

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie se zaměřením na vzdělávání - Matematika se zaměřením na vzdělávání



Kateřina Adamcová

Působení pesticidů na obojživelníky
Effects of pesticides on amphibians

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce: RNDr. Martin Šandera, Ph.D.

Praha, 2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 19. 8. 2016

Podpis

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat RNDr. Martinu Šanderovi, Ph.D., vedoucímu mé bakalářské práce, za rady a připomínky a všem svým blízkým za velkou podporu a zázemí, které mi k psaní této práce vytvořili.

Abstrakt

Tato bakalářská práce shrnuje poznatky o dopadech pesticidů na obojživelníky. Obojživelníci jsou na znečištění životního prostředí citliví, protože mají složitý životní cyklus, který probíhá ve vodě i na souši. Jsou tedy vystaveni dvojí kontaminaci. Navíc jejich pokožka je propustná, takže s vodou přijímají do těla i polutanty. Proto jsou dopady pesticidů na tuto skupinu živočichů horší než na jiné. Kontaminace životního prostředí pesticidy je považována za jednu z hlavních příčin úbytku obojživelníků.

Klíčová slova: obojživelníci, pesticidy, životní prostředí, znečištění, úbytek

Abstract

This bachelor thesis summarizes current knowledge about the effects of pesticides on amphibians. Amphibians are sensitive to environmental pollution because of their complex life cycle that takes place in water and on land. They are therefore exposed to dual contamination. Moreover, their skin is permeable so the pollutants are taken into the body with water. Therefore, the impacts of pesticides on this group of animals worse than others. Environmental contamination by pesticides is considered one of the leading causes of amphibian decline

Keywords: amphibians, pesticides, environment, pollution, decline

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Obojživelníci v číslech a problematika jejich celosvětového úbytku.....	1
3. Přínos obojživelníků aneb proč se jimi zabývat.....	2
4. Vlastnosti znevýhodňující obojživelníky při znečištění životního prostředí.....	2
4.1. Závislost na více typech prostředí a složitý životní cyklus.....	3
4.2. Vlastnosti kůže.....	3
5. Dopady používání pesticidů na skupinu obojživelníků.....	4
5.1. Zvýšená mortalita.....	4
5.2. Tělní deformace.....	6
5.3. Rychlost vývoje, tělesná hmotnost a velikost.....	9
5.4. Změny v chování a pohybové aktivitě.....	10
5.5. Narušení endokrinního systému.....	12
5.6. Imunosupresivní účinky.....	13
5.7. Další dopady.....	15
5.8. Dodatek.....	16
6. Tolerance na pesticidy.....	16
7. Závěr.....	17
8. Literatura.....	17
9. Online zdroje.....	22

Seznam obrázků

Obr. 1 Deformace těla pulců.....	8
----------------------------------	---

1. Úvod

Tato bakalářská práce je literární rešerše shrnující problematiku, jak znečištění životního prostředí ovlivňuje obojživelníky. Cílem je, aby čtenář získal základní přehled, jak na tuto skupinu živočichů působí pesticidy, chemické látky používané v zemědělství.

Jak ukazují čísla, nemůže být pochyb, že jsou tyto živočichové v ohrožení a v přírodě jich ubývá. Kromě kontaminace prostředí pesticidy, kterými se zde budeme zabývat, je třeba zmínit, že na populační pokles má vliv mnoho faktorů, nejen přítomnost polutantů, a že za většinou z nich stojí člověk. Příkladem může být úbytek jejich přirozených stanovišť, špatný management rybníků (vypouštění rybníků na jaře v době rozmnožování) či neprůchodnost a rozdělenost krajiny dopravními komunikacemi a zástavbou.

Může se zdát, že zabývat se obojživelníky nemá smysl. Na první pohled nemají výrazný hospodářský užitek. Zvláště tam, kde se jejich maso připravuje jen jako gurmánská specialita a nejsou běžně zařazeni do jídelníčku. A tak se o úbytek obojživelníků mnoho lidí nezajímá. Jak si ale ukážeme, jejich přínos je nejen v ekosystému, v potravním řetězci, ale i v oblasti farmaceutického výzkumu.

2. Obojživelníci v číslech a problematika jejich celosvětového úbytku

Celkový počet objevených druhů obojživelníků pravidelně narůstá (Amphibia web ©2016). Řazeni jsou do tří skupin (Whittaker a kol. 2013). Nejvíce druhů můžeme nalézt ve skupině žáby (*Anura*), méně početnější jsou ocasatí (*Caudata*) a červorí (*Gymnophiona*). Ke dni 19. 8. 2016 bylo objeveno a popsáno celkem ve všech třech skupinách 7 559 druhů obojživelníků, z toho v jednotlivých skupinách byly počty takto: 6668 žab, 686 ocasatých a 205 červorů (Amphibia web ©2016).

Velmi často se píše o velkých poklesech v populacích těchto živočichů v celosvětovém měřítku (Whittaker a kol. 2013), do jaké míry jsou obojživelníci ohrožení, můžeme vidět v následujících číslech. Podle Stuarda a kol. (2004) zažilo v posledních desetiletích populační ztráty až 43 % známých druhů obojživelníků a téměř třetina jich je ohrožena. Poklesy v populacích takového rozsahu nebyly zaznamenány u žádné jiné skupiny obratlovců (Whittaker a kol. 2013).

Rozšířené poklesy počtu obojživelníků dosahující výstražných hodnot začaly být sledovány od konce sedmdesátých let minulého století (Vitt a kol. 1990). Dnes je na

Červeném seznamu IUCN evidováno konkrétně v různém stupni ohrožení 6525 druhů obojživelníků (IUCN ©2016).

Jako největší hrozby způsobující takovéto poklesy v počtech obojživelníků jsou brány ztráta přirozeného životního prostředí a jeho znehodnocování kontaminanty vlivem činnosti člověka (Mann a kol. 2003). Tyto dvě příčiny zařadili mezi svých pět faktorů s největšími globálními dopady na obojživelníky i Hayes a kol. (2010). Další tři byly příchod invazních druhů, atmosférické změny a patogeny.

3. Přínos obojživelníků aneb proč se jimi zabývat

Jak bylo popsáno v předchozí kapitole, u populací obojživelníků všech druhů napříč celým světem dochází k poklesu. Nabízí se otázka, proč se tím zabývat, čím jsou obojživelníci užiteční.

Jako každý organismus mají i tyto obratlovci své místo v potravním řetězci (Blaustein a kol. 1994). Pokud z něj vymizí, naruší se rovnováha v daném ekosystému. Obojživelníci jsou ve středu potravních řetězců, loví a sami jsou loveni (Phillips 1990). Zastávají tedy funkci jak predátora, tak potravy pro jiné. I pro člověka jsou v některých zemích potravou. Člověk by však měl mít zájem na jejich přežití spíše proto, aby se nepřemnožil hmyz. Tím se obojživelníci živí a napomáhají tak chránit zemědělcům úrodu.

Užitečný přínos mohou mít obojživelníci ve farmakologii. Podle Wanga a kol. (2013) je jejich kůže bohatá na peptidy, které mohou mít například antibakteriální účinky. Zkoumání vlastností těchto látek by mohlo být prospěšné při vývoji nových léčiv.

Nemělo by se tedy nechávat bez povšimnutí, pokud někde dochází k úbytku těchto zvířat, ať už to bude z jakéhokoli důvodu. Kdo ví, jaká užitečná chemická sloučenina, která by mohla být využita v lékařství, s nimi zmizí.

4. Vlastnosti znevýhodňující obojživelníky při znečištění životního prostředí

Obojživelníci jsou považováni za bioindikátory, neboli ukazatele čistoty životního prostředí (Vitt a kol. 1990). Někdy se dokonce z důvodů jejich velké citlivosti nazývají „kanárky v dolech“ (Hayes a kol. 2010), i když ne všichni pro takové přirovnání jsou a nepovažují obojživelníky za více náchylnější k environmentálnímu znečištění než jiné skupiny organismů (Kerby a kol. 2010).

Pokud je lokalita, kde žijí, nějakým způsobem znečištěna, má to na ně často negativní následky (Wake a Vredenburg 2008). Za to, že jsou tak citliví, může jejich složitý životní cyklus, během kterého většina druhů vystřídá vodní i terestrické prostředí a jejich slabá kožní bariéra (Vitt a kol. 1990). V těchto oblastech vykazují několik znaků, jež pro ně mohou být při setkání se znečištěným prostředím nevýhodou. Jaké to jsou, a jaká znevýhodnění s sebou přináší, si ukážeme v této kapitole.

4.1. Závislost na více typech prostředí a složitý životní cyklus

Obojživelníci jsou skupinou obratlovců, pro které je charakteristický složitý životní cyklus, během něhož střídají vodní i terestrické prostředí (Wake a Vredenburg 2008). Důsledkem toho se mohou vystavit dvojímu nebezpečí v případě, že by byla znečištěna voda i souš (Todd a kol. 2011).

Vajíčka nemají žádný pevný obal – skořápku (Blaustein a Bancroft 2007). Jsou obalena pouze rosolem, takže je nic nechrání před okolními vlivy (Vitt a kol. 1990). Náchylné jsou i larvy, ty jsou velmi citlivé na kontaminace vodního prostředí, ve kterém po dobu svého vývoje trvale žijí (Stechert a kol. 2014). Případným polutantům jsou tak vystaveny neustále. Ještě citlivějším stádiem jsou pak jedinci procházející metamorfózou (Cooke 1981). Během ní dochází k velkým změnám ve stavbě těla, při kterých snadno dojde k poruše nějaké funkce nebo vzniku deformit, pokud jsou přítomny vodu kontaminující látky. A ani dospělci žijící na souši nejsou ušetřeni a mohou se setkat s chemikáliemi například na polích, když v době rozmnožování na jaře migrují často právě přes zemědělské oblasti (Fryday a Thompson 2012).

4.2. Vlastnosti kůže

Kůže obojživelníků je holá, nechráněná (Blaustein a Bancroft 2007). Nemá na sobě žádné šupiny, peří ani srst na rozdíl od kůže obratlovců. Obsahuje mnoho slizových žláz, které pomáhají vylučovaným sekretem pokožku zvlhčovat, aby na souši nevyschla (Wake a Vredenburg 2008). Je propustná, což umožňuje dýchání a osmotický příjem vody a látek v ní rozpuštěných (Vitt a kol. 1990), ale chybí jí účinné osmoregulační mechanismy (Gomez-Mestre a Tejedro 2003). Pokud se tedy ve vodě vlivem znečištění vyskytnou rozpuštěné toxické látky, mohou je takto spolu s vodou vstřebat do těla (Van Meter a kol. 2015). Tam se pak mohou hromadit v tkáních a negativně živočicha ovlivňovat.

5. Dopady používání pesticidů na skupinu obojživelníků

Podle definice (Codex Alimentarius Commission 2001) jsou pesticidy chemické látky používané k zahnání či likvidaci určitých skupin organismů, které jsou pro člověka v určitém místě nežádoucí. Ne vždy však ovlivňují jen původně zamýšlené organismy, dopady mohou mít i na necílové skupiny (Pereira 2009). V této práci si je ukážeme na příkladu obojživelníků, protože používání pesticidů je celosvětově bráno jako jedna z hlavních příčin, proč obojživelníci ubývají (Beebee a Griffiths 2005).

Níže jsou uvedeny sledované dopady pesticidů, které se přímo nebo nepřímo podílejí na úbytku obojživelníků.

5.1. Zvýšená mortalita

Často je sledováno, jestli se vlivem pesticidů vyskytne u pulců zvýšená mortalita. Potvrzeno to bylo například podle (Attademo a kol. 2013) v rýžových polích, kde u testovaných pulců došlo ke značnému zvýšení mortality, zatímco u kontrolních pulců v čistých vodách nebyl úhyn zaznamenán žádný. V jiné studii byl tento dopad, který má za následek přímé snižování velikostí populací obojživelníků, pozorován například u pulců ropuchy skvrnitě (*Amietophrynus maculatus*) ve vodě kontaminované insekticidem endosulfan (Stechert a kol. 2014). Značná toxicita endosulfanu byla potvrzena i na několika druhích žab rodu *Fejervarya* (Devi a Gupta 2013). I když byl použit v koncentracích stanovených jako subletální, došlo k mnoha úhynům. Na jeho vysokou toxicitu poukazuje i porovnání s dalšími sedmnácti pesticidy, ve kterém skončil těsně na druhém místě za insekticidem diazinon (Fedorenkova a kol. 2012)

Letální účinky endosulfanu byly zkoumány také pro různě stará vodní stádia skokana lesního (*Rana sylvatica*), ropuchy americké (*Bufo americanus*) a skokana křiklavého (*Rana clamitans*), přičemž bylo zajímavé, že k větší mortalitě došlo u dvou týdnů starých pulců (Berrill a kol. 1998). U pulců čerstvě vylíhlých byla zaznamenána úmrtnost nižší. Naopak tomu bylo u pulců rosničky měnivé (*Hyla versicolor*) při ošetření karbarylem (Hanlon a Parris 2014) a u skokana lesního a ropuchy americké po vystavení glyfosfátu (Jones a kol. 2010). Mladší pulci vykazovali větší úmrtnost než starší (Hanlon a Parris 2014; Jones a kol. 2010).

Mortalita bývá sledována po určitý čas, například do 24 hodin nebo 48 hodin (Cusaac a kol. 2015). Podle Cooka (1981) ale nemusí dojít k úhynu larev hned po aplikaci přípravku, ale i dodatečně ve stádiu těsně po proměně. Například při působení DDT na pulce uhynou až

jako čerstvě metamorfovaní jedinci vlivem využití tukových rezerv během metamorfózy, kdy se insekticid, který se tam předtím ukládal, aktivuje.

Pesticidům byla vystavena i embrya žab (Berrill a kol. 1998). Při ošetření endosulfanem mezi nimi nebyly žádné ztráty, což se přičetlo rosolovitému obalu, který je chrání. Ze všech embryí se vylíhli pulci, kteří nevykazovali žádné známky poškození. Snížená životaschopnost embryí byla ale zaznamenána, pokud se pesticid aplikoval na vajíčka (Ji a kol. 2015). K výzkumu byly použity oocyty drápatky vodní (*Xenopus laevis*) a herbicid atrazin a organofosfátový insekticid malathion. Ani jeden vybraný pesticid sice nezvyšoval mortalitu vajíček, ale zkrátil jejich proces zrání. Uspěchané dozrání oocytů, pak může ovlivnit jejich kvalitu a následně životaschopnost embryí a snížení velikosti nové generace. Žádný vliv na kvalitu vajíček a úspěch líhnutí po ošetření pesticidy nebyl naopak zaznamenán u skokana Perézova (*Pelophylax perezi*) (Mesléard a kol. 2016).

Podle Sparlinga a Fellerse (2009) je vidět, že toxicita přípravku může být závislá na citlivosti daného druhu. Použity byli insekticidy endosulfan a chlorpyrifos a výraznější mortalita se vyskytla u skokana žlutohého (*Rana boylei*) než u rosničky západoamerické (*Pseudacris regilla*). Různé míry mortality v závislosti na druhu se potvrdily při testech i v další studii (Williams a Semlitsch 2010), ve které byly herbicidům atrazin, S-metolachlor a glyfosfát vystaveny tři druhy žab rosnička měnivá (*Hyla versicolor*), rosnička chórová (*Pseudacris triseriata*) a ropucha americká (*Bufo americanus*). Navíc v této studii bylo zjištěno, že výsledky se lišily nejen podle druhu žab, ale i v rámci ošetření stejnou účinnou látkou (glyfosfátem) nacházející se v různých přípravcích. Tento jev se přičítá rozdílnému složení ostatních látek. Škodlivé účinky má tedy na obojživelníky nejen hlavní účinná látka, ale i vedlejší složení. Toto zjištění by mělo být důležité pro budoucí testování ve schvalovacích procesech nových přípravků.

Vysoká mortalita způsobená aplikací pesticidů do životního prostředí se může vyskytnout nejen ve vodním prostředí u larev, ale i po přímém postříkání dospělých jedinců chemikáliemi na souši (Brühl a kol. 2013). Na skokanu hnědém (*Rana temporaria*) bylo zkoumáno sedm druhů pesticidů a dopady byly velmi závažné. Podle druhu přípravku byla po jedné hodině zjištěna úmrtnost až 100 %. Takový vliv měly fungicidní přípravky Headline a Captan Omya. Použita byla doporučená dávka. Výrazně menší mortalita, ale stále alarmující, se zjistila při terénním pokusu po aplikaci fungicidu s účinnou látkou pyraclostrobin (Cusaac a kol. 2015). Z dospělých jedinců ropuchy Woodhouseovy (*Bufo woodhousii*) a rosničky Blanchardovy (*Acris blanchardi*) umístěných v kukuřičném poli během leteckého postříku uhynulo u obou druhů až 15 %. Míra mortality obojživelníků se

však může lišit například podle věrůstu ošetřovaných rostlin na poli. Pokud jsou již větší, zachytí více přípravku a méně ho dopadne na zem. V takovém případě se sníží i úmrtnost necílových organismů.

Důsledek tohoto účinku pesticidů je jasný – nadměrné ztráty v potomstvu i dospělých jedinců znamenají snižování velikosti populací žijících v zemědělské krajině (Wagner a kol. 2014). Je však důležité poznamenat, že pokud jsou studie prováděny laboratorně, často se pesticidy použijí v mnohem větší koncentraci, než v jaké se vyskytují v přírodě (Davidson 2004). Přímé letální účinky tak mohou být vyšší, zatímco v zemědělské krajině se projeví spíše subletální, které mortalitu zvyšují nepřímě. Také záleží na hloubce vody, která je v laboratorních podmínkách jiná, a ve které části vodního sloupce se obojživelníci v přirozeném prostředí zdržují (Jones a kol. 2010). Bylo zjištěno, že ve vodě dochází ke stratifikaci pesticidů podle teploty v dané hloubce a při povrchu byla koncentrace pesticidů nejvyšší. Proto jedinci dávající přednost plavání při hladině mohou být v přirozeném prostředí vystaveni vyšší dávce kontaminantu než v laboratorních podmínkách, kde voda často cirkuluje a vodní sloupec není tak vysoký.

Podobnou myšlenku vlivu nedodržení původních podmínek naznačuje Stechert a kol. (2015). V laboratorním prostředí je mnoho výzkumů prováděno bez přítomnosti dalších stresorů, například predátorů. Naproti tomu v přirozených podmínkách může mortalita stoupnout nejen přímo vlivem letálních koncentrací pesticidů, ale i jako důsledek zvýšené predace jedinců s postižením, které je způsobeno subletální dávkou těchto chemikálií. To bylo sledováno například u pulců rosníčky měnivé (*Hyla versicolor*), ke kterým byli po ošetření subletálním množstvím karbarylů přidáni dospělci čolka zelenavého (*Notophthalmus viridescens*) (Bridges 1999). Z dalších přírodních podmínek, které mohou ovlivnit výsledky, ale do laboratorních studií obvykle zahrnovány nejsou, je UV-B záření (Levis a kol. 2016). V pokusu na larvách axolotla skvrnitého (*Ambystoma maculatum*) se zjistilo, že vystavení UV-B záření zvyšuje šance na přežití ve vodě kontaminované glyfosfátovým herbicidem.

5.2. Tělní deformace

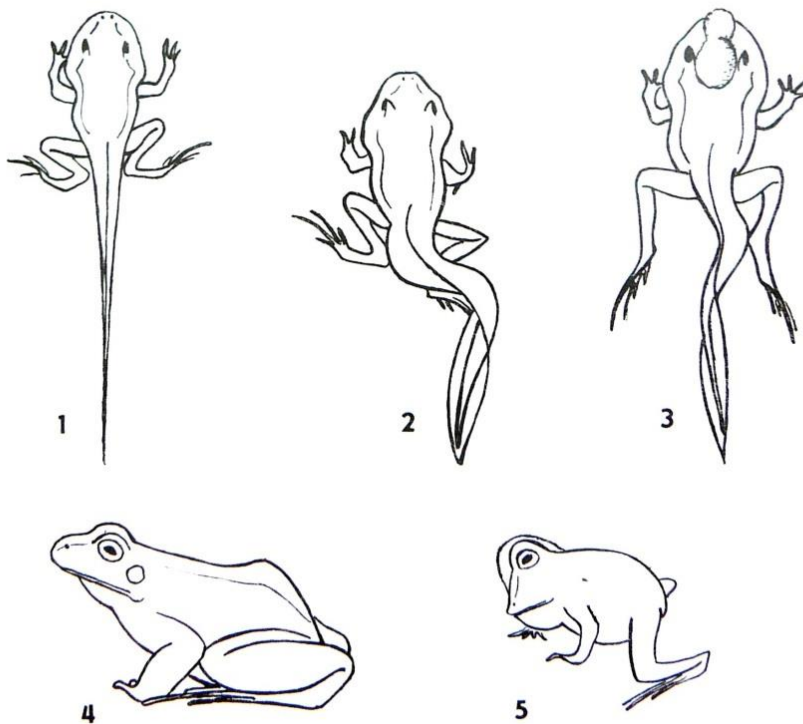
Úhyn obojživelníků ve velkém je snadno definovatelnou příčinou poklesu stavu jejich populací a dostává se jim velké pozornosti (Hayes a kol. 2010). Počty obojživelníků však mohou klesat i vlivem dopadů, které nemají akutní letální charakter. Pokud se například jako důsledek vystavení pesticidům vyskytnou morfologické abnormality, pak většinou vedou ke zhoršení pohybu a to vystaví postiženého jedince zvýšenému riziku predace (Cooke 1981).

Uvádí se, že výskyt morfologických abnormalit, který už není považován za přirozený, je větší než 5 % (Ouellet 1997). Podle Cooka (1981) se vyšší výskyt deformací přičítá právě vlivu chemikálií používaných v zemědělské krajině. To je pravděpodobné i díky skutečnosti, že se pesticidy aplikují na pole ve stejné době, kdy dochází k rozmnožování obojživelníků a vývoji larev (Piha a kol. 2006). Tím se zvětšuje pravděpodobnost, že budou obojživelníci v citlivé fázi vývoje vystaveni působení těchto chemikálií.

Některé studie zvýšený výskyt deformací vlivem působení pesticidů potvrdily (Cooke 1981), některé ne (Piha a kol. 2006; Wagner a kol. 2014). V uvedených výzkumech byli použiti pulci skokana hnědého (*Rana temporaria*). Jak ale upozorňuje Cooke (1981), některé skupiny pulců mohou být k vývoji deformací náchylnější, takže pesticidy nemusí působit přímo, jen mohou být dalším stresorem v prostředí, který pomůže deformaci vyvolat.

Například podle (Wagner a kol. 2014) použití zvýšeného výskytu deformací u pulců jako ukazatele znečištění životního prostředí pesticidy nemusí být vždy dostatečné. Studování byli opět pulci skokana hnědého (*Rana temporaria*) a závislost mezi intenzitou zemědělství ve sledovaných oblastech, a tedy i množstvím používaných pesticidů, a množstvím výskytu vývojových deformací těl pulců se neprokázala. Výskyt deformací větší než 5 % se objevil naopak u pulců z některých přírodních mokřadů. V žádném ze studovaných vodních útvarů v zemědělské krajině se takové množství morfologických abnormalit nevyskytlo. V jiné studii se naopak zvýšený výskyt deformací u mnoha druhů žab pohybujících se v oblastech zemědělsky využívaných potvrdil (Ouellet a kol. 1997). V zemědělské krajině byl výskyt obojživelníků s tělní deformací 12 %, na kontrolních stanovištích, na kterých pesticidy aplikovány nebyly, byl výskyt pouze 0,7 %. Je však možné, že pesticidy nemusí být vždy hlavní příčinou, někdy mohou být deformace způsobeny parazity (Johnson a kol. 2002). V terénních studiích to však nelze vždy zcela přesně určit.

Některé studie uvádí, že nejčastěji se vyskytující deformace u obojživelníků jsou deformace zadních končetin (Ouellet a kol. 1997; Johnson a kol. 2002). Naopak podle (Svobodová a kol. 1987) je nejčastější výskyt deformací dvou typů. Prvním je zakřivení páteře, jehož vlivem může dojít u zadních končetin k omezení pohyblivosti. Důsledkem je problém s chytáním potravy, což vede k úhynu. Druhým typem je hydrocephalie, která má také za důsledek zvýšenou mortalitu. Příklady obou typů deformací a jejich kombinace jsou k vidění na Obr. 1.



Obr. 1: Deformace těla pulců. 1 – fyziologický vzhled pulce druhu *Rana temporaria* v době probíhající metamorfózy; 2 – pulec v pokročilém stadiu metamorfózy postižený zakřivením páteře v oblasti urostylu a v ocasní části; 3 – pulec v pokročilém stadiu metamorfózy postižený hydrocephalií a zakřivením páteře v ocasní části; 4 – fyziologický vzhled normálně vyvinutého jedince; 5 – jedinec postižený hydrocephalií po ukončení metamorfózy /kresba J. Gelnarová/. (Svobodová a kol. 1987)

Pokřivené ocasy a výrazné otoky hlavy byly sledovány také u pulců ropuchy argentinské (*Rhinella arenarum*) (Svartz a kol. 2014) a velký výskyt oteklých hlav byl zaznamenán u pulců skokana štíhlého (*Rana dalmatina*) po vystavení endosulfanu (Lavorato a kol. 2013). U skokanů se navíc postupně vyvíjely kosterní deformace. Morfologické změny hlavy a ocasu po vystavení herbicidním přípravkům na bázi glyfosfátu se vyskytly také u larev ocasatých obojživelníků, konkrétně u axolotla skvrnitého (*Ambystoma maculatum*) (Levis a kol. 2016). Následné vyhodnocení rychlosti plavání, která je dobrým ukazatelem kondice, přineslo zjištění, že morfologické změny neměly na pohyblivost postižených jedinců žádný vliv.

Sledován byl také výskyt deformací čenichu (Cooke 1981). Docházelo k nim po kontaminaci insekticidem DDT a vliv, zda se objeví, měl i individuální stav postižených jedinců, rychlost jejich růstu a vývoje.

Někdy se vyskytují deformace končetin, u kterých však nelze vyloučit, že jsou způsobeny predátory (Wagner a kol. 2014).

5.3. Rychlost vývoje, tělesná hmotnost a velikost

Podle (Wagner a kol. 2014) dochází v zemědělském typu krajiny k metamorfóze dřívě a metamorfovaná mláďata jsou menší a mají nižší hmotnost. Naproti tomu byl ale zaznamenán vlivem pesticidů i prodloužený vývoj (Williams a Semlitsch 2010; Svartz a kol. 2014).

Podle (Attademo a kol. 2014) bylo vidět, jak důležité je studovat účinky zkoumaných látek na více druzích. V této studii zkoumali vliv insekticidu Lambda-cyhalothrin (LTC) na dvou druzích žab – rosnivce pruhované (*Scinax squalirostris*) a hvízdalce vouskaté (*Leptodactylus mystacinus*). U první zmíněné došlo k zrychlenému vývoji a u druhé k velkému snížení hmotnosti. Rozdílné výsledky byly patrné například také při testování přípravku Reglone na skokanu hnědém (*Rana temporaria*) a ropuše obecné (*Bufo bufo*) (Svobodová a kol. 1987). U skokana bylo pozorováno zpoždění metamorfózy až o 2–3 týdny, u ropuchy ne. Nezáleží ale jen na druhu, ale i na stáří pulců (Berrill a kol. 1998). Pokud byli pesticidu vystaveni pulci těsně před koncem proměny, nebyli schopni metamorfózu dokončit. Stejně tomu bylo i u skokana Perézova (*Pelophylax perezi*) (Mesléard a kol. 2016). Přežít a úspěšně projít proměnou zvládli pouze dva ze sta pulců. Tento nejhorší pozorovaný výsledek ve studii měl na svědomí kumulativní dopad insekticidu alphacypermethrin a herbicidu oxadiazon. Pokud byly uvedené pesticidy použity zvlášť, byly výsledné efekty na přežití skokanů příznivější.

Rozdílné dopady nemusí být pozorovány jen mezi více druhy obojživelníků po vystavení jednomu přípravku, ale také na jednom druhu, na kterém je testováno více skupin pesticidů (Hanlon a Parris 2014). Na pulcích rosničky měnivé (*Hyla versicolor*) byly zkoumány účinky přípravků Roundup, jehož účinná látka je glyfosfát, a Sevin, který obsahuje karbaryl. Důsledkem byla snížená hmotnost po ošetření přípravkem Sevin.

Je dokázáno, že menší tělesná hmotnost a velikost během metamorfózy, ať už je způsobena vlivem znečištěného prostředí či něčeho jiného, může mít za následek sníženou pravděpodobnost přežití v budoucnu (Morey a Reznick 2001; Altwegg a Reyer 2003). Zvláště v průběhu prvních týdnů po metamorfóze a v období zhoršených podmínek (u nás například v zimě). Dalším důsledkem je, že metamorfovaní jedinci s menší hmotností a pozdější metamorfózou dosáhnou také později pohlavní dospělosti a tím menšího fitness (Smith 1987). Projevit se to může například u druhů, jejichž samci bojují mezi sebou o samičky (Shine 1979). Menší samci budou mít v takovém případě nižší šanci uspět. Zároveň ale menší velikost těla může přinést i výhodu, pokud je obojživelník vystaven houbovému patogenu

Batrachochytrium dendrobatidis (Smith a kol. 2007). Ukázalo se, že neinfikovaní pulci měli průměrnou velikost menší než infikovaní jedinci.

Výrazně nižší tělesná hmotnost než u kontrolních pulců byla zaznamenána i u rosničky měňavé (*Hyla versicolor*) během metamorfózy po vystavení karbarylů (Boone a Semlitsch 2001). Příliš rozdílné výsledky v hmotnosti ve stejném pokusu se ale nenašly u pulců ropuchy Woodhouseovy (*Bufo woodhousii*). Opět se tedy ukázalo, že velmi záleží, jaký druh obojživelníka se pro testování vybere.

Vystavení pesticidu může mít také za následek jiné rozměry těla než je běžné (Berrill a kol. 1998). Podle (Stechert a kol. 2015) byla zjištěna kumulace pesticidů v tělech pulců a vlivem působení endosulfanu se objevilo zkrácení ocasu, což snížilo schopnost plavání. Důsledkem toho může být zvýšená predace. Zkrácení nejen ocasu, ale výrazně celé délky těla, bylo sledováno, ale jen u jednoho ze dvou testovaných druhů, u hvízdalky vouskaté (*Leptodactylus mystacinus*) (Attademo a kol. 2014). Také podle (Berrill a kol. 1998) se ve studii ukázalo, že průměrná délka těla kontrolních pulců byla delší než u pulců vystavených na začátku experimentu endosulfanu. Tento insekticid mohl i za výrazné zkrácení čenichu u pulců skokana štíhlého (*Rana dalmatina*) (Lavorato a kol. 2013).

Endosulfan také způsobil opožděný vývoj u embryí ropuchy argentinské (*Rhinella arenarum*) (Svartz a kol. 2014). Objevila se u nich mikrocefalie, žábry neměly dovyvinuty a zůstal jim zachován adhezivní orgán. Dopady na žábry se vyskytly u pulců skokana štíhlého (*Rana dalmatina*) po vystavení insekticidu chlorpyrifos (Bernabò a kol. 2011). Žábry byly degenerované, krycí tkáň poškozené.

5.4. Změny v chování a pohybové aktivitě

Při zkoumání vlivů insekticidu DDT na obojživelníky, byly pozorovány po jeho aplikaci u pulců křečovitě pohyby a hyperaktivita (Cooke 1981). Důsledkem byl snížený příjem potravy, čímž se snižovala jejich hmotnost a zpomaloval vývoj. Pokud u nich tyto příznaky časem nevymizely, uhynuli. Podle jiného výzkumu (Cooke 1979) byla insekticidem DDT ošetřena kromě pulců také vajíčka skokana hnědého (*Rana temporaria*) a zjistilo se, že proniknout dokázal pouze do těch čerstvě nakladených. U pulců vylíhlých z těchto vajíček se pak po fázi, ve které mizí vnější žábry, objevila opět hyperaktivita. Z toho je zřejmé, že je důležité i načasování aplikace přípravku.

Nekoordinované nepřirozené pohyby také vykazovaly pulci ropuchy skvrnitě (*Amietophrynus maculatus*), ty se u nich objevily ihned po přemístění do vody

s endosulfanem (Stechert a kol. 2015). Toxicita endosulfanu, se projevila stejně i ve výzkumu na pulcích ropuchy argentinské (*Rhinella arenarum*) (Svartz a kol. 2014). Tam se také objevily problémy s rovnováhou při plavání. Pokud je pohyb pulců takto ovlivněný, mohou být snadnějším terčem jejich predátorů. Snazší kořistí kvůli vystavení endosulfanu by byli i pulci skokana lesního (*Rana sylvatica*), skokana křiklavého (*Rana clamitans*) a ropuchy americké (*Bufo americanus*) (Berrill a kol. 1998). Pokud byli pulci těchto druhů vystaveni nižším dávkám pesticidu, nereagovali na podněty a byli jako ochrnutí. Při vyšších dávkách (ale stále takových, jaké se mohou vyskytnout v přírodě) se u nich naopak projevovala hyperaktivita a křečovitě pohyby. Vliv na působení pesticidu mělo i stáří pulců. Čerstvě vylíhlí pulci vykazovali menší citlivost na endosulfan než ti, kterým byli již dva týdny. Neobvyklý křečovitý styl plavání po vystavení endosulfanu byl zaznamenán i u pulců drápatky vodní (*Xenopus laevis*) (Yu a kol. 2014). V této studii ale zkoumali i dopady na behaviorální chování, konkrétně vyhýbání se větší míře UV-B záření. Výsledkem bylo, že pulci vystavení endosulfanu strávili mnohem více času v oblasti s UV-B zářením než kontrolní jedinci. To může nést další následky, například snížení šance na přežití z důvodů změn v antipredačním chování, které může vyšší míra vystavení UV-B ovlivnit (Kats a kol. 2000).

Snížená pohybová aktivita byla u pulců zaznamenána například po ošetření insekticidem Demeton-S-methyl (Cooke 1981) nebo po chronickém vystavování přípravku Roundup, jehož účinnou látkou je glyfosfát (Moore a kol. 2015). To může mít různé následky. Například podle Skelly (1994) je důsledkem snížení pohybové aktivity menší riziko predace dravci, kteří se orientují zrakem. Naopak ale může riziko predace i vzrůst, protože s lenivostí pulců také souvisí snížení doby krmení a menší příjem potravy, čímž dochází ke zpomalení růstu a vývoje (Smith 1987). Tím se prodlouží vodní fáze vývoje a tedy i doba, kdy jsou larvy vystaveny predátorům (Bridges 1999). A také je zvýšena možnost, že než stačí úspěšně projít metamorfózou, vodní zdroj, ve kterém se vyvíjejí, vyschne (Rudolf a Rödel 2007).

Po ošetření některými druhy pesticidů může dojít ke změně reakcí na podněty (Kaplan a Overpeck 1964). Pět ze sedmi zkoumaných halogenovaných uhlovodíků (Aldrin, Chlordan, Dieldrin, Endrin a Toxafen) způsobovalo, že testovaní skokani levhartí (*Rana pipiens*) začali přemrštěně reagovat na podněty a házeli sebou. Naopak žáby dané do roztoku s hexachlorbenzenem byly vůči podnětům netečné.

Změny v antipredačním chování byly sledovány u pulců rosničky měnivé (*Hyla versicolor*) vlivem působení subletálního množství insekticidu karbaryl, kterému byli vystaveni (Bridges 1999). Pokud se ocitli v blízkosti predátora, nezačali si vyhledávat úkryt

ani se predátorovi nevyhýbali a v jeho přítomnosti strávili delší dobu krmením než kontrolní pulci. Zvýšeným rizikem predace byli také ohroženi pulci skokanů lesních (*Rana sylvatica*), kteří byli dáni do vody kontaminované glyfosfátovým přípravkem Roundup (Moore a kol. 2015). Důvodem byl narušený příjem chemických látek vysílaných zraněnými jedinci, kteří jsou spolehliví ukazatelé místního nebezpečí. Je možné, že mezi Roundupem a stimuly dochází k chemické reakci, která je deaktivuje. Následná zvýšená predace skokanů může být důsledkem znemožnění přijímat varování před nebezpečím.

5.5. Narušení endokrinního systému

Působením pesticidů může dojít k narušení endokrinní činnosti štítné žlázy, jejíž hormony řídí proces metamorfózy (Boone a kol. 2013). To bylo pozorováno při působení karbarylů na čerstvě vylíhlé pulce skokana křiklavého (*Lithobates clamitans*). Navíc u larev obojživelníků řídí thyroidní hormony správný vývoj končetin (Brown a kol. 2005). Pokud je tato činnost narušena, vyskytují se vlivem poruchy funkce štítné žlázy různé deformace předních a zadních končetin nebo se končetiny nevyvinou vůbec (Devi a Gupta 2013). Tyto účinky měl endosulfan.

Směsi pesticidů také mohou ovlivnit u drápatek vodních (*Xenopus laevis*) hladinu kortikosteronu v krvi (Hayes a kol. 2006). Naměřeno u nich bylo až čtyřnásobné množství tohoto hormonu oproti hodnotám v kontrolní skupině. Podle Moore (1983) může být následkem přítomnosti nepřiměřeného množství kortikosteronu v krvi snížení aktivity při reprodukčním chování. Důsledkem jsou pak samozřejmě početně slabší nové generace v populacích obojživelníků.

Byly zjištěny i dopady na poměry v pohlaví v populaci dvou druhů žab, jak zaznamenal Lips (1998), když při svých výzkumech u *Atelopus chiriquiensis* a *Hyla calypsa* našel převahu samic. Jedno z možných vysvětlení bylo, že to mohly způsobit fungicidy mancozeb a benomyl, které byly v daném místě používány. Tyto chemické přípravky jsou endokrinními disruptory a mohou u obojživelníků narušit rozmnožovací funkci (Colborn a kol. 1993). Porušení hormonální rovnováhy může způsobit i atrazin (Hayes a kol. 2002). Po ošetření tímto herbicidem se z některých pulců drápatky vodní (*Xenopus laevis*) vyvinuli hermafroditní jedinci.

5.6. Imunosupresivní účinky

Velmi vážným důsledkem vystavení obojživelníků pesticidům je snížená obranyschopnost organismu, který pak není dostatečně odolný (Kiesecker 2002). Proto se zjišťovalo, jaké dopady mají pesticidy na červené a bílé krvinky (Barni a kol. 2007). Sledovány byly například různé změny jejich vlastností (Barni a kol. 2007) nebo byl zaznamenán jejich úbytek (Kaplan a Overpeck 1964). Výrazně snížený počet eosinofilů zaznamenal i Kiesecker (2002) u skokanů lesních (*Rana sylvatica*), kteří byli vystaveni pesticidům. Důsledkem bylo zvýšené riziko napadení parazitem motolicí, jejíž cercarie, které početně oslabené eosinofily nestačily likvidovat, se v hostiteli úspěšně opouzdrily. U jedinců napadených těmito parazity byl pak zaznamenán zvýšený výskyt deformací končetin. Nepřímé dopady způsobené pesticidy tak mohou dosáhnout dál, než je na první pohled patrné.

I další studie uvádí, že pesticidy potlačily imunitu hostitelského obojživelníka a napomohly zvýšit riziko napadení motolicí (Rohr a kol. 2008). Konkrétně to bylo sledováno u pulců skokanů levhartích (*Rana pipiens*) vystavených atrazinu. Jak se ale ukázalo, i opačný výsledek je možný (Griggs a Belden 2008). Aplikace herbicidů atrazinu a metolachloru snížila přežití cercárií *Echinostomy trivolvis*. Časová délka experimentu však nestačila, aby mohly být zaznamenány případné změny v počtu nákaz obojživelníků.

Jiné studie se věnovaly například zkoumání interakcí mezi pesticidy a chytridiomycetní houbou *Batrachochytrium dendrobatidis* (např. Davidson a kol. 2007; Hanlon a Parris 2014; Buck a kol. 2015). Podle Skerratt a kol. (2007) lze pokládat *Batrachochytrium dendrobatidis* způsobující u mnoha druhů obojživelníků vážné onemocnění chytridiomykózu za jednu z hlavních příčin jejich velkého úbytku v poslední době. Tuto parazitickou houbu poprvé popsal Longcore a kol. (1999).

Výzkum Bucka a kol. (2015) je zajímavý tím, že se nevěnuje pouze zkoumání dopadů na pulce, ale i na čerstvě metamorfované jedince. Navíc nebyly použity jednotlivé pesticidy, ale jejich směsi. Konkrétně byly sledovány vlivy směsi čtyř herbicidů – acetochloru, atrazinu, glyfosfátu a kyseliny 2,4-dichlorfenoxyoctové, a směsi čtyř insekticidů – endosulfanu, chlorpyrifu, karbarylů a permethrinu. Účinky více chemických látek zároveň se studují vyjíměčně, ačkoli bylo zjištěno, že ve vodách se málokdy vyskytnou jednotlivě (Gilliom 2007). Uvedeným směsím pesticidů a následnému zkoumání míry odolnosti vůči patogenní houbě *Batrachochytrium dendrobatidis* bylo vystaveno pět druhů žab (Buck a kol. 2015). Jak se ukázalo, účinky těchto dvou stresorů velmi záležely na daném druhu a fázi vývoje, ve kterém se testovaní jedinci právě nacházeli. Například více zatížena houbovou infekcí byla

rosnička západoamerická (*Pseudacris regilla*), pokud byla pesticidům vystavena těsně po metamorfóze. Zatížení patogenem bylo menší, pokud chemickými látkami byli u tohoto druhu ošetřeni pulci. Zcela naopak se vyšší riziko infekce projevilo u ropuchy západoamerické (*Anaxyrus boreas*) a rosničky křížkované (*Pseudacris crucifer*). Jejich pulci byli k onemocnění způsobené houbou *Batrachochytrium dendrobatidis* náchylnější než čerstvě metamorfovaní jedinci.

Propuknutí chytridiomykózy můžou pesticidy napomoci také narušením peptidové ochranné vrstvy na kůži obojživelníků (Davidson a kol. 2007). Tyto kožní peptidy s antimikrobiálními účinky jsou důležitou součástí vrozených obranných mechanismů organismu (Rollins-Smith a Conlon 2005). Pokud je tato ochrana narušena, přestane být dostatečně účinná v boji proti infekcím. Prokázalo se to u skokanů žlutohých (*Rana boylei*) po ošetření insekticidem karbaryl, testováni byli jedinci, kteří již dokončili metamorfózu (Davidson a kol. 2007). Po vystavení karbarylu byla produkce kožních peptidů výrazně inhibována a skokani byli náchylnější k onemocnění chytridiomykózou.

Bylo zjištěno, že vznik imunopresivních účinků záleží na počtu pesticidních přípravků použitých najednou (Hayes a kol. 2006). Při vystavení drápatek vodních (*Xenopus laevis*) směsi devíti pesticidů došlo k poškození brzlíku, což vedlo k potlačení imunitního systému. Následně se u nich rozvinulo onemocnění bakteriální meningitidou. Pokud však byly pesticidy použity samostatně, tyto účinky se neobjevily.

Jak je vidět, stresové faktory mohou narušit obranyschopnost organismu (Carey a kol. 1999). Postižený jedinec přestane mít dostatečné imunitní reakce a stane se náchylnějším k infekčním onemocněním. Sledován byl však i případ, kdy chemické látky mohou před infekčním onemocněním napadené jedince ochránit (Hanlon a kol. 2012). Zkoumání byli pulci skokana východoamerického (*Lithobates sphenoccephalus*), kteří byli vystaveni houbovému patogenu *Batrachochytrium dendrobatidis* a poté fungicidu thiofanát-methyl. Na rozdíl od kontrolní skupiny, která byla vystavena pouze patogenu, se mezi těmito pulci infekční onemocnění vůbec nevyskytlo. Zvýšení šance na přežití v případě, že byli pulci napadeni houbou *Batrachochytrium dendrobatidis* pomohlo také ošetřením přípravkem Roundup s účinnou látkou glyfosfát (Hanlon a Parris 2014). Míra přežití byla o 20 % vyšší, než když byli pulci vystaveni pouze patogenu. Tento jev ale nebyl pozorován při použití karbarylu. Testovaný druh byla rosnička měnivá (*Hyla versicolor*). Je tedy vidět, že některé pesticidní přípravky nemusí mít jen negativní účinky, ale mohou i zmírnit dopady patogenu na hostitele.

5.7. Další dopady

Jeden ze zásadních dopadů insekticidů a herbicidů na obojživelníky, ač zmiňován jen výjimečně, je cílené hubení určitých druhů organismů, které ale mohou být pro naši sledovanou skupinu obratlovců hlavní složkou potravy (Brain a Solomon 2009). Insekticidy hubící hmyz tak nepřímo ovlivňují snížení populací obojživelníků, kterým se tím nedostává potravy. Stejně tak herbicidy dostávající se do vod mohou zničit vodní porost – potravu býložravých larev, a narušit životaschopnost nové generace. Studie se tímto vlivem příliš nezabývají, ale lze předpokládat, že pokud není někde dostatečná hojnost potravy, místním populacím obojživelníků to prospívat nebude. Tento efekt byl vidět například po aplikaci insekticidu karbaryl do vodního prostředí, ve kterém byly chovány larvy čolka zelenavého (*Notophthalmus viridescens*) (Boone a Semlitsch 2001). Po ošetření vody karbarylem vymizel zooplankton a larvy vykazovali nižší tělesnou hmotnost než jedinci z kontrolní skupiny, ve které insekticid aplikován nebyl.

Další jev, který byl pozorován, bylo snížení aktivity enzymů cholinesteráz u pulců rosničky západoamerické (*Pseudacris regilla*) v oblastech, kde byly detekovány zbytky pesticidů endosulfanu a DDT (Sparling a kol. 2001). Důsledkem toho mohl být sledovaný nepřírozený styl plavání, který nebyl koordinovaný a snížená pohybová aktivita. Takto zasažení pulci by se mohli stát snadnějším terčem predace. Podle Davidsona (2004) stojí právě ty skupiny pesticidů, které u obojživelníků inhibují cholinesterázy, za velkým poklesem populací. Většina těchto pesticidů patří mezi karbamáty nebo organofosfáty. Hubící přípravky s jinými dopady na obojživelníky nemají podle Davidsona (2004) na úbytek populací takový vliv jako tyto.

Sledovány byly i další subletální účinky pesticidů, jako gastrointestinální problémy (Kaplan a Overpeck 1964) nebo pokles aktivity při krmení (Broomhall a Shine 2003). Pulci, kteří začali přijímat menší množství potravy, měli pomalejší tempo růstu. Dalšími dopady, u kterých ale nebylo zjištěno, zda ovlivňují fitness jedince, byly změny ve stavbě mozku u pulců vystavených nízké dávce insekticidu chlorpyrifos (Woodley a kol. 2015). Jejich mozky byly užší a kratší. Rozdíly v morfologii těchto orgánů však nepřetrvávaly do dospělosti, rozměry mozku již byly srovnatelné s kontrolními jedinci. Na snížení fitness by se však mohl podílet výskyt abnormalit u pohlavních žláz, které byly pozorovány u drápatek vodních (*Xenopus laevis*) po vystavení atrazinu (Hayes a kol. 2002; Carr a kol. 2003). Nedovyvinuté gonády byly zaznamenány i při vystavení tomuto herbicidu ve směsi spolu s S-metolachlorem (Hayes a kol. 2006).

5.8. Dodatek

Některé účinky pesticidů, například výskyt deformací je snadno odhalitelný, a tak se na ně zaměřuje mnoho studií. Podle Piha a kol. (2006) to však nestačí a mělo by se dbát i na sledování vlivů v pozdějších fázích vývoje, protože nelze vyloučit, že i tam se nějaký problém mající vliv na snižování populací vyskytne.

Také je ze zmíněných výzkumů vidět, že většina studií je zaměřena na sledování vlivu pesticidů ve vodním prostředí, kde žijí citlivější vývojová stadia – larvy. Jak ale ukázaly výzkumy v terestrickém prostředí (např. Brühl a kol. 2011, 2013), obojživelníci jsou ohroženi pesticidy i na souši.

Samostatný vliv pesticidů či jiných faktorů způsobujících úbytek obojživelníků je studován často (Buck a kol. 2015). Účinky chemických látek však mohou ovlivnit významně přírodní faktory, které se do výzkumů v laboratorních podmínkách většinou nezahrnují (Laskowski a kol. 2010). Jejich interakcím by se proto měla začít věnovat zvýšená pozornost, protože izolovaně se jednotlivé faktory v přírodním prostředí nevyskytují. Studovat by se měly na více druzích i na více populacích v rámci jednoho druhu, protože výsledné dopady interakcí různých faktorů mohou být velmi individuální (Hayes a kol. 2010).

Pokud interakce pesticidů s jinými faktory na obojživelnících sledovány jsou, bývá to často s parazity a patogeny (Marcogliese a Pietrock 2011). V takových studiích se ukazuje, že pesticidy mohou oslabit obranyschopnost organismu a tím zvýšit náchylnost k infekčním onemocněním a napadení parazity (Kiesecker 2011). Výsledné dopady interakcí různých stresorů lze ale těžko odhadnout, záleží na studovaném druhu a v jaké fázi vývoje se daný jedinec zrovna nachází (Buck a kol. 2015).

6. Tolerance na pesticidy

Pozitivní zprávou je, že obojživelníci si mohou k některým druhům pesticidů vybudovat toleranci, i když jen dočasnou (Jones a Relyea 2015). Pokud byla ranná stadia pulců rosničky měnivé (*Hyla versicolor*) vystavena subletálním koncentracím insekticidu karbaryl, měla po dobu pěti dní zvýšenou toleranci k letálním dávkám této chemické látky. Podobné výsledky vyšly i ve studii s embryi a mláďaty skokanů lesních (*Rana sylvatica*) (Hua a kol. 2013). Za možný mechanismus zvyšující odolnost k letálním koncentracím přípravku je pokládána zjištěná vyšší koncentrace acetylcholinesterázy v tělech zvířat.

7. Závěr

Jak se ukázalo, dopady znečištěného prostředí pesticidy mohou být na obojživelníky různé. Liší se nejen podle použitého přípravku, ale také záleží na citlivosti konkrétního druhu či populace a v jakém stádiu vývoje se jedinec nachází. Navíc pesticidy často nepůsobí samy, ale doplňují je jiné stresory (predace, patogeny, apod.).

8. Literatura

- Alimentarius, C. (2001). Codex Alimentarius Commission: Procedural Manual. World Health Organ and Food Agric Organ UN, Rome.
- Altwegg, R., & Reyer, H. U. (2003). Patterns of natural selection on size at metamorphosis in water frogs. *Evolution*, 57(4), 872-882.
- Attademo, A. M., Peltzer, P. M., Lajmanovich, R. C., Cabagna-Zenkhusen, M. C., Junges, C. M., & Basso, A. (2014). Biological endpoints, enzyme activities, and blood cell parameters in two anuran tadpole species in rice agroecosystems of mid-eastern Argentina. *Environmental monitoring and assessment*, 186(1), 635-649.
- Barni, S., Boncompagni, E., Grosso, A., Bertone, V., Freitas, I., Fasola, M., & Fenoglio, C. (2007). Evaluation of *Rana ssk esculenta* blood cell response to chemical stressors in the environment during the larval and adult phases. *Aquatic Toxicology*, 81(1), 45-54.
- Beebee, T. J., & Griffiths, R. A. (2005). The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology?. *Biological Conservation*, 125(3), 271-285.
- Bernabo, I., Sperone, E., Tripepi, S., & Brunelli, E. (2011). Toxicity of chlorpyrifos to larval *Rana dalmatina*: acute and chronic effects on survival, development, growth and gill apparatus. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 61(4), 704-718.
- Berrill, M., Coulson, D., McGillivray, L., & Pauli, B. (1998). Toxicity of endosulfan to aquatic stages of anuran amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(9), 1738-1744.
- Blaustein, A. R., Wake, D. B., & Sousa, W. P. (1994). Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conservation biology*, 8(1), 60-71
- Blaustein, A. R., & Bancroft, B. A. (2007). Amphibian population declines: evolutionary considerations. *BioScience*, 57(5), 437-444.
- Boone, M. D., & Semlitsch, R. D. (2001). Interactions of an insecticide with larval density and predation in experimental amphibian communities. *Conservation Biology*, 228-238.
- Boone, M. D., Hammond, S. A., Veldhoen, N., Youngquist, M., & Helbing, C. C. (2013). Specific time of exposure during tadpole development influences biological effects of the insecticide carbaryl in green frogs (*Lithobates clamitans*). *Aquatic toxicology*, 130, 139-148.
- Brain, R. A., & Solomon, K. R. (2009). Comparison of the hazards posed to amphibians by the glyphosate spray control program versus the chemical and physical activities of coca production in Colombia. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 72(15-16), 937-948.
- Bridges, C. M. (1999). Effects of a pesticide on tadpole activity and predator avoidance behavior. *Journal of Herpetology*, 33(2), 303-306.

- Broomhall, S., & Shine, R. (2003). Effects of the insecticide endosulfan and presence of congeneric tadpoles on Australian treefrog (*Litoria freycineti*) tadpoles. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 45(2), 221-226.
- Brown, D. D., Cai, L., Das, B., Marsh-Armstrong, N., Schreiber, A. M., & Juste, R. (2005). Thyroid hormone controls multiple independent programs required for limb development in *Xenopus laevis* metamorphosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(35), 12455-12458.
- Brühl, C. A., Pieper, S., & Weber, B. (2011). Amphibians at risk? Susceptibility of terrestrial amphibian life stages to pesticides. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(11), 2465-2472.
- Brühl, C. A., Schmidt, T., Pieper, S., & Alscher, A. (2013). Terrestrial pesticide exposure of amphibians: An underestimated cause of global decline?. *Scientific reports*, 3.
- Buck, J. C., Hua, J., Brogan III, W. R., Dang, T. D., Urbina, J., Bendis, R. J., ... & Relyea, R. A. (2015). Effects of Pesticide Mixtures on Host-Pathogen Dynamics of the Amphibian Chytrid Fungus. *PloS one*, 10(7), e0132832.
- Carey, C., Cohen, N., & Rollins-Smith, L. (1999). Amphibian declines: an immunological perspective. *Developmental & Comparative Immunology*, 23(6), 459-472.
- Carr, J. A., Gentles, A., Smith, E. E., Goleman, W. L., Urquidi, L. J., Thuett, K., ... & Van Der Kraak, G. (2003). Response of larval *Xenopus laevis* to atrazine: assessment of growth, metamorphosis, and gonadal and laryngeal morphology. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(2), 396-405.
- Colborn, T., vom Saal, F. S., & Soto, A. M. (1993). Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental health perspectives*, 101(5), 378.
- Cooke, A. S. (1979). The influence of rearing density on the subsequent response to ddt dosing for tadpoles of the frog *Rana temporaria*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 21(1), 837-841.
- Cooke, A. S. (1981). Tadpoles as indicators of harmful levels of pollution in the field. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 25(2), 123-133.
- Cusaac, J. P. W., Mimbs IV, W. H., Belden, J. B., Smith, L. M., & McMurry, S. T. (2015). Terrestrial exposure and effects of Headline AMP® fungicide on amphibians. *Ecotoxicology*, 24(6), 1341-1351.
- Davidson, C. (2004). Declining downwind: amphibian population declines in California and historical pesticide use. *Ecological Applications*, 14(6), 1892-1902.
- Davidson, C., Benard, M. F., Shaffer, H. B., Parker, J. M., O'Leary, C., Conlon, J. M., & Rollins-Smith, L. A. (2007). Effects of chytrid and carbaryl exposure on survival, growth and skin peptide defenses in foothill yellow-legged frogs. *Environmental Science & Technology*, 41(5), 1771-1776.
- Devi, N. N., & Gupta, A. (2013). Toxicity of endosulfan to tadpoles of *Fejervarya* spp. (Anura: Dicroglossidae): mortality and morphological deformities. *Ecotoxicology*, 22(9), 1395-1402.
- Fedorenkova, A., Vonk, J. A., Lenders, H. J., Creemers, R., Breure, A. M., & Hendriks, A. J. (2012). Ranking ecological risks of multiple chemical stressors on amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(6), 1416-1421.
- Fryday, S., & Thompson, H. (2012). Toxicity of pesticides to aquatic and terrestrial life stages of amphibians and occurrence, habitat use and exposure of amphibian species in agricultural environments. Food an environment research agency Supporting Publications EN-343.
- Gilliom, R. J. (2007). Pesticides in US streams and groundwater. *Environmental science & technology*, 41(10), 3408-3414.

- Gomez-Mestre, I., & Tejedo, M. (2003). Local adaptation of an anuran amphibian to osmotically stressful environments. *Evolution*, 57(8), 1889-1899.
- Griggs, J. L., & Belden, L. K. (2008). Effects of atrazine and metolachlor on the survivorship and infectivity of *Echinostoma trivolvis* trematode cercariae. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(2), 195-202.
- Hanlon, S. M., Kerby, J. L., & Parris, M. J. (2012). Unlikely remedy: Fungicide clears infection from pathogenic fungus in larval southern leopard frogs (*Lithobates sphenoccephalus*). *PloS one*, 7(8), e43573.
- Hanlon, S. M., & Parris, M. J. (2014). The interactive effects of chytrid fungus, pesticides, and exposure timing on gray treefrog (*Hyla versicolor*) larvae. *Environmental toxicology and chemistry*, 33(1), 216-222.
- Hayes, T. B., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A. A., & Vonk, A. (2002). Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(8), 5476-5480.
- Hayes, T. B., Case, P., Chui, S., Chung, D., Haeffele, C., Haston, K., ... & Tsui, M. (2006). Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact?. *Environmental health perspectives*, 114, 40.
- Hayes, T. B., Falso, P., Gallipeau, S., & Stice, M. (2010). The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 921-933.
- Hua, J., Morehouse, N. I., & Relyea, R. (2013). Pesticide tolerance in amphibians: induced tolerance in susceptible populations, constitutive tolerance in tolerant populations. *Evolutionary applications*, 6(7), 1028-1040.
- Ji, Q., Lee, J., Lin, Y. H., Jing, G., Tsai, L. J., Chen, A., ... & Liu, J. (2016). Atrazine and malathion shorten the maturation process of *Xenopus laevis* oocytes and have an adverse effect on early embryo development. *Toxicology in Vitro*, 32, 63-69.
- Johnson, P. T., Lunde, K. B., Thurman, E. M., Ritchie, E. G., Wray, S. N., Sutherland, D. R., ... & Blaustein, A. R. (2002). Parasite (*Ribeiroia ondatrae*) infection linked to amphibian malformations in the western United States. *Ecological Monographs*, 72(2), 151-168.
- Jones, D. K., Hammond, J. I., & Relyea, R. A. (2010). Roundup® and amphibians: the importance of concentration, application time, and stratification. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(9), 2016-2025.
- Jones, D. K., & Relyea, R. A. (2015). Here today, gone tomorrow: Short-term retention of pesticide-induced tolerance in amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(10), 2295-2301.
- Kaplan, H. M., & Overpeck, J. G. (1964). Toxicity of halogenated hydrocarbon insecticides for the frog, *Rana pipiens*. *Herpetologica*, 20(3), 163-169.
- Kats, L. B., Kiesecker, J. M., Chivers, D. P., & Blaustein, A. R. (2000). Effects of UV-B Radiation on Anti-predator Behavior in Three Species of Amphibians. *Ethology*, 106(10), 921-931.
- Kerby, J. L., Richards-Hrdlicka, K. L., Storfer, A., & Skelly, D. K. (2010). An examination of amphibian sensitivity to environmental contaminants: are amphibians poor canaries?. *Ecology Letters*, 13(1), 60-67.
- Kiesecker, J. M. (2002). Synergism between trematode infection and pesticide exposure: a link to amphibian limb deformities in nature?. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(15), 9900-9904.
- Kiesecker, J. M. (2011). Global stressors and the global decline of amphibians: tipping the stress immunocompetency axis. *Ecological research*, 26(5), 897-908.

- Laskowski, R., Bednarska, A. J., Kramarz, P. E., Loureiro, S., Scheil, V., Kudłęk, J., & Holmstrup, M. (2010). Interactions between toxic chemicals and natural environmental factors—A meta-analysis and case studies. *Science of the total environment*, 408(18), 3763-3774.
- Lavorato, M., Bernabò, I., Crescente, A., Denoël, M., Tripepi, S., & Brunelli, E. (2013). Endosulfan effects on *Rana dalmatina* tadpoles: quantitative developmental and behavioural analysis. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 64(2), 253-262.
- Levis, N. A., Schooler, M. L., Johnson, J. R., & Collyer, M. L. (2016). Non-adaptive phenotypic plasticity: the effects of terrestrial and aquatic herbicides on larval salamander morphology and swim speed. *Biological Journal of the Linnean Society*.
- Lips, K. R. (1998). Decline of a tropical montane amphibian fauna. *Conservation Biology*, 12(1), 106-117.
- Longcore, J. E., Pessier, A. P., & Nichols, D. K. (1999). *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*, 219-227.
- Mann, R. M., Bidwell, J. R., & Tyler, M. J. (2003). Toxicity of herbicide formulations to frogs and the implications for product registration: A case study from Western Australia. *Applied Herpetology*, 1(1), 13-22.
- Marcogliese, D. J., & Pietrock, M. (2011). Combined effects of parasites and contaminants on animal health: parasites do matter. *Trends in parasitology*, 27(3), 123-130.
- Mesléard, F., Gauthier-Clerc, M., & Lambret, P. (2016). Impact of the insecticide Alphacypermetrine and herbicide Oxadiazon, used singly or in combination, on the most abundant frog in French rice fields, *Pelophylax perezi*. *Aquatic Toxicology*, 176, 24-29.
- Moore, F. L. (1983). Behavioral endocrinology of amphibian reproduction. *Bioscience*, 557-561.
- Moore, H., Chivers, D. P., & Ferrari, M. C. (2015). Sub-lethal effects of Roundup™ on tadpole anti-predator responses. *Ecotoxicology and environmental safety*, 111, 281-285.
- Morey, S., & Reznick, D. (2001). Effects of larval density on postmetamorphic spadefoot toads (*Spea hammondi*). *Ecology*, 82(2), 510-522.
- Ouellet, M., Bonin, J., Rodrigue, J., DesGranges, J. L., & Lair, S. (1997). Hindlimb deformities (ectromelia, ectrodactyly) in free-living anurans from agricultural habitats. *Journal of wildlife diseases*, 33(1), 95-104.
- Pereira, J. L., Antunes, S. C., Castro, B. B., Marques, C. R., Gonçalves, A. M., Gonçalves, F., & Pereira, R. (2009). Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. *Ecotoxicology*, 18(4), 455-463.
- Piha, H., Pekkonen, M., & Merilä, J. (2006). Morphological abnormalities in amphibians in agricultural habitats: A case study of the common frog *Rana temporaria*. *Copeia*, 2006(4), 810-817.
- Phillips, K. (1990). Where have all the frogs and toads gone. *BioScience*, 40(6), 422-424.
- Rohr, J. R., Schotthoefer, A. M., Raffel, T. R., Carrick, H. J., Halstead, N., Hoverman, J. T., ... & Schoff, P. K. (2008). Agrochemicals increase trematode infections in a declining amphibian species. *Nature*, 455(7217), 1235-1239.
- Rollins-Smith, L. A., & Conlon, J. M. (2005). Antimicrobial peptide defenses against chytridiomycosis, an emerging infectious disease of amphibian populations. *Developmental & Comparative Immunology*, 29(7), 589-598.
- Rudolf, V. H., & Rödel, M. O. (2007). Phenotypic plasticity and optimal timing of metamorphosis under uncertain time constraints. *Evolutionary Ecology*, 21(1), 121-142.

- Shine, R. (1979). Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. *Copeia*, 297-306.
- Skelly, D. K. (1994). Activity level and the susceptibility of anuran larvae to predation. *Animal Behaviour*, 47(2), 465-468.
- Skerratt, L. F., Berger, L., Speare, R., Cashins, S., McDonald, K. R., Phillott, A. D., ... & Kenyon, N. (2007). Spread of chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs. *EcoHealth*, 4(2), 125-134.
- Smith, D. C. (1987). Adult recruitment in chorus frogs: effects of size and date at metamorphosis. *Ecology*, 68(2), 344-350.
- Smith, K. G., Weldon, C., Conradie, W., & du Preez, L. H. (2007). Relationships among size, development, and *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in African tadpoles. *Diseases of aquatic organisms*, 74(2), 159-164.
- Sparling, D. W., Fellers, G. M., & McConnell, L. L. (2001). Pesticides and amphibian population declines in California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(7), 1591-1595.
- Sparling, D. W., & Fellers, G. M. (2009). Toxicity of two insecticides to California, USA, anurans and its relevance to declining amphibian populations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(8), 1696-1703.
- Stechert, C., Kolb, M., Rödel, M. O., & Bahadir, M. (2015). Effects of insecticide formulations used in cotton cultivation in West Africa on the development of flat-backed toad tadpoles (*Amietophrynus maculatus*). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(4), 2574-2583.
- Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodrigues, A. S., Fischman, D. L., & Waller, R. W. (2004). Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306(5702), 1783-1786.
- Svartz, G. V., Wolkowicz, I. R. H., & Coll, C. S. P. (2014). Toxicity of endosulfan on embryo-larval development of the South American toad *Rhinella arenarum*. *Environmental toxicology and chemistry*, 33(4), 875-881.
- Svobodová, Z. a kolektiv (1987). *Toxikologie vodních živočichů*. MZV SZN Praha
- Todd, B. D., Bergeron, C. M., Hepner, M. J., & Hopkins, W. A. (2011). Aquatic and terrestrial stressors in amphibians: a test of the double jeopardy hypothesis based on maternally and trophically derived contaminants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(10), 2277-2284.
- Van Meter, R. J., Glinski, D. A., Henderson, W. M., Garrison, A. W., Cyterski, M., & Purucker, S. T. (2015). Pesticide Uptake Across the Amphibian Dermis Through Soil and Overspray Exposures. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 69(4), 545-556.
- Vitt, L. J., Caldwell, J. P., Wilbur, H. M., & Smith, D. C. (1990). Amphibians as harbingers of decay. *BioScience*, 40(6), 418-418.
- Wagner, N., Züghart, W., Mingo, V., & Lötters, S. (2014). Are deformation rates of anuran developmental stages suitable indicators for environmental pollution? Possibilities and limitations. *Ecological Indicators*, 45, 394-401.
- Wake, D. B., & Vredenburg, V. T. (2008). Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(Supplement 1), 11466-11473.
- Wang, H., Li, R., Xi, X., Meng, T., Zhou, M., Wang, L., ... & Shaw, C. (2013). Senegalin: a novel antimicrobial/myotropic hexadecapeptide from the skin secretion of the African running frog, *Kassina senegalensis*. *Amino acids*, 44(5), 1347-1355.

Whittaker, K., Koo, M. S., Wake, D. B., & Vredenburg, V. T. (2013). Global declines of amphibians. *Encyclopedia of biodiversity*, 2, 691-699.

Williams, B. K., & Semlitsch, R. D. (2010). Larval responses of three Midwestern anurans to chronic, low-dose exposures of four herbicides. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 58(3), 819-827.

Woodley, S. K., Mattes, B. M., Yates, E. K., & Relyea, R. A. (2015). Exposure to sublethal concentrations of a pesticide or predator cues induces changes in brain architecture in larval amphibians. *Oecologia*, 179(3), 655-665.

Yu, S., Weir, S. M., Cobb, G. P., & Maul, J. D. (2014). The effects of pesticide exposure on ultraviolet-B radiation avoidance behavior in tadpoles. *Science of the Total Environment*, 481, 75-80.

9. Online zdroje

Amphibia Web, 2016 [online]. [cit. 2016-08-19]. Dostupné z: <http://amphibiaweb.org/lists/index.shtml>

IUCN Red List, 2016 [online]. [cit. 2016-08-19]. Dostupné z: <http://www.iucnredlist.org/search>