

# 8. SLEDOVÁNÍ VÝSKYTU PROGESTINŮ VE VODÁCH V ČR A HODNOCENÍ JEJICH MOŽNÉHO VLIVU NA VODNÍ ORGANISMY

Pavel Šauer, Hana Kocour Kroupová, Jana Máchová

## ÚVOD

Progestiny (známé také pod názvy progestageny, progestogeny nebo gestageny), představují skupinu ženských pohlavních hormonů, do které patří také progesteron. Hormon progesteron je hlavním progestinem u savců a hraje klíčovou roli v udržení těhotenství, regulaci menstruačního cyklu a úspěšném dokončení embryogeneze. U ryb je však za nejdůležitější přírodní progestin považován hormon 17,20- $\beta$ -dihydroxypregn-4-en-3-one (DHP) a u některých druhů ryb 17,20 $\beta$ ,21-trihydroxypregn-4-en-3-one (17,20 $\beta$ ,21-P). DHP a 17,20 $\beta$ ,21-P řídí u většiny druhů kostnatých ryb dozrávání oocytů a spermií. Tyto hormony mají u ryb navíc pravděpodobně významnou roli v iniciaci meiózy, jenž je prvním krokem v tvorbě pohlavních buněk <sup>[1]</sup>.

Progestiny jsou však také vyráběny synteticky s cílem napodobovat účinky přírodního hormonu progesteronu. V současné době je vyráběno přibližně 20 různých syntetických progestinů, které nacházejí široké uplatnění v humánní i veterinární medicíně. V humánní medicíně jsou využívány zejména v antikoncepci, hormonální substituční léčbě, léčbě určitých druhů rakoviny, endometriózy, hirsutizmu a dysfunkčního děložního krvácení. Ve veterinární medicíně jsou využívány k vyvolání, synchronizaci, oddálení nebo zadržení ovulace a v USA a Kanadě se některé z nich také používají k urychlení růstu hospodářských zvířat <sup>[2]</sup>.

## VSTUP PROGESTINŮ DO VODNÍHO PROSTŘEDÍ

V roce 2014 dosahovala v České republice celková roční spotřeba všech progestinů 2 t a polovinu z celkové spotřeby představoval progesteron. Obdobně jsou progestiny předepisovány ve velkém množství i ve světě <sup>[3]</sup>.

Část progestinů přijatých ve formě léčiv se však z těla vylučuje prakticky v nezměněné formě a progestiny se tak dostávají do životního prostředí. Zatímco progestiny vylučované člověkem přecházejí především do splaškových odpadních vod, progestiny aplikované hospodářským zvířatům končí, v závislosti na způsobu ustájení, v odpadních vodách, nebo se mohou splachy z pastvin dostávat přímo do vod povrchových. Hormon progesteron je navíc i přirozeně vylučován živočichy včetně člověka, a to ve vyšších koncentracích, než v jakých jsou vylučovány jiné samičí hormony, estrogeny <sup>[4]</sup>. V každém případě však lze říci, že většina vyloučených progestinů (podobně jako i jiných odpadních látek) skončí dříve nebo později v odpadních, nebo, v horším případě, v povrchových vodách. Ve Francii byl zdokumentován případ, kdy byly povrchové vody kontaminovány progestiny, jejichž zdrojem byly vyčištěné odpadní vody, které pocházely z továrny na léčiva <sup>[5]</sup>.

I když jsou odpadní vody odváděny na čistírny odpadních vod (dále jen ČOV), řada látek, která je v těchto vodách obsažena, se na ČOV odstraní jen z části. Progestiny sice patří k látkám, které jsou z odpadních vod odstraňovány poměrně efektivně, avšak jejich aktivita je tak vysoká, že i v relativně nízkých koncentracích mohou negativně ovlivňovat organismy vodního prostředí. Přestože se jedná o závažný problém, zatížení vodního prostředí progestiny a jejich možným účinkům na vodní orga-

nismy bylo doposud věnováno málo pozornosti. Ve srovnání s mnoha jinými kontaminanty (jako jsou např. estrogeny), byly progestiny studovány pouze okrajově <sup>[6]</sup>.

Pokud jde o výskyt progestinů ve vodním prostředí, byla u nás pozornost dosud zaměřena na přítomnost přírodního progestinu progesteronu a dvou syntetických progestinů levonorgestrelu a norethisteronu. Jak vyplývá z dosud prováděných sledování, progestiny se na ČOV poměrně účinně odstraňují <sup>[3]</sup> a koncentrace progestinů se na odtocích z ČOV a v povrchových vodách vyskytují převážně v koncentracích na úrovni ng/l a nižších. Nicméně toxikologické studie ukazují, že i v těchto nízkých koncentracích jsou progestiny schopné negativně ovlivnit vývoj a chování vodních organismů i jejich rozmnožování (například snížením plodnosti nebo vývojem sekundárních pohlavních charakteristik typických pro jedince opačného pohlaví) <sup>[2,6]</sup>.

## V ČEM SPOČÍVÁ NEBEZPEČÍ SYNTETICKÝCH PROGESTINŮ?

Přírodní progestiny (progesteron u lidí a DHP u ryb) zprostředkovávají svou primární biologickou roli tak, že se vážou na progesteronový receptor a mají tedy tzv. progestagenní aktivitu. Aktivovaný receptor pak svou činností spouští různé specifické mechanismy. Na receptor se však mohou navázat nejen přírodní hormony, ale také syntetické progestiny a následně ho aktivovat. Syntetické progestiny mají většinou silnější nebo srovnatelnou progestagenní aktivitu jako přírodní progestin progesteron. Obdobně jako syntetické progestiny se mohou chovat, a mnohdy se tak i chovají, některé další cizorodé látky, které kontaminují životní prostředí.

Progestiny se bohužel vážou i na jiné receptory, a tudíž vykazují také různé nežádoucí aktivity, např. androgenní (aktivace androgenního receptoru) či anti-androgenní (zablokování androgenního receptoru). Tato necílová aktivita progestinů může v konečném důsledku vést k různým vedlejším účinkům těchto látek, což bylo pozorováno i u uživatelů hormonální antikoncepce <sup>[6]</sup>. Je možné a velmi pravděpodobné, že k podobnému narušení endokrinního systému dochází také u vodních organismů v přírodě. Výskyt androgenní aktivity ve vodním prostředí může indikovat potenciál environmentálních polutantů, způsobovat maskulinizaci exponovaných organismů, zatímco anti-androgenní látky mohou způsobovat feminizaci živočichů <sup>[10]</sup>.

Velký problém je, že dosud není jasné, jaké konkrétní účinky se mohou projevit u organismů žijících v povrchové vodě, která díky kontaminaci progestiny vykazuje progestagenní aktivitu. Důvodem je absence spolehlivého ukazatele progestagenních účinků na vodní organismy, kterým by bylo možno hodnotit míru uvedeného rizika <sup>[9]</sup>.

Účinky progestinů na vodní organismy byly doposud téměř výlučně posuzovány v laboratorních podmínkách. Proto je obtížné vyhodnotit reálný dopad progestinů na vodní organismy přímo v životním prostředí. Výzkum v této oblasti se zatím pohybuje pouze na úrovni matematických predikcí rizika progestinů pro vodní organismy, které vycházejí ze sledování environmentálního výskytu progestinů a z laboratorních toxikologických studií.

V posledních dvou desetiletích byl některými autory zaznamenáván výskyt hormonálních aktivit (včetně progestagenních, androgenních a anti-androgenních) ve vodním prostředí, ale látky zodpovědné za tyto aktivity nebyly mnohdy vůbec odhaleny nebo byla identifikována pouze část látek, které mohly přispívat k těmto aktivitám. Předpokládáme, že za tyto aktivity by mohly být do značné míry odpovědné progestiny vyskytující se ve vodním prostředí, protože vykazují progestagenní, androgenní a anti-androgenní účinky.

## HODNOCENÍ VÝSKYTU A ÚČINKŮ PROGESTINŮ VE VODNÍM PROSTŘEDÍ V ČR

Studii zaměřenou na sledování výskytu a hodnocení účinků progestinů ve vodním prostředí je možno rozdělit do několika fází.

*Prvním úkolem*, který bylo nutno zvládnout, byl výběr progestinů, které bude účelné sledovat. Při výběru jsme vycházeli z celkové roční spotřeby 14 progestinů, které jsou obsaženy v lécích předepisovaných v České republice. Tuto skupinu progestinů jsme doplnili medroxyprogesteronem, který sice není v České republice předepisován, ale byl zde již detekován v odpadních vodách. V našem výzkumu jsme se zaměřili na sledování tzv. environmentálních koncentrací a hormonálních aktivit výše uvedených progestinů.

*Druhým úkolem*, který bylo nutno řešit, bylo vypracování metody, která by splňovala základní požadavky pro vhodnost jejího použití při monitoringu zátěže vodního prostředí výše uvedenými progestiny. Analytická metoda, která splňovala tyto požadavky, byla vypracována kolektivem pracovníků FROV JU pod vedením doc. Mgr. Romana Grabice, Ph.D. a byla používána při analýzách jak odpadních, tak povrchových vod. Odebrané vzorky vody byly nejdříve extrahovány automatickým extrakčním zařízením pro extrakci na pevné fázi (obr. 1). Přítomnost progestinů byla následně měřena pomocí kapalinové chromatografie s kombinovanou ionizací (chemickou ionizací a fotoionizací za atmosférického tlaku) s hmotnostně spektrometrickou detekcí (hybridní kvadrupólový analyzátor/orbitální past) provozovanou v režimu produktového skenu ve vysokém rozlišení (LC-APCI/APPI-HRPS). Limity kvantifikace této metody se pohybují v rozmezí od 0,02 ng/l (medroxyprogesteron) do 0,87 ng/l (drospirenon) při faktoru zakoncentrování 10 000. Výhodou této metody je, že není nutná derivatizace vzorků. V po-



Obr. 1. Automatické extrakční zařízení pro extrakci na pevné fázi SPE-DEX 4790 (Horizon Technology)

slední době jsme dosáhli nižších limitů kvantifikace pro mnohé ze sledovaných látek při zvýšení (optimálně při ztrojnásobení) faktoru zakoncentrování vzorků [nepublikovaná data]. Tato metodika byla publikována ve vědeckém časopisu Science of the Total Environment<sup>[3]</sup>.

Pomocí této analytické metody byl monitorován výskyt progestinů v odpadních vodách přiváděných na ČOV, ve vyčištěných odpadních vodách a ve vybraných recipientech ČR. Bez nadsázky lze říci, že se jednalo o unikátní výzkum, neboť šlo o vůbec první studii na světě, která se zabývala monitoringem výskytu všech progestinů, které jsou v dané zemi předepisovány (v našem případě v České republice). Pokud je nám známo, v České republice v té době existovaly pouze dvě studie, mimo náš autorský kolektiv (z FROV JU), které se zabývaly detekcí progestinů v odpadních a povrchových vodách ČR. A v těchto studiích bylo sledováno pouze 7 progestinů<sup>[7,8]</sup>. V průběhu našeho výzkumu jsme v odpadních vodách přiváděných na čistírnu detekovali celkem 12 progestinů, které se zde vyskytovaly v rozmezí koncentrací 0,19–110 ng/l<sup>[3,9,10]</sup>. Všechny progestiny, jejichž roční spotřeba v České republice přesahuje 100 kg (progesteron, drospirenon, megestrol acetát, cyproteron acetát, medroxyprogesteron acetát a dienogest) byly minimálně v jednom případě nalezeny na ČOV, a to na přítoku i odtoku. Nejčastěji detekovaným progestinem v odpadních i v povrchových vodách byl přírodní progestin progesteron, který v naší zemi vykazuje největší spotřebu. Jak se dále ukázalo, v odpadních i v povrchových vodách byly častěji nacházeny progestiny s vyšší spotřebou. Ačkoli zní tento závěr docela logicky, nemusí mít takováto premisa *a priori* obecnou platnost. Vysoká spotřeba progestinu nemusí totiž automaticky znamenat, že jej lze najít v odpadní vodě. Progestiny jsou v těle metabolizovány a nedávné studie ukazují, že mohou být v odpadní a v povrchové vodě rychle biologicky přeměněny v jiné, jim podobné, látky<sup>[11,12]</sup>.

Jak jsme dále zjistili, účinnost odstranění progestinů na ČOV se pohybuje v rozmezí od 55 do 100 % (medián míry odstranění je 95 %). Na odtocích z ČOV se vyskytovalo celkem 12 progestinů a jejich koncentrace se pohybovaly v rozmezí 0,06–3,2 ng/l<sup>[3,9,10]</sup> + nepublikovaná data. Nejčastěji nalézány progestiny na odtocích z ČOV byly progesteron, megestrol acetát a dienogest. Těmto látkám by mělo být věnováno více pozornosti, neboť o jejich účincích máme přes jejich častý výskyt dosud velmi málo informací. Mezi detekovanými progestiny byly rovněž altrenogest a nomegestrol acetát, které byly detekovány na odtoku z ČOV vůbec poprvé na světě<sup>[3]</sup>.

V povrchové vodě nad zaústěními odtoků z ČOV jsme našli pouze progesteron v rozmezí koncentrací 0,20–1,3 ng/l. V povrchové vodě pod zaústěním odtoků z ČOV se vyskytovalo celkem 5 progestinů, a to cyproteron acetát, dienogest, medroxyprogesteron, norethisteron a progesteron, jejichž koncentrace se pohybovaly v rozmezí od 0,08 do 1,3 ng/l.

Vcelku logicky byl prokázán nižší počet pozitivních detekcí progestinů v povrchových vodách ve srovnání s vodami odpadními, což nepochybně souvisí s nařazením přítomných látek, jejichž koncentrace potom klesne na, nebo dokonce pod mez citlivosti použité metody. Koncentrace progestinů v odpadních a povrchových vodách ČR obecně nedosahují tak vysokých hodnot, jaké byly zjištěny v jiných zemích, jako jsou např. USA<sup>[13]</sup>, Malajsie<sup>[14]</sup> či Francie<sup>[15]</sup>. Nicméně jednotlivé progestiny, které jsme v našich vodách nacházeli, již byly detekovány i v jiných evropských<sup>[16,17]</sup> a asijských<sup>[18,19]</sup> zemích. Přehled o výskytu progestinů ze všech našich doposud publikovaných i nepublikovaných dat je shrnut v tab. 1.

Tab. 1. Výskyt progesterinů v odpadní (přítok a odtok na ČOV) a v povrchové vodě (recipient 50 m nad a pod zaústěním odtoku z ČOV) [3, 9, 10 a nepublikovaná data]

látka	rozmezí koncentrací v ng/l (počet detekcí látek nad limity kvantifikace)			
	přítok	odtok	recipient nad zaústěním	recipient pod zaústěním
altrenogest	0,35 (1)	0,15 (1)	-	-
chlormadinon acetát	1,5 (1)	-	-	-
cyproteron acetát	0,23 – 12 (6)	0,50 – 2,8 (3)	-	0,22 (1)
dienogest	1,3 – 15 (14)	0,14 – 1,0 (6)	-	0,17 (1)
drospirenon	0,64 – 6,7 (6)	0,11 – 0,29 (2)	-	-
dydrogesteron	0,28 (1)	0,51 (1)	-	-
etonogestrel	-	-	-	-
gestoden	5,0 – 75 (9)	0,40 – 0,71 (2)	-	-
levonorgestrel	-	-	-	-
megestrol acetát	0,52 – 13 (10)	0,06 – 1,0 (8)	-	-
medroxyprogesteron	0,19 (1)	0,23 – 0,95 (2)	-	0,12 (1)
medroxyprogesteron acetát	0,88 – 8,1 (5)	0,13 – 0,58 (4)	-	-
nomegestrol acetát	3,6 – 10 (3)	0,26 (1)	-	-
norethisteron	-	0,22 – 0,85 (2)	-	0,08 (1)
progesteron	4,3 – 110 (14)	0,11 – 3,2 (13)	0,20 – 1,3 (8)	0,17 – 1,3 (10)

Třetím cílem našeho výzkumu, bylo posoudit, zda progesteriny přítomné v odpadní vodě mají potenciál přispívat k progestagenním, androgenním a anti-androgenním aktivitám této vody (na přítocích a odtocích komunálních ČOV) a v recipientech nad a pod zaústěním odtoku z ČOV. V odebraných vzorcích vody jsme pomocí *in vitro* biotestů založených na expresi reportérového genu sledovali hormonální (progestagenní, androgenní a anti-androgenní) aktivity<sup>[9,10]</sup>. Pomocí *in vitro* biotestů byly také změřeny hormonální aktivity sledovaných progesterinů (tj. čistých látek). Podíl progesterinů na detekovaných hormonálních aktivitách byl následně odhadnut pomocí tzv. biologických a chemických ekvivalentů toxicity. Výsledkem bylo zjištění, že progesteriny přispívají z více než 50 % k progestagenním aktivitám na odtocích z ČOV a také mohou představovat až 83 % látek zodpovědných za progestagenní aktivity v recipientu. Přestože progesteriny (čisté látky) vykazovaly relativně silné androgenní a anti-androgenní aktivity, jejich příspěvek k těmto aktivitám ve vzorcích vody bylo na odtocích z ČOV a v povrchových vodách nepatrné ( $\leq 2,1\%$ ). Všechny námi měřené hormonální aktivity v recipientu pod zaústěním ČOV byly relativně nízké, můžeme tedy předpokládat, že vodní organizmy žijící v těchto recipientech nejsou významně ohroženy.

## ZÁVĚR

Díky analytické metodě, která byla vyvinuta kolektivem vědců FROV JU bylo možno provést sledování 14 progesterinů, které jsou obsaženy v lécích předepisovaných v ČR, a jednoho progesterinu, který není v ČR předepisován, ale byl již detekován v odpadní vodě. Výsledky analýz prokázaly v odpadní vodě výskyt 12 z 15 sledovaných progesterinů. Nejčastěji detekovaným progesterinem v odpadních i povrchových vodách byl progesteron, u kterého je v ČR vykazována i největší spotřeba. Ze syntetických progesterinů se v odpadních vodách nejčastěji vyskytují dienogest

a megestrol acetát, kterým byla zatím věnována z ektoxiologického hlediska pouze minimální pozornost.

Jako první na světě jsme v odpadní vodě detekovali výskyt progesterinů altrenogestu a nomegestrolu acetátu. Vzhledem k tomu, že progesteriny mohou být metabolizovány anebo přeměněny na podobné látky (s podobnými účinky), budoucí výzkum by měl být směřován také ke sledování přítomnosti metabolitů progesterinů ve vodním prostředí.

Studiem hormonálních aktivit ve vodním prostředí bylo zjištěno, že progesteriny jsou látky, které ve vodním prostředí způsobují progestagenní aktivity a že progesteriny megestrol acetát a medroxyprogesteron acetát nejvíce přispívají k progestagenním aktivitám ve vyčištěných odpadních vodách odtékajících z ČOV, v nichž nebyla progestagenní aktivita maskována antagonistickou aktivitou.

Obecně lze výsledky uvedeného výzkumu využít k výběru prioritních látek ze široké skupiny progesterinů pro sledování environmentálních koncentrací a testování jejich účinků na vodní organizmy.

## LITERATURA:

- 1.] Scott, A. P., Sumpter, J. P., Stacey, N., 2010. The role of the maturation-inducing steroid, 17, 20 $\beta$ -dihydroxypregn-4-en-3-one, in male fishes: a review. *Journal of Fish Biology* 76, 183–224.
- 2.] Orlando, E.F., Ellestad, L.E., 2014. Sources, concentrations, and exposure effects of environmental gestagens on fish and other aquatic wildlife, with an emphasis on reproduction. *Gen. Comp. Endocrinol.* 203, 241–249.
- 3.] Golovko, O., Šauer, P., Fedorova, G., Kocour Kroupová, H., Grabic, R., 2018. Determination of progestogens in surface and waste water using SPE extraction and LC-APCI/APPI-HRPS. *Sci. Total Environ.* 621, 1066–1073.
- 4.] Shore, L. S., Shemesh, M., 2003. Naturally produced steroid hormones and their release into the environment. *Pure Appl. Chem.* 75, 1859–1871.

- 5.] Creusot, N., Ait-Aïssa, S., Tapie, N., Pardon, P., Brion, F., Sanchez, W., Thybaud, E., Porcher, J.M., Budzinski, H., 2014. Identification of synthetic steroids in river water downstream from pharmaceutical manufacture discharges based on a bioanalytical approach and passive sampling. *Environ. Sci. Technol.* 48, 3649-3657.
- 6.] Kumar, V., Johnson, A.C., Trubiroha, A., Tumová, J., Ihara, M., Grabic, R., Kloas, W., Tanaka, H., Kocour Kroupová, H., 2015. The challenge presented by progestins in ecotoxicological research: A critical review. *Environ. Sci. Technol.* 49, 2625-2638.
- 7.] Matějček, D., Kubáň, V., 2007. High performance liquid chromatography/ion-trap mass spectrometry for separation and simultaneous determination of ethynylestradiol, gestodene, levonorgestrel, cyproterone acetate and desogestrel. *Anal. Chim. Acta* 588, 304-315.
- 8.] Macikova, P., Groh, K.J., Ammann, A.A., Schirmer, K., Suter, M.J.F., 2014. Endocrine disrupting compounds affecting corticosteroid signaling pathways in Czech and Swiss waters: potential impact on fish. *Environ. Sci. Technol.* 48, 12902-12911.
- 9.] Šauer, P., Stará, A., Golovko, O., Valentová, O., Bořík, A., Grabic, R., Kocour Kroupová, H., 2018a. Two synthetic progestins and natural progesterone are responsible for most of the progestagenic activities in municipal wastewater treatment plant effluents in the Czech and Slovak republics. *Water Res.* 137, 64-71.
- 10.] Šauer, P., Bořík, A., Golovko, O., Grabic, R., Vojs Staňová, A., Valentová, O., Stará, A., Šandová, M., Kocour Kroupová, H., 2018b. Do progestins contribute to (anti-)androgenic activities in aquatic environments? *Environ. Pollut.* 242, 417-425.
- 11.] Ojogoro, J.O., Chaudhary, A.J., Campo, P., Sumpter, J.P., Scrimshaw, M.D., 2017. Progesterone potentially degrades to potent androgens in surface waters. *Sci. Total Environ.* 579, 1876-1884.
- 12.] Peng, F.Q., Ying, G.G., Yang, B., Liu, S., Lai, H.J., Liu, Y.S., Chen, Z.F., Zhou, G.J., 2014. Biotransformation of progesterone and norgestrel by two freshwater microalgae (*Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*): transformation kinetics and products identification. *Chemosphere* 95, 581-588.
- 13.] Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Buxton, H.T., 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999– 2000: A national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1202-1211.
- 14.] Al-Odaini, N.A., Zakaria, M.P., Yaziz, M.I., Surif, S., 2010. Multi-residue analytical method for human pharmaceuticals and synthetic hormones in river water and sewage effluents by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1217, 6791-6806.
- 15.] Vulliet, E., Wiest, L., Baudot, R., Grenier-Loustalot, M.F., 2008. Multi-residue analysis of steroids at sub-ng/L levels in surface and ground-waters using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1210, 84-91.
- 16.] Neale, P.A., Ait-Aïssa, S., Brack, W., Creusot, N., Denison, M.S., Deutschmann, B., Hilscherova, K., Hollert, H., Krauss, M., Novák, J., Schulze, T., Seiler, T.B., Serra, H., Shao, Y., Escher, B.I., 2015. Linking *in vitro* effects and detected organic micropollutants in surface water using mixture-toxicity modeling. *Environ. Sci. Technol.* 49, 14614-14624.
- 17.] Weizel, A., Schlüsener, M.P., Dierkes, G., Ternes, T.A., 2018. Occurrence of glucocorticoids, mineralocorticoids, and progestogens in various treated wastewater, rivers, and streams. *Environ. Sci. Technol.* 52, 5296-5307.
- 18.] Chang, H., Wu, S., Hu, J., Asami, M., Kunikane, S., 2008. Trace analysis of androgens and progestogens in environmental waters by ultra-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1195, 44-51.
- 19.] Shen, X., Chang, H., Sun, D., Wang, L., Wu, F., 2018. Trace analysis of 61 natural and synthetic progestins in river water and sewage effluents by ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Water Res.* 133, 142-152.

Ing. Pavel Šauer, Ph.D.  
doc. Ing. Hana Kocour Kroupová, Ph.D.  
Ing. Jana Máčhová, Ph.D.

**Laboratoř vodní toxikologie a ichtyopatologie**  
**Fakulta rybářství a ochrany vod**  
**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
**Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**  
**Zátiší 728/II, Vodňany**  
**psauer@frov.jcu.cz**

