině hostitele. To znamená, že hlístice, které parazitují u savců, stejně jako hlístice parazitující u ryb, se vzhledem k nízkému množství kovů zachycených v jejich těle jeví jako neúčinní akumulující indikátoři. (Sures, 2004). Tasemnice (např. druhy rodu *Hymenolepis*) jsou skupinou parazitů nalézáných ve střevech hlodavců, dokonce i v městských ekosystémech. Sures et al. (2002) zjišťovali bioakumulační schopnost tasemnice *H. diminuta*, která parazituje u potkanů a krys, pro olovo. Potkani se experimentálně nakazili cysticerkoidy *H. diminuta* a následně se jim orálně podávalo olovo. Ukázalo se, že tasemnice měly 17x vyšší koncentraci olova v těle, než potkani v orgánech.

Tekin-Özan et Barlas, (2008) zjistili nahromadění těžkých kovů (zinek, železo, mangan) pomocí atomové absorpční spektrofotometrie v některých orgánech lína obecného (*Tinca tinca*) a v tkáních jeho parazitů (hlavně tasemnice řemenatky ptačí - *Ligula intestinalis*). V platicerkoidech řemenatky ptačí byla naměřena 2,1krát vyšší hodnoty zinku, než v rybích játrech, 3,3 krát vyšší než v zábrách a 5,5krát vyšší než ve svalech. Tasemnice jsou proto užitečné při stanovování hladin těžkých kovů, které znečišťují vodní prostředí, pokud jsou nalezeny v mezihostiteli.

3.6.2 Směr budoucího výzkumu

Je stále větší potřeba hledat nové informace o základních fyziologických funkcích parazitů, které mají vliv na hostitele v souvislosti s bioakumulací těžkých kovů. Paraziti, kteří mají schopnost akumulovat těžké kovy, poskytují zajímavé možnosti uplatnění při biomonitoringu, především jako prostředky při hodnocení stavu životního prostředí. Pokud budou parazité důsledně sledováni, mohou parazitologové v této oblasti kombinovat své zkušenosti a znalosti s experty toxikologie a ekotoxikologie. Je ovšem nutné vytvořit parazito-hostitelský obraz jako indikační proces (Sures, 2003). Výhody při použití parazitů jako bioindikátorů jsou především u biomonitoringu *in situ*, a to jak při sběru vzorků z přirozeně se vyskytujících živočichů, tak při odběru vzorků z hostitelů nebo mezihostitelů umístěných na určitém místě v průběhu pokusu. K nevýhodám patří zejména variabilita množství kovů v tkáních jak hostitele, tak parazitů, což může snížit přesnost určení množství těžkých kovů v prostředí. Další nevýhodou je dosud nedostatečná znalost rychlosti ukládání těžkých kovů v parazitech. Nejvíce prozkoumaní jsou hlavně vrtejší u ryb (Sures, 1999).

3.6.3 Tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*)

Říše – Animalia (živočichové)

Kmen – Platyhelminthes (ploštěnci)

Třída - Cestoda (tasemnice)

Podtřída – Eucestoda

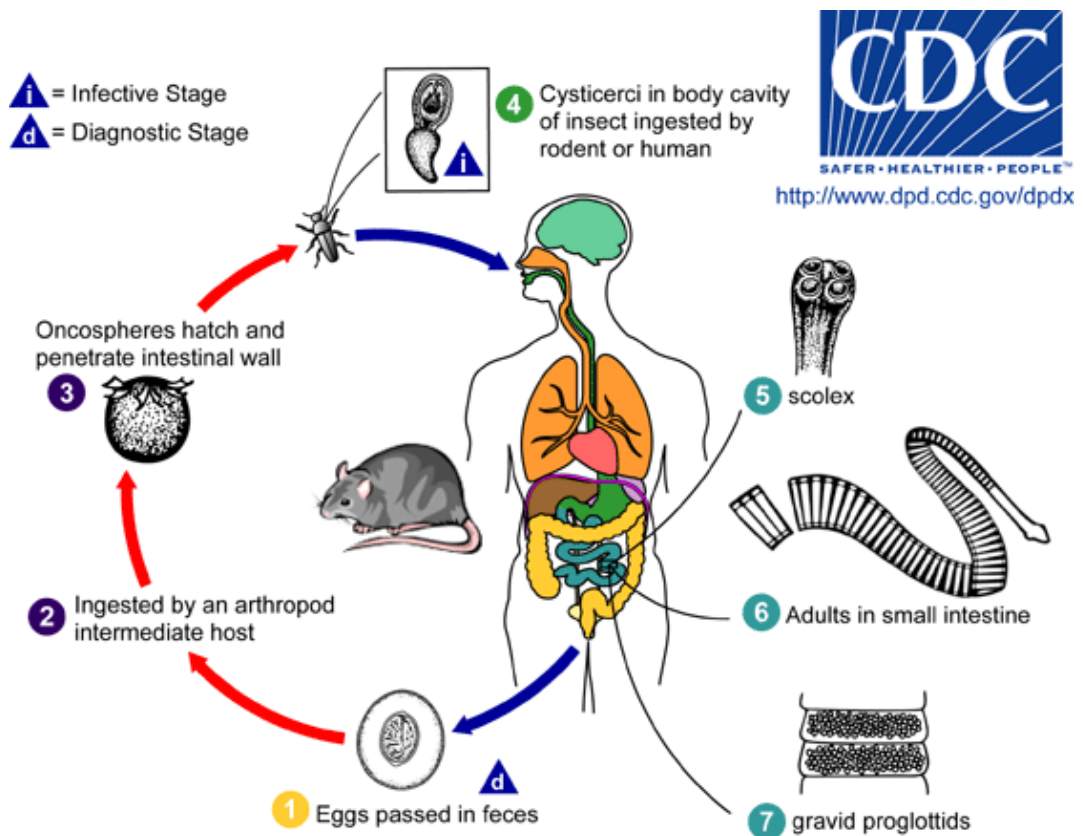
Řád – Cyclophyllidae (kruhovky)

Čeleď - Hymenolepididae

Rod – *Hymenolepis*

Druh – *Hymenolepis diminuta*

Tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*) parazituje v široké škále hlodavců a výskyt se sleduje po celém světě (Andreassen et al., 1999; Arai 1980). Dospělci žijí ve střevech hostitele, obvykle potkanů a myši, ale mnohdy také psů a člověka. První popis tasemnice, jak ho známe dnes, publikoval v roce 1918 Rudolphi (Arai, 1980). Dospělci dosahují velikosti 20 až 60cm, maximálně 90cm. Mají válcovité tělo, které se skládá ze skolexu (hlavičky) a segmentované strobily (těla). Scolex je vybaven čtyřmi kruhovitými přísavkami s vysunutelným chobotkem (rostellum), který nemá rostellární háčky, kterými zraňuje tkáň hostitele (na rozdíl od příbuzné tasemnice *Hymenolepis nana*). Strobila jsou tvořena jednotlivými proglotidy (články), které představují jednotlivé reprodukční jednotky. Povrch těla je tvořen tegumentem. Na svém povrchu mají tasemnice přeměněné mikroklky (mikrotrichy). Vzhledem k absenci střeva přijímá *H. diminuta* živiny vnějším povrchem těla, mikrotrichy zvětšují plochu těla a umožní vstřebání většího množství živin (Arai, 1980). Až na výjimky jsou to hermafrodité. V každém článku se nachází samčí i samičí reprodukční soustava. K oplození dochází nejčastěji mezi dvěma tasemnicemi nebo mezi články na stejné strobile. Nejstarší články na konci těla jsou naplněné vajíčky (Volf et al., 2007). Vývojový cyklus tasemnice *H. diminuta* je nepřímý. V rámci obligátně dvouhostitelského cyklu využívá hmyz (např. brouky *Tribolium castaneum* – potemník hnědý; *Tribolium confusum* – potemník skladištní; *Tenebrio monitor* – potemník moučný, mohou se jím stát i blechy) jako mezihostitele a jako definitivní hostitel slouží hlodavci (potkani, krysy) i člověk. K nákaze dojde požitím infikovaného mezihostitele nejčastěji v místech výskytu obilí, kde oba živočichové žijí vedle sebe. Tato tasemnice je častým experimentálním modelem, a to díky snadnému chovu hostitelů (potemníci rodu *Tribolium* jako mezihostitelé, potkani jako definitivní hostitelé). U mezihostitelských brouků vyvolává změny chování a snížení reprodukce blokováním vaječných receptorů pro vitelogenin. U definitivních hostitelů se výrazně uplatňuje vnitrodruhová regulace populace tasemnic prostřednictvím tzv. crowding efektu, kdy při silných nálezích zůstávají některé tasemnice nevyvinuté. Rychleji rostoucí tasemnice produkují látky, které inhibují syntézu DNA ostatních tasemnic (Dewey 2001; Volf et al., 2007). Vajíčka jsou vylučována ve výkalech hlodavců, ve vnějším prostředí vajíčka nepřežijí déle jak 10dní. Ve vajíčku se vytváří první larva – onkosféra, ta je požitá mezihostitelem. V těle mezihostitele dojde k uvolnění ekosféry z vajíčka (Arai, 1980). V tělní dutině hmyzu dochází za 10 dní k vývoji druhé larvy – cysticerkoidu. Od této chvíle může být nakažen definitivní hostitel (Andreassen et al., 1999). Jakmile se v hostiteli vyvine dospělec, může produkovat více než 250 000 vajíček za den (Andreassen et al., 1999; Arai, 1980).



i = infekční stadium

d = diagnostikovatelné stadium

1. Vajíčka vyloučená ve výkalech;
2. požití vajíček mezihostitelem (dospělí členovci nebo larvy);
3. uvolnění onkosfér z vajíček a pronikání střešní stěnou mezihostitele;
4. požití cysticerkoidu definitivním hostitelem (hlodavec, člověk);
5. lidé se mohou náhodně nakazit požitím hmyzu například v předvařených obilovinách, nebo přímo z prostředí (děti). Po požití uvolnění cysticerkoidu v žaludku a tenkém střevě;
6. pomocí 4 přísavek na scolexu přichycení ke stěně střešní. Vývoj v dospělce za 20 dní. Mohou mít až 30cm;
7. vajíčka jsou uvolňována z článkovaných gravidních proglotidů;
8. vajíčka jsou uvolňována do vnějšího prostředí ve výkalech hostitele

(převzato a upraveno: <http://www.dpd.cdc.gov>).

3.7 Potkan obecný (*Rattus norvegicus*)

Říše: živočichové (Animalia)

Kmen: obratlovci (Vertebrata)

Třída: savci (Mammalia)

Řád: hlodavci (Rodentia)

Čeleď: myšovití (Muridae)

Rod: *Rattus*

Druh: *Rattus norvegicus*

Potkan obecný je synantropní a kosmopolitně rozšířený hlodavec. Rozšířil se z původně bažinatých oblastí východní Asie do mnoha končin celého světa, zejména do Evropy a Severní Ameriky. Přestože začal expandovat později než krysa obecná, větší přizpůsobivostí a schopností žít ve vlhkém prostředí ji na mnoha místech zcela nahradil. Ve střední Evropě se jeho hojnější výskyt datuje asi od 18. století. Je všude běžný (až obtížný), území ČR nevyjímaje, ani nadmořská výška jeho výskyt neomezuje (např. občas se objevuje v horských chatách na hřebenech Krkonoš až v 1400 m n. m.). Často je zaměňován s krysou obecnou (*Rattus rattus*), ikdyž se od ní výrazně liší vzhledem i způsobem života. Dosahuje větší velikosti a jeho lysý a šupinatý ocas je kratší než tělo. Hlava je zepředu mírně zaoblená, oči jsou drobné a slabě osrstěné ušní botce krátké (při přehnutí nepřesahují k očím). Ve zbarvení hřbetu převládá šedohnědý až hnědý odstín, spodní strana těla bývá šedavá, ocas je svrchu tmavší než vespod. Samice mají 6 párů mléčných bradavek (Anděra et Horáček, 2005). Ve volné přírodě se potkan dožívá 2 let, v zajetí až 3 – 4 roky (Poláček et al., 2005). Potkani žijí soumráchnou aktivitou, sociálně ve skupinách a dokonale vyvinutou hierarchií. Velikost těla se liší u samce a samice, je zde dobře patrný pohlavní dimorfismus. Hmotnost dospělého samce je průměrně 250 -700 (až 900g), samice dosahují pouze 200 – 350g. Délka šupinatého ocasu je kolem 170 – 230mm. Ocas hraje důležitou roli při termoregulaci a je zároveň rovnovážným orgánem. Délka březosti je 22 – 24 dní. V jednom vrhu bývá většinou 2 – 15 holých a slepých mláďat, kojena jsou 3 týdny. Poměr pohlaví mláďat ve vrhu bývá vyrovnaný. Pohlavní dospělost je dosahována ve 2 měsíci. Už po 24 hodinách po porodu je samice schopna znovu zabřeznout (Dungel et Gaisler, 2002).

Spolu s myší je potkan nejužívanějším laboratorním zvířetem. Je využíván velmi intenzivně v toxikologii, endokrinologii, farmakologii, onkologii, embryologii a v oblastech výzkumu reprodukce a výživy. Užíváno je přes 50 kmenů laboratorního potkana, v ČR jsou nejčastěji chovány kmeny albinotické (Wistar, Osborne Mendel, Sprague-Dawley, Lewis, Fisher) a barevné (Sherman a Long - Evans) (Dungel et Gaisler, 2002).

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Experimentální plán

Experiment probíhal v roce 2013 a 2014 v Pokusné a demonstrační stáji Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze. Potkani byli umístěni v prostorách průběhu pokusu, ještě před zahájením jednotlivých etap experimentu, a to z důvodu aklimatizace na prostředí. K infekci potkanů tasemnicí krysí (*Hymenolepis diminuta*) byli použiti brouci potemníci *Tenebrio confusum*. Potemníci byli infikováni požitím vajíček tasemnice (*Hymenolepis diminuta*), získaných z pokusného chovu Katedry zoologie a rybářství na ČZU. Z brouků byly následně vypreparovány larvy tasemnice – cysticerkoidy a orální cestou vpraveny do potkanů. Vývoj cysticerkoidů v mezipříteli probíhal celkem 12 dní v inkubátoru při teplotě 29°C. Po 21 dnech od požití bylo provedeno koprologické vyšetření potkanů k ověření infekce. V případě potvrzení infekce byli potkani umístěni do bilančních klecí.

Každá bilanční fáze experimentu trvala 6 týdnů. Potkani byli po tuto dobu chováni v individuálních bilančních klecích v Pokusné a demonstrační stáji FAPPZ na ČZU. Každá bilanční klec je vybavena krmítkem na podávání potravy, nádobkou na vodu a sběrnými nádobami na výkaly a moč. Podávání zinku bylo realizováno perorálně. V první etapě pokusu byli potkani 1 – 6 (bez tasemnice) krmeni pouze standardním krmivem ST – 1 (1,75mg Zn/den) a potkani 7 - 12 (bez tasemnice) krmeni ST – 1 s příměsí huseníčku hallerova (*Arabidopsis halleri*). V druhé etapě byla potkanům 1 - 6 (s tasemnicí) podávána ST – 1 a potkanům 7 – 12 (s tasemnicí) ST – 1 s příměsí huseníčku. Huseníček hallerův byl podáván v jemně nadrcené formě a promíchán se standardní směsí. Výsledná dávka zinku podávaná potkanům s příměsí rostliny byla 20,5mg Zn/den. Denní krmná dávka byla pro každého potkana vždy 25g krmiva, v pátek se podávalo 50g. Odběr výkalů a moči k uskladnění a provedení analýzy byl prováděn 1x týdně, vždy ve čtvrtek.

Tab. 1 Přehled etap a jednotlivých skupin potkanů

1. etapa	potkan 1 - 6 kontrola bez tasemnice, krmení ST-1	K 0
	potkan 7 - 12 rostlina bez tasemnice, krmení ST - 1 + <i>Arabidopsis halleri</i>	R 0
2. etapa	potkan 13 - 18 kontrola s tasemnicí, krmení ST – 1	K tas
	potkan 19 - 24 s tasemnicí, krmení ST - 1 + <i>Arabidopsis halleri</i>	R tas

4.2 Laboratorní analýza

Všechny vzorky výkalů byly uchovány v lednici a poté se 48hodin lyofilizovaly. Následovalo jejich nadrcení na jemný prášek a v označených zkumavkách byly poslány do laboratoře. Vzorky byly převedeny do roztoku metodou mikrovlnného rozkladu. Rozklad vzorků probíhal ve směsi kyseliny dusičné (65%) a peroxidu vodíku (35%); v poměru 6 : 3ml. V laboratoři bylo stanoveno množství vyloučeného zinku ve výkalech pomocí spektrometru ICP – MS. Metoda ICP - MS neboli hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem je ultrastopová analytická metoda sloužící ke stanovení obsahu stopových množství jednotlivých prvků v analyzovaném vzorku. Tato technika umožňuje analyzovat téměř všechny prvky od lithia po uran s citlivostí až jednotek ppt po stovky ppm.

4.3 Laboratorní potkan (*Rattus norvegicus var.alba*)

Laboratorní potkan je bílou vyšlechtěnou variantou potkana obecného, který byl původně určen k pokusným účelům v 50. letech 20. století. Vhodný byl zejména díky vhodným rozměrům, snadnému odchovu a své inteligenci. V laboratořích bývají potkani umístěni v klecích v dostatečné vzdálenosti od topení a oken. Teplota by se měla udržovat pokojová a stálá. Laboratorní potkan má tělo dlouhé asi 17 – 28cm, ocas dlouhý 17 – 23cm

a s hmotností dosahující až 600g. Jsou známé 3 kmeny - Wistar Albino, Long – Evans a Sprague – Dalwey Albino, ze kterých byly selektivním křížením vyšlechtěny další kmeny (Poláček et al., 2005).

V této studii proběhly 2 etapy pokusu, v každé etapě bylo použito 12 samců potkanů patřících do kmene Wistar. Celkem bylo použito 24 zvířat.

4.4 Huseníček hallerův (*Arabidopsis halleri*)

Huseníček hallarův (*Arabidospis halleri*) je (10-) 20 – 45 (-60) cm vysoká výběžkatá bylina. Rostlina je porostlá jednoduchými nebo vícekrát rozeklanými trichomy. Lodyha je poléhavá, listy jsou vejčitého tvaru, řapíkaté, mívají zubaté, pilovité nebo vroubkované okraje. Oboupohlavné květy vytváří hroznové květenství. Okvětní lístky jsou bílé nebo světle fialové. Semena jsou podlouhlá, zploštělá a světle hnědá ve velikosti 0,5 – 0,7mm. Kvete od května do srpna. Ve většině případech preferuje zastíněné lokality, lesní okraje, šterkovité nebo travnaté svahy v nadmořské výšce 0 – 2600 m téměř po celé Evropě a východní Asii (O'Kane and Al- Shehbaz, 1997). U rostliny *Arabidopsis halleri* je dokázána vyšší akumulární schopnost zinku a nižší akumulární schopnost kadmia (Zhao et al., 2006).

5 VÝSLEDKY

V tomto experimentu bylo použito hostitelsko – parazitárního modelu *Rattus norvegicus* – *Hymenolepis diminuta*. Sledoval se vliv tasemnice na koncentraci zinku v moči a výkalech. Dávka v krmivu pro každého potkana představovala 1,75mg Zn/den. Dále se v pokusu sledoval vliv krmení potkanů s příměsí hyperakumulující rostliny *Arabidopsis halleri* na exkreci zinku v moči a výkalech. Každá taková krmná dávka pro potkana obsahovala celkem 20,5mg Zn/den. Experimenty trvaly 6 týdnů a byly rozděleny do dvou etap.

Změřené hodnoty množství průměrně pozřené a vyloučené potravy přinesly zajímavé výsledky. Po porovnání zkonzumovala kontrolní skupina (krmena ST – 1) 1,4x více potravy, ale vylučovala 0,93x méně výkalů a 0,87x méně moči než kontrolní skupina krmená hyperakumulující rostlinou. Přičemž hmotnost první skupiny byla 1,44x větší než hmotnost druhé skupiny (o 100,6g). U skupin nakažených tasemnicí byla situace odlišná. Kontrolní skupina s tasemnicí (krmena ST – 1) pozřela 0,95x méně potravy a vyloučila 1,03x více výkalů a 0,86x méně moči než skupina s tasemnicí krmena akumulující rostlinou. Hmotnost skupiny s tasemnicí (krmena ST – 1) byla 1,36x větší než u skupiny s tasemnicí a akumulující rostlinou (o 115g).

Naměřené hodnoty příjmu krmiva a množství vyloučených výkalů a moči jsou zaneseny v tabulce č. 2.

Průměrné naměřené hodnoty ukázaly, že nejvíce zinku vylučovala močí skupina potkanů bez tasemnice, krmena příměsí huseníčku - 0,076mg Zn/den, dále skupina potkanů s tasemnicí, krmena příměsí huseníčku - 0,025mg Zn/den. Kontrolní skupina bez tasemnice vylučovala močí průměrně 0,0065mg Zn/den a kontrolní skupina s tasemnicí 0,0062mg Zn/den.

Průměrné naměřené hodnoty ukázaly, že nejvíce zinku vylučovala výkaly skupina potkanů bez tasemnice, krmena příměsí huseníčku - 10,03mg Zn/den, dále skupina potkanů s tasemnicí, krmena příměsí huseníčku - 6,55mg Zn/den. Kontrolní skupina bez tasemnice vylučovala výkaly průměrně 0,46mg Zn/den a kontrolní skupina s tasemnicí 0,37mg Zn/den.

Naměřené hodnoty vyloučeného zinku močí a výkaly za den v jednotlivých týdnech dvou etap jsou zaneseny v následujících grafech 1 – 4.

Tab. 2 Přehled příjmu krmiva a exkrece jednotlivých skupin

	průměrné množství pozřené potravy na potkana (g)	průměrné množství vyprodukovaných výkalů na potkana (g)	průměrná váha potkanů na konci 6. týdne (g)	průměrné množství vyloučené moči (ml)
kontrola bez tas - K 0	826	480	326.5	503
rostlina bez tas - R 0	591	514	226	581
kontrola s tas - K tas	795	538	431	684
rostlina s tas - R tas	830	520	316	788

Tab. 3 Přehled množství přijatého zinku za etapu

	suma přijaté potravy (g)	průměr spotřeby krmiva na jedno zvíře (g)	Zn přijatý skupinou (mg)	průměr přijatého Zn na jedno zvíře (mg)
kontrola bez tas	4965	826	347,55	43,44375
kontrola s tas	5563	795	389,41	55,63
rostlina bez tas	3545	591	2906,9	484,4833
rostlina s tas	4978	830	4081,96	680,3267

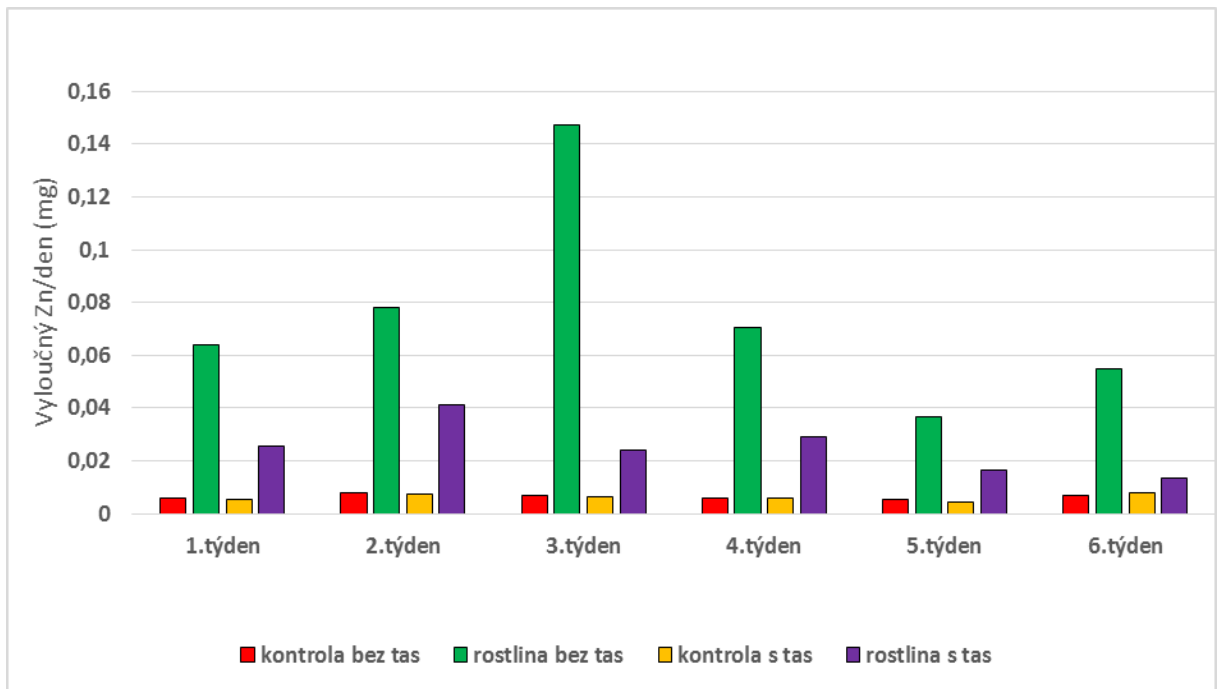
Tab. 4 Průměrné množství vyloučeného zinku za den v moči (mg)

	1. týden	2. týden	3. týden	4. týden	5. týden	6. týden	průměr
kontrola bez tas	0,00587	0,00799	0,00709	0,00562	0,00546	0,00688	0,006485
rostlina bez tas	0,06405	0,07781	0,14745	0,07033	0,03643	0,05505	0,075187
kontrola s tas	0,0055	0,00731	0,00631	0,00562	0,00457	0,008	0,006218
rostlina s tas	0,02559	0,04134	0,02425	0,02893	0,0165	0,0135	0,025018

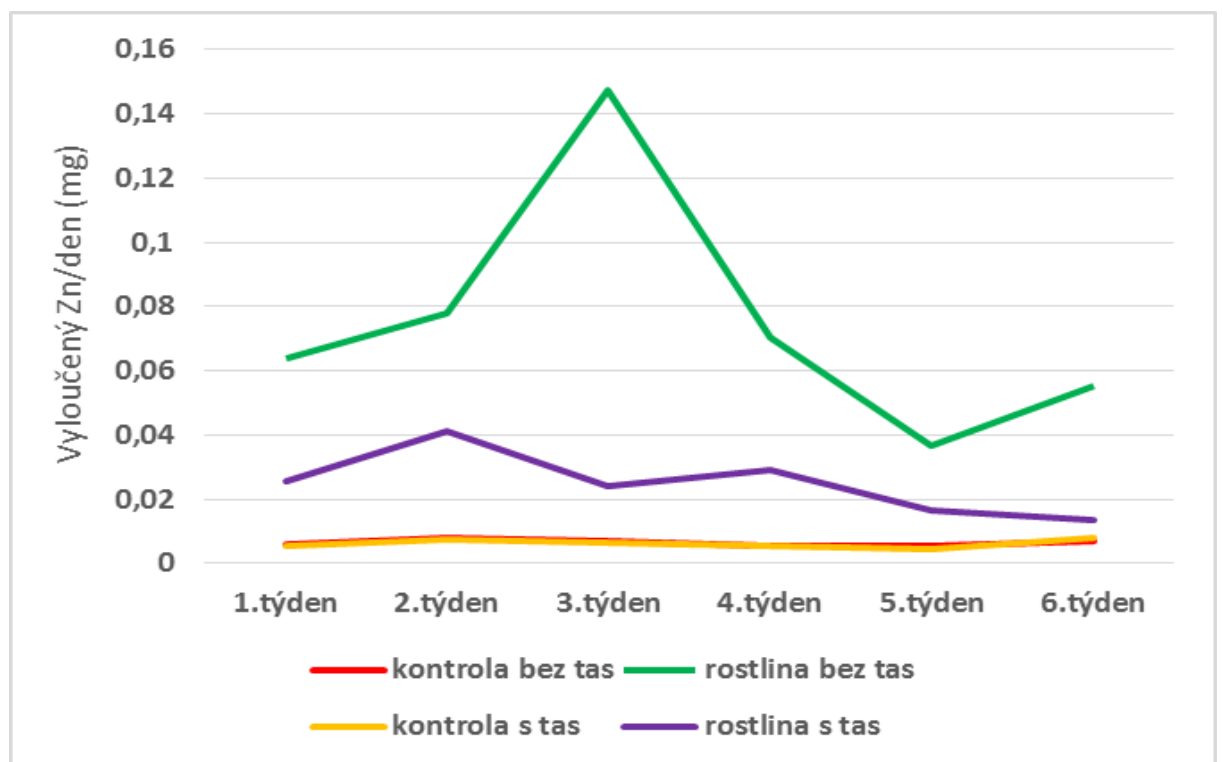
Tab. 5 Průměrné množství vyloučeného zinku za den ve výkalech (mg)

	1. týden	2. týden	3. týden	4. týden	5. týden	6. týden	průměr
kontrola bez tas	0,386	0,57	0,444	0,423	0,478	0,429	0,455
rostlina bez tas	4,846	4,568	13,43	13,22	13,14	10,98	10,0307
kontrola s tas	0,322	0,382	0,35	0,4	0,434	0,341	0,3715
rostlina s tas	4,336	8,578	8,4609	6,491	5,355	6,097	6,55298

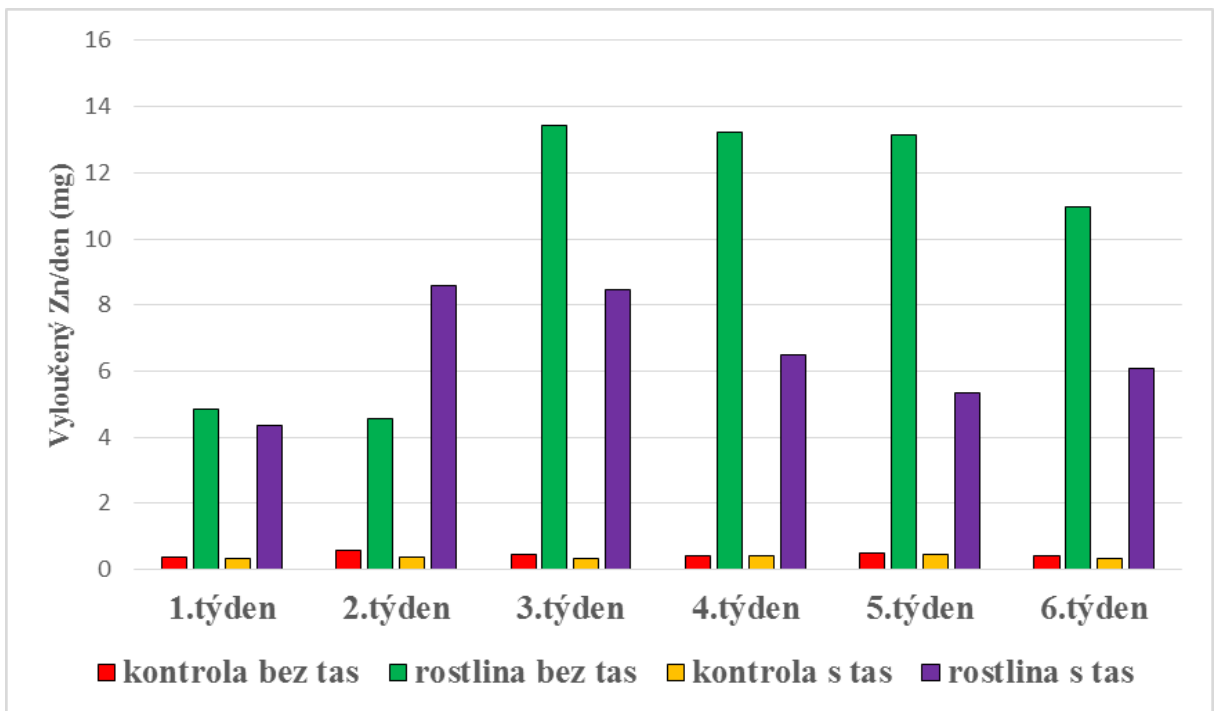
Graf č. 1 Množství vyloučeného Zn/den v moči (mg) v průběhu 6 týdnů



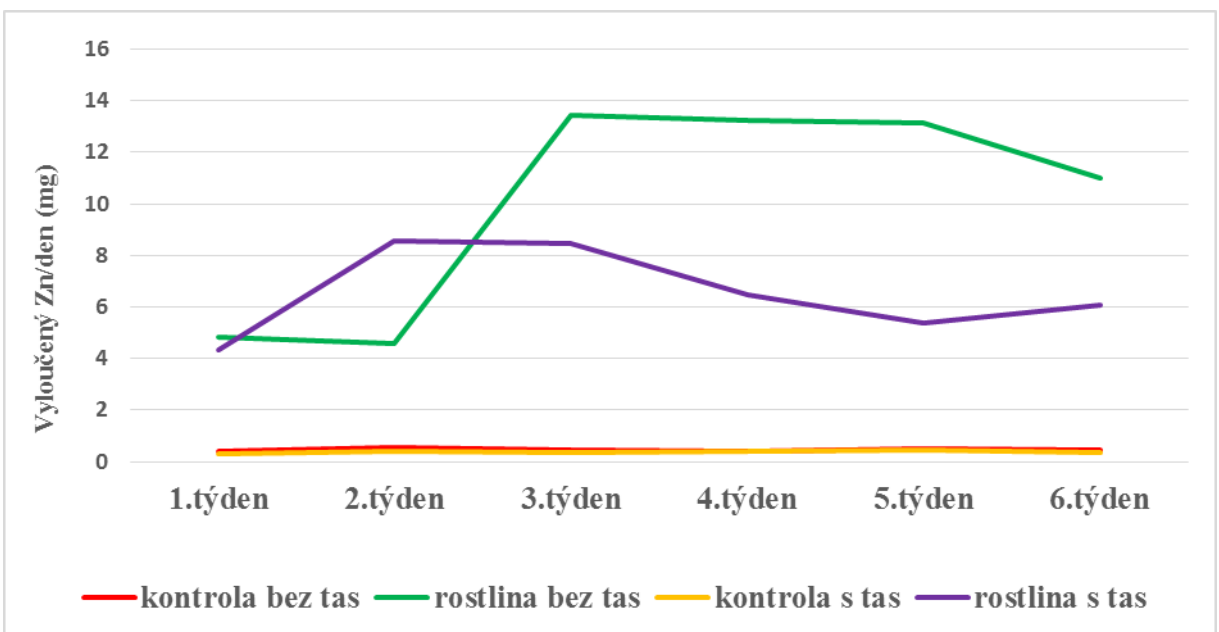
Graf č. 2 Množství vyloučeného Zn/den v moči (mg), časová řada v průběhu 6 týdnů



Graf č. 3 Množství vyloučeného Zn/den ve výkalech (mg) v průběhu 6 týdnů



Graf č. 4 Množství vyloučeného Zn/den ve výkalech (mg), časová řada v průběhu 6 týdnů



Legenda ke grafům č. 1 – 4

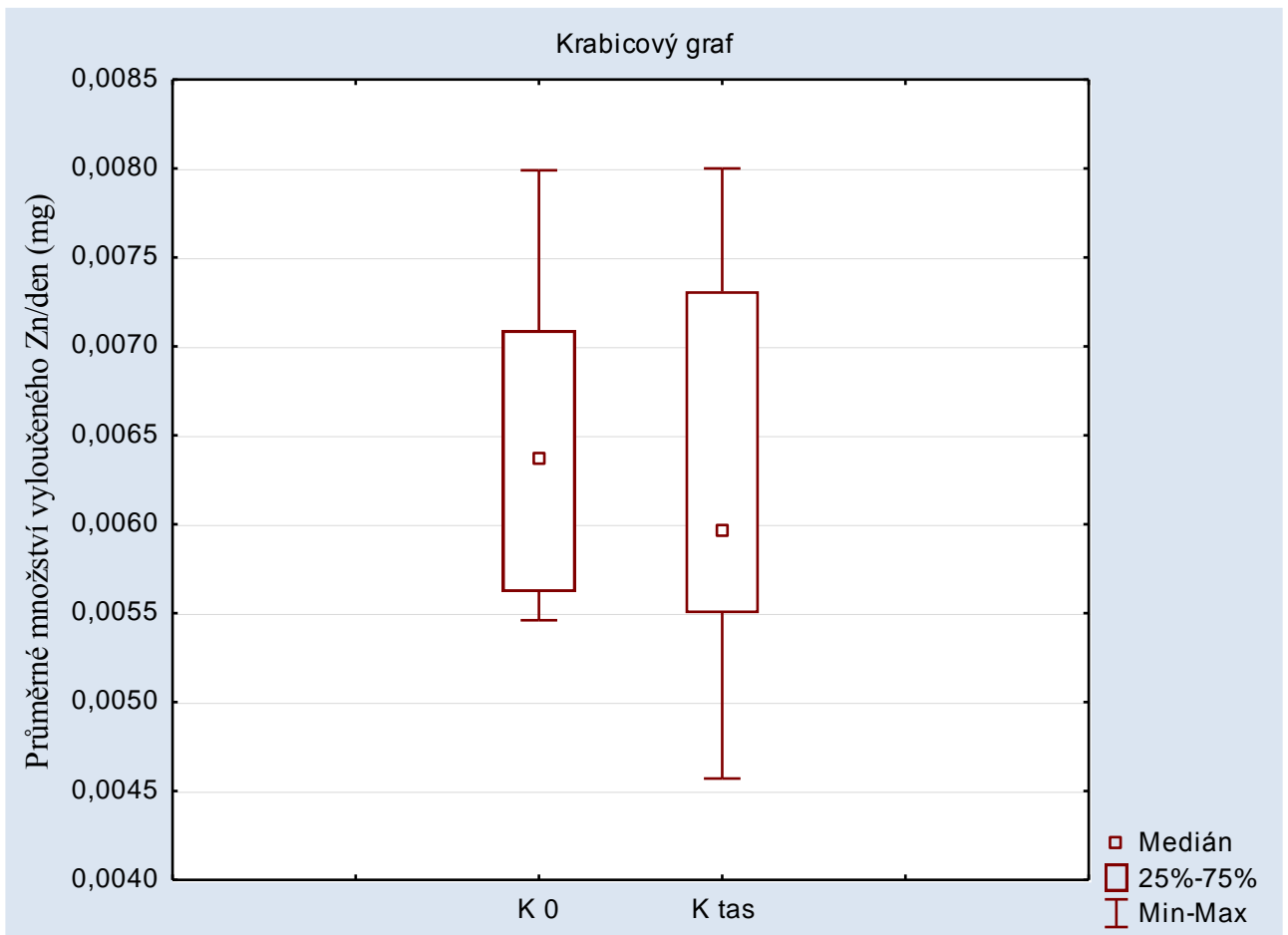
Kontrola bez tas – skupina potkanů 1 – 6 z první etapy, bez tasemnice, krmení ST – 1

Rostlina bez tas – skupina potkanů 7 – 12 z první etapy, krmení ST – 1 + *Arabidopsis halleri*

Kontrola s tas – skupina potkanů 13 – 18 z druhé etapy, nakažení *Hymenolepis diminuta*, krmení ST – 1

Rostlina s tas – skupina potkanů 19 – 24 z druhé etapy, nakažení *Hymenolepis diminuta*, krmení ST – 1 + *Arabidopsis halleri*

Graf č. 5 Srovnání množství vyloučeného Zn/den močí kontrolních potkanů bez tasemnice s kontrolními potkany s tasemnicí

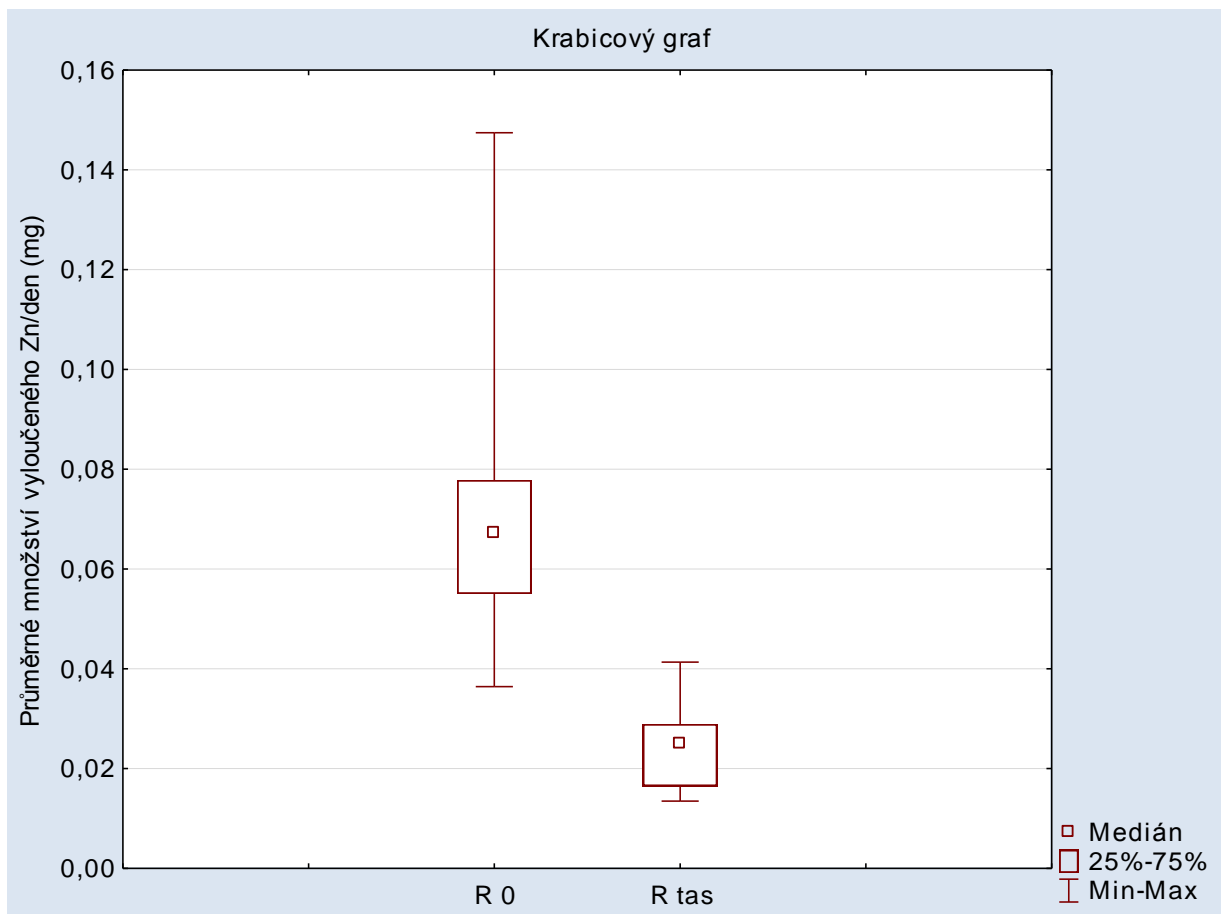


Legenda grafu č. 5

K 0 – kontrolní skupina potkanů bez tasemnice (krmení ST – 1)

K tas – kontrolní skupina potkanů s tasemnicí *Hymenolepis diminuta* (krmení ST – 1)

Graf č. 6 Srovnání množství vyloučeného Zn/den močí u potkanů bez tasemnice krmených *Arabidopsis halleri* s potkany s tasemnicí, krmenými *Arabidopsis halleri*

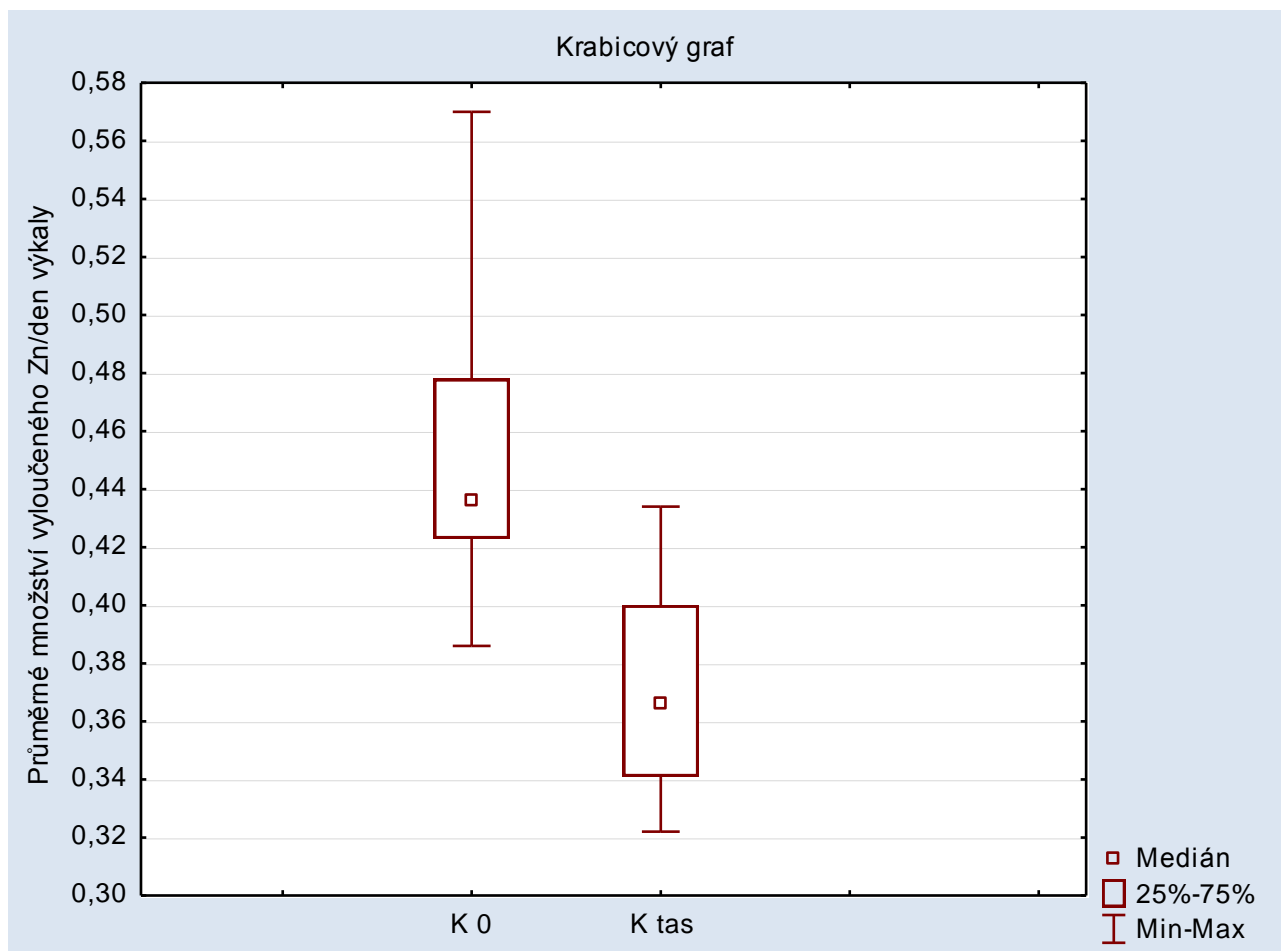


Legenda grafu č. 6

R 0 – skupina potkanů bez tasemnice, krmena *Arabidopsis halleri*

R tas – skupina potkanů s tasemnicí (*Hymenolepis diminuta*), krmena *Arabidopsis halleri*

Graf č. 7 Srovnání množství vyloučeného Zn/den výkaly kontrolních potkanů bez tasemnice s kontrolními potkany s tasemnicí

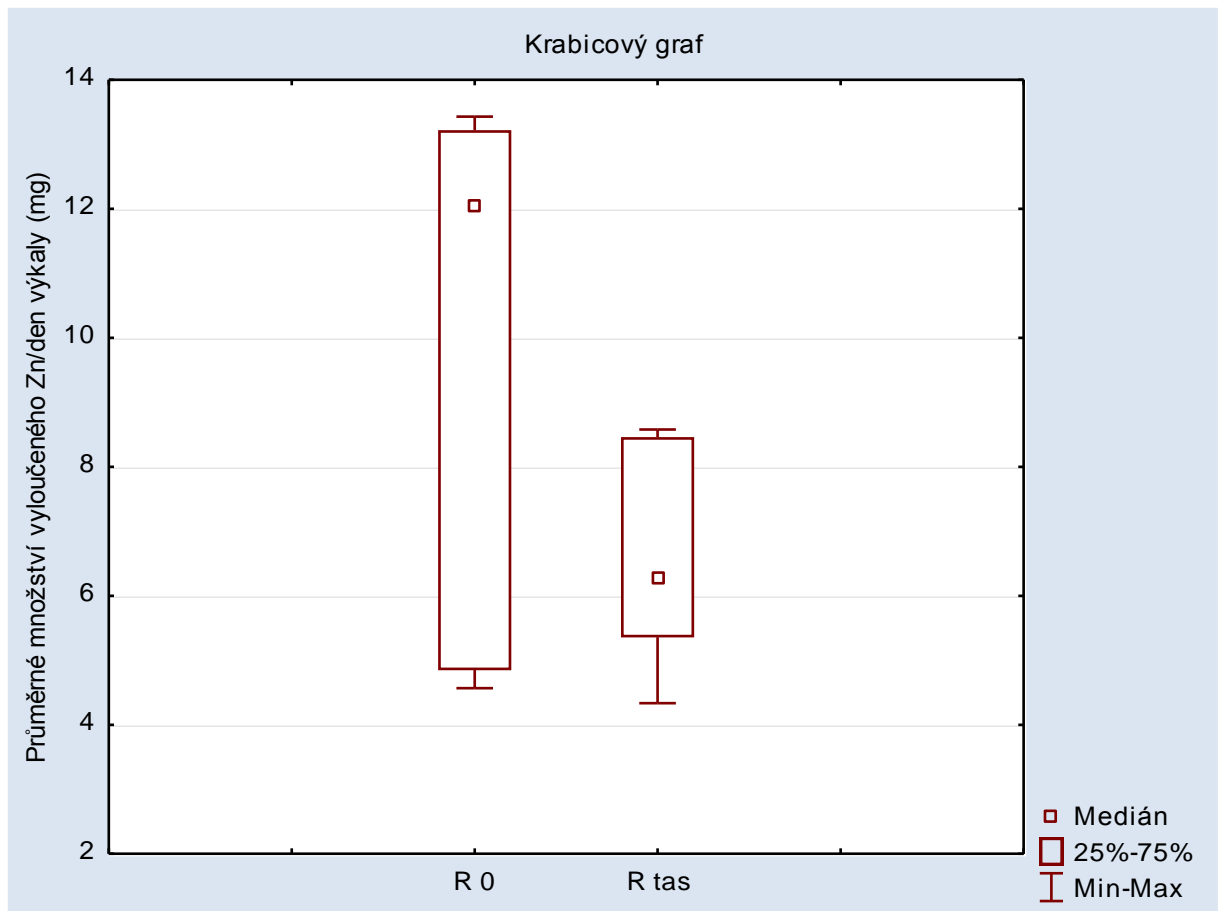


Legenda grafu č. 7

K 0 – kontrolní skupina potkanů bez tasemnice (krmení ST – 1)

K tas – kontrolní skupina potkanů s tasemnicí *Hymenolepis diminuta* (krmení ST – 1)

Graf č. 8 Srovnání množství vyloučeného Zn/den výkaly u potkanů bez tasemnice krmených *Arabidopsis halleri* s potkany s tasemnicí, krmenými *Arabidopsis halleri*



Legenda grafu č. 8

R 0 – skupina potkanů bez tasemnice, krmena *Arabidopsis halleri*

R tas – skupina potkanů s tasemnicí (*Hymenolepis diminuta*), krmena *Arabidopsis halleri*

6 DISKUZE

Hlavním předmětem této diplomové práce bylo ověření schopnosti tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*) ovlivňovat koloběh a exkreci zinku v těle svého hostitele. V této práci byl tímto hostitelem laboratorní potkan (*Rattus norvegicus*). Oba druhy byly vybrány proto, že potkani i tasemnice jsou kosmopolitně rozšířeni a jsou velmi snadno dostupní pro výzkumné účely. Sures et al. (1997) uvádí, že tasemnice savců, ryb a ptáků mají schopnost akumulovat ve svém těle velké množství těžkých kovů. Proto bylo cílem pokusu zjistit kapacitu akumulace zinku v infikovaných potkanech nakažených tasemnicí *Hymenolepis diminuta*. Sures et al. (2002) prováděli experimentální a terénní výzkumy, kterými dokázali, že díky velké akumulární schopnosti, mohou být tasemnice parazitující u hlodavců, zejména *Hymenolepis diminuta* v potkanech *Rattus norvegicus*, vhodnými bioindikátory zinku. Thielen et al. (2004) prováděli studii, která byla zaměřena na testování hypotézy, že v tasemnicích se koncentrují těžké kovy v daleko větší míře než ve tkáni hostitele. Velmi málo literatury se zabývá použitím savčích endoparazitů.

Vliv parazitů na vylučování těžkých kovů prováděli Brožová et al (2014). Tasemnice (*Echinococcus multilocularis*) prokazatelně absorbovala těžké kovy z těla hostitele (*Vulpes vulpes*) a tím docházelo ke změnám koncentrace kovů v hostitelském organismu.

Cílem studie Jankovské et al (2008) bylo zjistit, zda existuje rozdíl v akumulaci těžkých kovů v hostitelích infikovaných tasemnicí ve srovnání s těmi, kteří nakaženi nebyli. Přišli na to, že obsah těžkých kovů (Zn, Pb, Cd, Cr, Cu, Ni) v hostitelích klesal s rostoucím množstvím tasemnic. V nedávné studii zjišťovali Al – Quraishy et al. (2013) schopnost tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*) akumulovat olovo v Saudské Arábii. Bylo zjištěno, že parazité obsahovali 21,9x více olova, než samotné orgány hostitelů. V jiné práci, kterou prováděl B. Sures (2003) a jeho spolupracovníci byla studována schopnost parazitů akumulovat kovy u prasat a potkanů. V parazitech byly objeveny až 100x vyšší koncentrace ve srovnání s různými tkáněmi hostitele.

Studie Jian-Yi et al. (2010) prokazuje, že zinek patří mezi těžké kovy, které se významně podílí na řadě důležitých procesů v organismu. Například ovlivňuje biochemické procesy, metabolismus, růst a vývoj, imunitní a reprodukční systém a celkový zdravotní stav. To potvrdila i tato studie. Potkani krmení standartní směsí (dávka 1,75 Zn/den) zkonzumovali průměrně 826g potravy a vyloučila 480g výkalů. Druhá skupina potkanů krmená přídatkem hyperakumulující rostliny *Arabidopsis halleri* (dávka 20,5mg Zn/den) zkonzumovala

průměrně 591g potravy a vyloučila 514g výkalů za období etapy, tj. 6týdnů. Skupina potkanů krmená směsí s přídatkem huseníčku zkonsumovala tedy potravu méně, ale i přes to vylučovala více výkalů. To se odrazilo hlavně na hmotnosti potkanů. Průměrná hmotnost kontrolní skupiny potkanů na konci etapy byla 326,5g, průměrná hmotnost druhé skupiny, s přídatkem huseníčku byla 226g. Podávání huseníčku kontrolní skupině potkanů se odrazilo i ve vylučování moči, průměrně 581ml. Skupina krmená standartní směsí vyloučila průměrně 503ml moči. Vylučování více výkalů a moči při nižším příjmu krmiva může být u skupiny krmené směsí huseníčku způsobeno v důsledku snahy organismu vylučovat co nejvíce škodlivin (těžkých kovů) přijatých s potravou.

Johnson et al. (1988) zjistili, že rychlost vylučování zinku je závislá také na věku jedince. Oberleas (1996) ve své práci zjistil, že zinek, který je průměrně spotřebován za den vylučuje slinivka břišní do dvanáctníku. Většina tohoto sekretovaného zinku je vstřebána. Maita et al. (1981) přišli na to, že u potkanů, kterým podávali vysoké dávky zinku, se zvýšila mortalita (5 z 24 potkanů zemřelo). U mrtvých zvířat se zjistilo poškození močových cest, snížení počtu buněk ve slinivce břišní a k celkovému poklesu hladiny leukocytů. Tekin-Özan et Barlas, (2008) zjistili nahromadění těžkých kovů (zinek, železo, mangan) pomocí atomové absorpční spektrofotometrie v některých orgánech lína obecného (*Tinca tinca*) a v tkáních jeho parazitů (hlavně tasemnice řemenatky ptačí - *Ligula intestinalis*). V platicerkoidech řemenatky ptačí byla naměřena 2,1x vyšší hodnoty zinku, než v rybích játrech, 3,3x vyšší než v žábách a 5,5x vyšší než ve svalech. Tasemnice jsou proto užitečné při stanovování hladin těžkých kovů, které znečišťují vodní prostředí, pokud jsou nalezeny v mezipříteli.

Yin et al. (2008) se zabývali obsahem těžkých kovů ve výkalech. Pomocí výkalů mořských ptáků a savců z oblasti Antarktidy, Arktidy a oblasti jižního Čínského moře sledovali vylučování těžkých kovů. Pokusem dokázali, že zvířata z vyšších potravních úrovní vylučovali výkaly vyšší hodnoty těžkých kovů. Úplně nejnižší hodnoty ve výkalech naměřili u zvířat pocházejících z Arktidy, to může odrážet různou úroveň znečištění životního prostředí těžkými kovy. Čadková et al. (2003) zkoumali vliv olova na rychlost vylučování tohoto těžkého kovu výkaly. Studie byla prováděna 5 týdnů na laboratorních potkanech (*Rattus norvegicus*) a do krmiva jim byla přimíchána směs hyperakumulující rostliny babelka (rod *Pistia*). Vzorky výkalů byly odebrány po 24 - 72 hodinách. Až 53% pozřené olovo bylo potkany vyloučeno výkaly po 24 hodinách.

V tomto experimentu se měřil průměrně vylučovaný zinek výkaly a močí. Průměrné naměřené hodnoty ukázaly, že nejvíce zinku vylučovala močí skupina potkanů bez tasemnice, krmená příměsí huseníčku - 0,076mg Zn/den, dále skupina potkanů s tasemnicí, krmená

příměsí huseníčku - 0,025mg Zn/den. Kontrolní skupina bez tasemnice vylučovala močí průměrně 0,0065mg Zn/den a kontrolní skupina s tasemnicí 0,0062mg Zn/den. Co se týká výkalů, nejvíce jím zinek vylučovala skupina potkanů bez tasemnice, krmena příměsí huseníčku - 10,03mg Zn/den, dále skupina potkanů s tasemnicí, krmena příměsí huseníčku - 6,55mg Zn/den. Kontrolní skupina bez tasemnice vylučovala výkaly průměrně 0,46mg Zn/den a kontrolní skupina s tasemnicí 0,37mg Zn/den.

Ve své práci shrnul Sures (1999) výhody a nevýhody použití parazitů jako bioindikátorů. Výhody jsou především u biomonitoringu *in situ*, a to jak při sběru vzorků z přirozeně se vyskytujících živočichů, tak při odběru vzorků z hostitelů nebo mezihostitelů umístěných na určitém místě v průběhu pokusu. K nevýhodám patří zejména variabilita množství kovů v tkáních jak hostitele, tak parazitů, což může snížit přesnost určení množství těžkých kovů v prostředí. Další nevýhodou je dosud nedostatečná znalost rychlosti ukládání těžkých kovů v parazitech. Je stále větší potřeba hledat nové informace o základních fyziologických funkcích parazitů, které mají vliv na hostitele v souvislosti s bioakumulací těžkých kovů.

7 ZÁVĚR

V tomto experimentu byl sledován vliv tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*) na příjem a exkreci zinku u hostitele (*Rattus norvegicus*). Kontrolní skupina potkanů bez tasemnice byla krmena standartní krmnou směsí, další skupina bez tasemnice byla krmena přídatkem hyperakumulující rostliny *Arabidopsis halleri*, která má schopnost akumulace těžkých kovů z půdy. Třetí skupina byli kontrolní potkani nakaženi tasemnicí (*H. diminuta*), krmeni standartní směsí a poslední skupinou byli potkani nakaženi *H. diminuta* krmeni směsí s *A. halleri*. Prokázalo se, že:

- kontrolní skupina potkanů bez tasemnice (K 0) zkonsumovala průměrně 1,4x více potravy, vyloučili 0,93x méně výkalů a 0,87x méně moči než kontrolní skupina krmena příměsí hyperakumulující rostliny *Arabidopsis halleri* (R 0)
- hmotnost K 0 byla 1,36x větší než u R 0 (o 100,6g)
- kontrolní skupina potkanů s tasemnicí (K tas) zkonsumovala 0,95x méně potravy, vyloučili 1,03x více výkalů a 0,86x méně moči než skupina potkanů s tasemnicí krmena příměsí hyperakumulující rostliny *Arabidopsis halleri* (R tas)
- hmotnost K tas byla 1,36x větší než R tas (o 115g)
- nejvyšší průměrné množství Zn/den vylučovala močí skupina R 0 – 0,076mg; množství vyloučeného Zn/den močí u R tas – 0,025mg; množství vyloučeného Zn/den močí u K 0 – 0,0065mg; množství vyloučeného Zn/den močí u K tas – 0,0062mg
- nejvyšší průměrné množství Zn/den vylučovala výkaly skupina R 0 – 10,03mg; množství vyloučeného Zn/den výkaly u R tas – 6,55mg; množství vyloučeného Zn/den výkaly u K 0 – 0,46mg; množství vyloučeného Zn/den výkaly u K tas – 0,37mg;

Výsledky experimentu potvrzují hypotézu, že tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*) je schopna akumulovat ve svém těle přijatý zinek a tím snížit množství exkrece zinku ve výkalech a moči.

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Adriano, D. C. (2001). Trace elements in terrestrial environments, Springer-Verlag, New York, č. 644

Al – Quraishy, S., Gewik, M. M., Abdel – Baki, A., S. (2013). The intestinal cestode *Hymenolepis diminuta* as a lead sink for its rat host in the industrial areas of Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 1

Anděra, M., Horáček, I. (2005). *Poznáváme naše savce – 2. doplněné vydání*. Sobotáles, 327s., ISBN: 80-86817-08-3

Andreassen, J., Bennet-Jenkins, EM., Bryant, C. (1999). Immunology and biochemistry of *Hymenolepis diminuta*. *Adv Parasitol*, 42, s. 223 – 75

Angelova, V., Ivanov, K., Ivanova, R. (2004). Effect of chemical forms of lead, cadmium and zinc in polluted soil on their uptake by Tobacco. *Journal of Plant Nutrition*, 5, s. 757-773

Anke, M. (2002). The effect of a nickel rich offer on the zink, magnesium and manganem status of the hen and their eggs. *Tagung Schweine – und Geflugelernahrung*. Martin – Luther Universitat Halle, 7, s. 210 – 212

Arai, H. (1980). *Biology of the tapeworm Hymenolepis diminuta*. New York Academic Press.

Bert V., Meerts P., Saumitou-Laprade P., Salis P., Gruber W., Verbruggen N. (2003) Genetic basis of Cd tolerance and hyperaccumulation in *Arabidopsis halleri*. *Plant and Soil*, 249, s. 9-18

Brody, T. (1998). Zinc and Copper. *Nutritional Biochemistry*. Academic Press, s. 803 – 819

Brožová, A., Jankovská, I., Miholová, D., Scháňková Š., Truněčková, J., Langrová, I., Kudrnáčová, M., Vadlejch, J. (2014). Heavy metal concentrations in the small intestine of red

fox (*Vulpes vulpes*) with and without *Echinococcus multilocularis* infection. Environmental Science and Pollution Research. 22 (4), s. 3175 - 3179

Caballero, B., Allen, L., Prentice, A. (2005). Zinc in freake. Encyclopedia of Human Nutrition. Second edition. Oxford: Elsevier Academic Press, s. 447 – 454

Čadková, Z., Szaková, J., Miholová, D., Válek, P., Pačáková, Z., Vadlejch, J., Langrová, I., Jankovská, I. (2013). Faecal Excretion Dynamic during Subacute Oral Exposure to Different Pb Species in *Rattus norvegicus*. Biological trace elements research. 152 (2), s. 225 - 232

Dastych, M. (2004). Zinek – esenciální stopový prvek. Labor Aktuell. 3, 123 – 125

Dewey S. (2001). *Hymenolepis diminuta*. Animal Diversity Web. [online]. [cit. 2015-01-29]. Dostupné z:
http://animaldiversity.org/site/accounts/information/Hymenolepis_diminuta.html.%C2%A0

Dungel, J., Gaisler, J. (2002). Atlas savců České a Slovenské republiky, Academia Praha, s. 150, ISBN 80-200-1026-2

Erdman, J. W., Macdonald, I. A., Zeisel, S. H. (2012). Present Knowledge in Nutrition

Florián, M. (2004). Obsah zinku v půdách posuzovaný pomocí různých extrakčních činidel. Bulletin odboru agrochemie, půdy a výživy rostlin 12/1, 27-36

Harte, J., Holdren, C., Schneider, R., Shirley, Ch., (1991). Toxics A to Z. A Guide to Everyday Pollution Hazards. University of California Press

Hendricks, K. M., Duggan, H. (2005). Manual of Pediatric Nutrition. Four Dediton. BC Decker: Hamilton, s. 850

Hoppert, M. (2011). Matalloenzymes. Encyclopedia of Earth Science Series. s. 558 – 563

Hotz, Ch., Brown, K. H. (2004). Assessment of the Risk of Zinc Deficiency in Populations and Options for its Control. Food and Nutrition Bulletin, 25, s. 91 – 202

- Chaney R. L., Malik M., Li Y.M., Brown S.L., Brewer E.P., Angle J.S., Bakek A.J.M. (1997) Phytoremediation of soil metal. *Current Opinion in Biotechnology*, 8, s. 279-284
- Chardonnnes A. N., ten Bookum W.M., Vellinga S., Schat H., Verkleij J.A.C., Ernst W.H.O. (1999). Allocation patterns of zinc and cadmium in heavy metal tolerant and sensitive *Silene vulgaris*. *Journal of Plant Physiology*, 155, s. 778-787
- Chua, H., Hua, F .L. (1996). Effects of a heavy metal (zinc) on organic adsorption capacity and organic removal in activated sludge. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 57 – 58 (1), s. 845 – 849
- Jankovská, I., Langrová, I., Bejcek, V., Miholova, D., Vadlejch, J., Petrtyl, M. (2008). Heavy metal accumulation in small terrestrial rodents infected by cestodes or nematodes. *Parasite – Journal de la Societe Francaise de Parasitologie*. 15 (4), s. 581 - 588
- Jansen, A. M., Bouchet, F., Reinhard, K., Ferreira, L. F. (2003). Parasitism, the Diversity of Life, and Peleoparasitology. *Mem inst Oswaldo Cruz*, 98, s. 5-11
- Järup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68, s. 167 – 182
- Jeney, Z. (2002). Effect of pulp and paper mill effluent (BKME) on physiological parameters of roach (*Rutilus rutilus* L.) infected by the digenean *Rhipidocytyle fennica*. *Folia Parasitologica*, 49, s. 103 – 108
- Jian-Yi, S., Jian-Feng, W., Nai-Tao, Z., Ming-Yan, J., Xiao-Yan, W. (2010). Effect of Zinc Supplementation and Deficiency on Bone Metabolism and Related Gene Expression in Rat. Springer Science+Business Media
- Johnson, P. E., Hunt, J. R., Ralston, N. V. (1988). The effect of past and current dietary Zn intake on Zn absorption and endogenous excretion in the rat. *J Nutr*, 118, s. 1205 - 1209
- Kafka, Z., Punčochářová, J. Těžké kovy a jejich toxicita. *Chemické listy*, 96, s. 611-617

- Kochian L. V. (1991): Mechanism of micronutrient uptake and translocation in plants. In: Micronutrients in agriculture (ed. Mortvedt J. J.), Soil Sci. Soc. Am., book series, 4, s. 229-296
- Koolman, J., Röhm, K. H. (2012). Barevný atlas biochemie. Grada Publishing, a.s., s. 322, ISBN: 978-80-247-2977-0
- King, J. C., Shamed, D. M., Woodhouse, L. R. (2000). Zinc homeostasis in Humans. The Journal of Nutrition. 130 (5), s. 1374 – 1377
- Krebs, F. N. (2000). Overview of Zinc Absorption and Excretion in the Human Gastrointestinal Tract. The American Society for Nutritional Science
- Krishna, S. S., Majumdar, I., Grishin, N. V., (2003). Structural classification of zinc fingers. Nucleic Acids Research, 31 (2), s. 532 – 550
- Kukačka, J., Kizek, R., Průša, R. (2008). Budoucnost zinkových metaloproteinů v laboratorní medicíně. Ústav klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN v Motole, Praha, 16 (37), s. 161 – 170
- Lafferty, K. D. (1997). Environmental parasitology: What can parasites tell us about human impact on the environment? Parasitology Today, 13, s. 251 – 255
- Liuzzi, J. P., Cousins, R. J. (2006). Mammalian zinc transporters. Annu Rev Nutr., 24, s. 151 - 172
- Maita, K., Hirano, M., Mitsumori, K., Takahashi, K., Shirasu, Y. (1981). Subacute toxicity studies with zinc sulfate in mice and rats. J Pestic Sci, 6, s. 327 - 336
- Masarovičová E., Lunáčková L., Králová K. (2002). Aktuálne problémy vplyvu kovov na rastliny. Biologické listy, 67, s. 253 - 268

Munkhtsenseg, T., Shung-Chung, Y., Der-Chuen L., Kuo-Chen, Y. (2014). Root-Secreted Nicotianamine from *Arabidopsis halleri* Facilitates Zinc Hypertolerance by Regulating Zinc Bioavailability. *Plant Physiology*, 166, s. 839 – 852

Oberleas, D. (1996). Mechanism of zinc homeostasis. *J Inorg Biochem*, 62, s. 231-241

O'Kane, Al- Shehbaz. (1997). *Arabidopsis halleri*. *Novon*, 7 (3), s. 325

Page, V., Feller, U. (2005). Selective transport of zinc, manganese, nickel, cobalt and cadmium in the root system and transfer to the leaves in young wheat plants. *Annals of Botany*, 96, s. 425 – 434

Poláček, I., Anděra, M., Hošek, J. (2005). *Poznáváme naše savce*. Sobotáles, s. 328, ISBN: 80-86817-08-3

Pollard, A.J., Keri, L.D., Jhee, E.D. (2000). Ecological genetic and the evolution of trace element hyperaccumulation in plants. *Phytoremediation of contaminated soil and water*, 14, s. 251 – 264

Roohani, N., Hurrell, R., Kelishadi, R., Shulin, R. (2013). Zinc and its importance for human health: An integrative review. 18 (2), s. 144 - 157

Salgueiro, M. J. (2000). Zinc as an essential micronutrient: A review. *Nutrition Research*, 20 (5), s. 737 – 755

Sengupta, A. K. (2002). *Environmental Separation of Heavy Metals: Engineering Processes; Principles of Heavy Metals Separation*. Boca Raton, FL: Lewis Publishers, ISBN: 1566768845

Soudek, P., Petrová, Š., Benešová, D., Kotyza, J., Vaněk, T. (2008). Fytoremediace a možnosti zvýšení jejich účinnosti. *Chemické listy*, 102, s. 346 – 352

Stedeford, T., Donohue, J., Ingerman, L., Osier, M., Fransen, M., MacDonald, A. R. (2005). *Toxicological review of zinc and compounds*. U. S. Environmental Protection Agency

Sures, B., Taraschewski, H. and Rokicki, J. (1997). Lead and cadmium content of two cestodes *Monobothrium wagneri* and *Bothriocephalus scorpii*, and their fish hosts. Parasitol. Res. 83, s. 618 – 623

Sures, B., Siddall, R., Taraschewski, H. (1999). Parasites as accumulation indicators of heavy metal pollution. Parasitol. Today. 15, s. 16 – 21

Sures, B. (2001) The use of fish parasites as bioindicators of heavy metals in aquatic ecosystems a review. Aquatic Ecology 35, s. 245 - 255

Sures, B., Grube, K., Taraschewski, H. (2002). Experimental Studies on the Lead Accumulation in the Cestode *Hymenolepis diminuta* and its Final Host, *Rattus norvegicus*. Ecotoxicology, 11, s. 365 – 368

Sures, B. (2003). Accumulation of heavy metals by intestinal helminths in fish: an overview and perspective. Parasitology, 126, s. 53 - 60

Sures, B. (2004): Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. Trends in Parasitology, 20, s. 170 - 177

Swartjes, F. A., Dirven-Van Breemen, E. M., Otte, P. F., Van Beelen, P., Rikken, M. G. J., Tuinstra, J., Spikker, J., Lijzen, J.P.A. (2007). Human health risks due to consumption of vegetables from contaminated sites, RIVM Report, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, s. 130

Subhashini, V., Swamy, A.,V.,V.,S. Phytoremediation of Zinc Contaminated Soils by *Physalis minima* Linn. (2013). International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, 2 (9)

Tekin-Özan S. a Barlas M. (2008): Concentrations of selected heavy metals in *Ligula intestinalis* L., 1758 plerocercoids (Cestoda) compared to its host's (*Tinca tinca* L.,1758) organs from Beyşehir Lake (Turkey). Helminthologia, 45 (2), s. 76 – 80

Thielen, F., Zimmermann, S., Baska, F., Taraschewski, H., Sures, B. (2004) The intestinal parasite *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) from barbel as a bioindicator for metal pollution in the Danube river near Budapest, Hungary. *Environ Pollut.* 129 (3), s. 421-429

Tubeck, S. (2006). Urinary zinc excretion is normalized in primary arterial hypertension after perindopril treatment. *Biological Trace Element Research*, 114, s. 127 – 133

Vallee, B. L., Auld, D. S. (1990). Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other proteins. *Biochemistry*, 29, s. 5647 - 5659

Volf, P., Horák, P. a kol. (2007). *Paraziti a jejich biologie*. 1. vydání, Triton Praha. ISBN: 978-80-7387-008-9

Yang, X. E., Li, T.Q., Long, X.X., Xiong, Y.H., He, Z.L., Stoffella, P.J. (2006). Dynamics of zinc uptake and accumulation in the hyperaccumulating and nonhyperaccumulating ecotype of *Sedum alfredii* Hance. *Plant and Soil*, 284, s. 109 - 119

Yang, X. E., Long, X. X., Ye, H. B., He, Z. L., Calvert, D. V., Stoffella, P. J. (2004) Cadmium tolerance and hyperaccumulation in new Zn-hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance). *Plant and Soil*, 259, s. 181 – 189

Yin, XB., Xia, LJ., Sun, LG., Luo, HH., Wang, YH. (2008): Animal excrement: A potential biomonitor of heavy metal contamination in the marine environment. *Science of the total environment*, 399 (1 - 3), s. 179 – 185

Zeman, L. et al. (2006). *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. Praha: Profi Press. ISBN: 80 – 86726 – 17 – 7

Zhang, L., Song, F. B. (2006). Effects of forms and rates of zinc fertilizers on cadmium concentrations in two cultivars of maize. *Communications in Soil Science and Plant analysis*, 37, s. 1905 – 1916

Zhenli, L. H., Xiaoe E. Y., Peter, J. S. (2005). Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements and Biology*, 19, s. 125 – 140

Zhao, F. J., Jiang, R. F., Dunham, S. J., McGrath, S. P. (2006): Cadmium uptake, translocation and tolerance in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *New Phytologist*, 172, s. 646 – 654