

GRZEGORZ FORMICKI

# Metale ciężkie w środowisku wodnym

właściwości toksyczne, biologiczne  
dostępność i kumulacja  
w tkankach zwierząt

Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Pedagogicznego  
Kraków



# Metale ciężkie w środowisku wodnym

właściwości toksyczne, biologiczne  
dostępność i kumulacja  
w tkankach zwierząt

Uniwersytet Pedagogiczny  
im. Komisji Edukacji Narodowej  
w Krakowie  
Prace Monograficzne nr 558

# Metale ciężkie w środowisku wodnym

właściwości toksyczne, biologiczne  
dostępność i kumulacja  
w tkankach zwierząt

recenzenci  
prof. dr hab. Stanisław Krawczyk  
prof. Peter Massányi PhD DVM

© Copyright by Wydawnictwo Naukowe UP, Kraków 2010

projekt okładki Janusz Schneider

ISBN 978-83-7271-596-8  
ISSN 0239-6025

Redakcja/Dział Promocji  
Wydawnictwo Naukowe UP  
30-084 Kraków, ul. Podchorążych 2  
fax +48 12 662 63 83, tel. +48 12 662 67 56  
e-mail: [wydawnictwo@up.krakow.pl](mailto:wydawnictwo@up.krakow.pl)

<http://www.wydawnictwoup.pl>

skład i łamanie Janusz Schneider  
druk i oprawa  
Zespół Poligraficzny UP  
zam. 26/10

*Składam serdeczne podziękowania  
Panu prof. dr. hab. Władysławowi Zamachowskiemu  
i dr. hab. Robertowi Stawarzowi  
za wsparcie podczas pisania niniejszej pracy*





## Streszczenie

Zbadano zawartość metali ciężkich Cd, Cu, Pb, Zn, Fe w narządach skóry zaostrzonej (*Unio tumidus*), błotniarki stawowej (*Lymnaea stagnalis*), jazia (*Leuciscus idus*), okonia (*Perca fluviatilis*), karasia (*Carassius carassius*) i leszcza (*Abramis brama*) występujących na kilku stanowiskach w Polsce południowej woj. małopolskiego, tj. rzeka Wisła (Nowe Brzesko), starorzecze Wisły (Wawrzeńczyce), staw hodowli ryb (Słupów), Jezioro Rożnowskie, oraz świętokrzyskiego (starorzecze Nidy, Pińczów). W zbiornikach objętych badaniami oznaczono całkowite stężenie Cd, Cu, Pb, Fe oraz stężenie ich form rozpuszczonych i nierozpuszczonych w wodzie i osadach dennych. Druga część badań poświęcona była oddziaływaniu substancji organicznych znajdujących się w środowisku wodnym i promieniowania UV na dostępność biologiczną metali ciężkich tj. Cd, Cu, Pb dla skóry zaostrzonej (*Unio tumidus*), błotniarki stawowej (*Lymnaea stagnalis*) i larw żaby trawnej (*Rana temporaria*).

Zebrane próbki osadów dennych zawierały najwięcej żelaza ( $72,98 \pm 15,53 - 97,54 \pm 22,06$  ppm s.m.). W najmniejszym stężeniu w osadach występował kadm ( $0,48 \pm 0,09 - 0,76 \pm 0,14$  ppm s.m.). W wodzie dominowały nierozpuszczone formy metali. W badanych próbkach wody w największym stężeniu występowało żelazo ( $2,37 \pm 0,47 - 1,61 \pm 0,19$  ppm). Najniższe były stężenia kadmu ( $0,09 \pm 0,03 - 0,06 \pm 0,03$  ppm). Kumulacja metali ciężkich w organizmach zwierząt była zależna od ich stężenia w środowisku. W największym stężeniu u badanych gatunków ryb występowały cynk i żelazo. Szczególnie wysoką zawartość cynku stwierdzono w skrzelach karasia ( $339,32 \pm 54,62$  ppm s.m.). Żelazo w największym stężeniu występowało w wątrobie leszcza ( $147,34 \pm 54,25 - 624,48 \pm 148,10$  ppm s.m.). Spośród metali o charakterze ksenobiotyków w największym stężeniu występował ołów. Wysoką zawartość tego metalu miały narządy leszcza ze stawu hodowlanego w Słupowie ( $3,13 \pm 0,59$  ppm s.m. – mięśnie;  $29,77 \pm 10,36$  ppm s.m. – kości), co było związane z najwyższym skażeniem ołowiem tego zbiornika.

Badane zwierzęta wykazywały różnicowanie gatunkowe pod względem zawartości niektórych pierwiastków. Biorąc pod uwagę skażenie mięśni, stwierdzono, że największą zawartość metali toksycznych (Pb –  $4,44 \pm 1,43$ ;

Cd –  $0,42 \pm 0,16$  ppm s.m.) zawierały narządy jازيا. Spośród badanych mięczaków błotniarka stawowa kumulowała w gruczole trzustkowątrobowym więcej kadmu ( $6,40 \pm 2,40$  ppm s.m.) niż skójka zaostzona ( $3,39 \pm 0,18$  ppm s.m.). Badane metale wykazały charakterystyczny rozkład w narządach. Błotniarka stawowa kumulowała najwięcej metali w gruczole trzustkowątrobowym, natomiast skójka zaostzona z reguły miała najwyższą zawartość metali w skrzelach. U ryb najwyższa zawartość metali była odnotowywana w skrzelach, kościach i wątrobie. Badania nad biologiczną dostępnością metali ciężkich wykazały, że kwas humusowy obniża dostępność kadmu dla błotniarki stawowej i zwiększa dostępność tego metalu dla skójki zaostzonej. Promieniowanie UV nasila wychwyt i przyspiesza usuwanie kadmu, hamuje wychwyt miedzi i nie ma wpływu na kumulację ołowiu u larw żaby trawnej. Promieniowanie to zwiększa również dostępność kadmu dla skójki zaostzonej hodowanej w obecności kwasu humusowego. Zjawisko to związane jest ze zmianą specjacji chemicznej kadmu w wodzie naświetlanej UV.

Przeprowadzone badania wykazują, że metale ciężkie występują w środowisku wodnym głównie w postaci form nierozpuszczonych. Największe stężenia metali występują w osadach dennych. Kumulacja metali w tkankach zwierzęcych związana jest z ich zawartością w środowisku. Zwierzęta wodne wykazują zróżnicowanie gatunkowe pod względem zawartości metali w poszczególnych narządach. Czynniki chemiczne (np. kwas humusowy) i fizyczne (promieniowanie UV) mają istotny wpływ na dostępność biologiczną metali ciężkich w środowisku wodnym.

**Słowa kluczowe:**

Cd, Cu, Pb, Zn, Fe, *Unio tumidus*, *Lymnaea stagnalis*, *Leuciscus idus*, *Perca fluviatilis*, *Carassius carassius*, *Abramis brama*, *Rana temporaria*, specjacja metali, kumulacja, dostępność biologiczna, kwas humusowy, promieniowanie UV

# 1. Wstęp

## 1.1. Chemiczne właściwości metali ciężkich

Definicja metali opiera się na ich właściwościach fizycznych i chemicznych. Cechy, takie jak połysk, wysokie przewodnictwo elektryczne i ciepłe, właściwości mechaniczne, struktura krystaliczna, niewiele jednak mówią o funkcjach metali w układach biologicznych. Biorąc pod uwagę właściwości wykazywane w układach biologicznych, metale można zdefiniować jako pierwiastki, których atomy w warunkach biologicznych tworzą kationy poprzez utratę jednego lub więcej elektronów (Cornelis i Nordberg, 2007).

Część metali określa się jako tzw. metale ciężkie. Z reguły za metale ciężkie uznaje się metale o gęstości większej niż  $7\text{g}\cdot\text{cm}^3$ . Istnieje jednak wiele innych klasyfikacji, w których za podstawowe kryterium wyróżniające metale ciężkie uznano gęstość przekraczającą 6 a nawet  $3,5\text{g}\cdot\text{cm}^3$ . Nowsze definicje podają, że masa atomowa metali ciężkich przekracza 23 (Cornelis i Nordberg, 2007).

Metale tworzą kilka rodzajów związków, w których mogą występować na różnym stopniu utlenienia. Są to sole, związki o charakterze kompleksów oraz związki metalo-organiczne. Związki kompleksowe powstają dzięki połączeniom koordynacyjnym atomów metali z tzw. ligandami. W związkach tych atom lub kilka atomów metalu stanowią tzw. atomy centralne, natomiast rolę ligandów mogą pełnić jony lub cząsteczki spolaryzowane. Ligandy połączone z atomem centralnym jednym wiązaniem to tzw. ligandy monokleszczowe. Natomiast ligandy połączone dwoma lub większą ilością wiązań to tzw. ligandy multikleszczowe lub chelaty (Dojlido, 1987). Związki kompleksowe metali odgrywają ogromną rolę w środowisku naturalnym oraz w organizmach żywych. W tkankach organizmów żywych związki kompleksowe mają wpływ na toksyczne właściwości metali, natomiast w roztworach wodnych decydują o biologicznej dostępności metali (Bianchini i in., 2004). Szczególną

rolę w znoszeniu toksycznego działania metali odgrywają związki zawierające grupy tiolowe, hydroksylowe, karboksylowe i fenylowe, które łatwo tworzą wiązania koordynacyjne z atomami metali (Lodge i in., 1998).

## 1.2. Biologiczne właściwości metali ciężkich

Metale ciężkie mogą dostawać się do komórek zwierzęcych dzięki endocytozie (np. FeOH), dyfuzji (np. metylortęć), dyfuzji wspomaganej lub transportowi aktywnemu zależnemu od ATP (Bjerregaard i Andersen, 2007). Opisano szereg specyficznych transporterów biorących udział w przenoszeniu metali przez błony biologiczne. Jednym z ważniejszych jest transporter metali dwuwartościowych DMT-1, który bierze udział w transporcie żelaza, kadmu, miedzi, cynku, manganu i ołowiu (Tennant i in., 2002). Kationy miedzi  $Cu^+$  są również transportowane przez transporter Ctr1 oraz kanały sodowe ENaC (Skulski i Lapin, 1992; Handy i in., 2002; Tennant i in., 2002; Mackenzie i in., 2004). Cynk może przedostawać się do komórek za pośrednictwem transportera DMT-1 oraz licznych wyspecjalizowanych transporterów cynkowych – ZIP. Transportery cynku odgrywają również pewną rolę w przenoszeniu kadmu (Roesijadi i Unger, 1993). Wapń transportowany jest przez kanały wapniowe. Tą drogą mogą również do komórek przenikać kationy kadmu, cynku i magnezu (Karbach i Rummel, 1990; Roesijadi i Unger, 1993). Z kolei transport magnezu związany jest z obecnością transporterów MgtA/B, MgtC, MgtE, TRPM6, TRPM7, które wykryto u różnych grup organizmów (Kehres i Maguire, 2002; Chubanov i in., 2005; Lee i Gardner, 2006). Okazuje się także, iż transportery magnezu mogą brać udział w przenoszeniu innych niż magnez dwuwartościowych jonów metali (Chubanov i in., 2005).

Atomy niektórych metali związane z cząsteczkami organicznymi mogą pełnić ważne funkcje biologiczne. Dotyczy to przede wszystkim cząsteczek białka związanych jonowo lub koordynacyjnie z atomami metali – metaloprotein. Żelazo wchodzące w skład hemu jest niezbędne w prawidłowym funkcjonowaniu hemoglobiny, mioglobiny, cytochromów. Hem zawierający żelazo stanowi grupę prostetyczną wielu enzymów np. katalazy i peroksydazy. Istnieją również białka zawierające atomy żelaza niezwiązane z hemem. Zalicza się do nich między innymi białka odpowiedzialne za transport i magazynowanie żelaza – ferrytynę i transferrytynę (Bjerregaard i Andersen, 2007).

Atomy metali są niezbędne do zachowania prawidłowej struktury i funkcji enzymów. Miedź w postaci związanej z porfiryną wchodzi w skład cytochromu  $a_3$  łańcuchów oddechowych, którego funkcje polegają na przenosze-

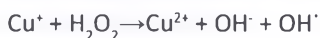
niu elektronów na tlen. Istnieje również cała grupa enzymów, w której miedź pełni funkcje kofaktora. Do enzymów takich należą: oksydaza cytochromu c, tyrozynaza, hydrolaza *p*-hydroksyfenylopirogrońianowa, beta hydroksylaza dopaminowa, oksydaza lizynowa, oksydaza askorbinianowa i miedziowo-cynkowa dysmutaza ponadtlenkowa (Pattubala i in., 2002; Gaetke i Chow, 2003).

Ważną rolę w organizmie odgrywa cynk, który pełni rolę kofaktora dla wielu enzymów. Można wśród nich wymienić dysmutazę miedziowo-cynkową, anhidrazę węglanową, karboksypeptydazę oraz dehydrogenazę alkoholową. Cynk jest ponadto ważnym elementem czynników transkrypcyjnych (Bertinato i L'Abbe, 2004). Z kolei kobalt jest istotnym elementem cząsteczki witaminy B12 (Cornelis i Nordberg, 2007). Molibden wchodzący w skład nitrogenaz zaangażowany jest w wiązanie azotu. Natomiast kationy magnezu aktywują enzymy odpowiedzialne za przenoszenie lub hydrolizę grup fosforanowych (Cornelis i Nordberg, 2007). Jedną z ważniejszych cech niektórych metali pozwalających im na pełnienie określonych funkcji biologicznych jest zdolność do przyjmowania i oddawania elektronów (Gaetke i Chow, 2003). Właściwość ta jednocześnie powoduje, że metale o wysokim potencjale oksydacyjno-redukcyjnym mogą w pewnych warunkach stanowić duże zagrożenie dla prawidłowego metabolizmu komórek.

### 1.3. Toksyczne właściwości metali ciężkich

Można wyróżnić wiele mechanizmów toksycznego oddziaływania metali ciężkich na tkanki zwierzęce. Największe znaczenie mają: stres oksydacyjny, inhibicja enzymów, zaburzenia gospodarki mineralnej, upośledzenie przewodzenia sygnałów komórkowych, działanie mutagenne (Dżugan i Juszczyk, 2006; Dżugan, 2009)

Największe znaczenie w generowaniu stresu oksydacyjnego mają kationy żelaza i miedzi, które mogą wchodzić w tzw. reakcję Fentona. Reakcja ta polega na utlenianiu kationów żelaza lub miedzi w obecności nadtlenu wodoru z jednoczesnym wytworzeniem rodników hydroksylowych. Jony  $\text{Cu}^{2+}$  w obecności anionrodników ponadtlenkowych ( $\text{*O}_2^-$ ) lub związków redukujących, takich jak kwas askorbinowy czy GSH, mogą zostać zredukowane do  $\text{Cu}^+$ . Jony  $\text{Cu}^+$  z kolei katalizują powstawanie rodników hydroksylowych (Gaetke i Chow, 2003).



Rodnik hydroksylowy jest jednym z najsilniejszych czynników utleniających, jakie mogą się pojawić w komórkach żywych organizmów. Możliwa jest również reakcja jonów  $\text{Cu}^{2+}$  z nadtlenkiem wodoru, w wyniku czego, obok rodników hydroksylowych, formują się jony  $\text{Cu}^{3+}$  o bardzo wysokim potencjale oksydacyjno-redukcyjnym:



Zaburzenia równowagi oksydacyjno-redukcyjnej mogą również zostać wywołane przez metale nie wchodzące w reakcję Fentona. Zjawisko to polega prawdopodobnie na wypieraniu atomów żelaza i miedzi z wiązań z cząsteczkami białek. Powstające w ten sposób wolne jony miedzi i żelaza mogą brać udział w reakcji Fentona i generować rodniki hydroksylowe, które z kolei uszkadzają wiele elementów komórkowych, w tym struktury błonowe i cząsteczki DNA (Martelli i in., 2006). Udział metali ciężkich jak kadm czy ołów w generowaniu stresu oksydacyjnego może być też związany z hamowaniem ekspresji genów odpowiedzialnych za biosyntezę enzymów antyoksydacyjnych, takich jak dysmutaza ponadtlenkowa i katalaza. Również po zakończeniu translacji kadm hamuje aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy glutationowej, katalazy oraz zmniejsza poziom glutationu (Casalino i in., 2002).

Metale ciężkie wiążąc się z białkami pełniącymi funkcje regulacyjne prowadzą do zaburzenia lub całkowitego zniesienia tych funkcji (Waalkes, 2003). Do obniżenia aktywności enzymatycznej dochodzi również z powodu powstawania wiązań koordynacyjnych między jonami metali, takich jak kadm, ołów, rtęć, miedź, i grupami  $-\text{SH}$  enzymów (Kolesarova i in., 2008). Szczególnie skutecznym inhibitorem aktywności enzymatycznej komórek jest kadm. Uznaje się nawet, że większość reakcji enzymatycznych zachodzących w tkankach istot żywych może być hamowana przez ten pierwiastek (Dżugan, 2008; Waisberg i in., 2003). Pierwiastki niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu również mogą upośledzać funkcje enzymów, jeżeli występują w ustroju w nadmiarze. Wykazano na przykład, że nadmiar miedzi obniża aktywność wielu enzymów, jak np.: dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationowa czy też oksydaza cytochromu c (Gaetke i Chow, 2003). Inhibicja aktywności enzymów wynika przede wszystkim z reakcji wolnorodnikowych indukowanych przez jony miedzi. Ponadto miedź łącząc się z cząsteczkami białek, w tym białek enzymatycznych, powoduje zmiany w ich konformacji (Theophanides i Anastassopoulou, 2002). Szcze-

gólne znaczenie w dezaktywacji enzymów odgrywa wysokie powinowactwo atomów miedzi do grup SH, które są niezbędne dla prawidłowej aktywności wielu enzymów (Canesi i in., 1998).

Właściwości toksyczne metali ciężkich są również związane z ich oddziaływaniem na kationy pełniące funkcje biologiczne. Dotyczy to w szczególności tych pierwiastków, które mają zbliżone właściwości fizykochemiczne. Okazuje się, że kationy o podobnej wielkości i ładunku mogą konkurować o te same miejsca wiązań i mogą być transportowane tymi samymi drogami. Na przykład kadm dostaje się do komórek głównie przez drogi specyficzne dla wapnia i żelaza (Roesijadi i Unger, 1993; Suzuki i in., 2008). Pierwiastek ten nie tylko konkuruje o miejsca transportu, ale jednocześnie je blokuje. W komórkach dochodzi wtedy do zachwiania równowagi mineralnej i osmotycznej. Tym bardziej, że kadm hamuje aktywność pompy sodowo-potasowej (Martelli i in., 2006). Znane jest zjawisko antagonizmu występującego między kadmem a wapniem, cynkiem, żelazem i magnezem (Massanyi i in., 2007). Kadm nie tylko hamuje transport tych kationów do komórek, ale także wypiera je z różnych struktur komórkowych (Martelli i in., 2006). Szczególnie intensywne są interakcje między kadmem i cynkiem. Znane jest zjawisko molekularnej mimikry, jaką kadm wykazuje w połączeniach z cząsteczkami białek w stosunku do cynku. Wykazano, że kadm konkuruje z cynkiem o miejsca wiązań w metalotioneinie i hamuje wychwyt cynku przez komórki. Z drugiej strony podniesienie poziomu cynku w organizmie znosi toksyczne właściwości kadmu (Demuyne i in., 2007). Podobnie podniesienie poziomu wapnia, magnezu czy też żelaza w płynie międzykomórkowym hamuje wychwyt kadmu i znosi jego toksyczny wpływ na struktury komórkowe (Baldisserotto i in., 2005; Boujelben, i in., 2006; Martelli i in., 2006; Lukač i in., 2009). Podobne właściwości wykazują również metale pełniące funkcje biologiczne. Na przykład jony miedzi hamują aktywność Na,K-ATPazy, co jest przyczyną zaburzenia równowagi jonowej i osmotycznej żywych organizmów (Bianchini i in., 2004). Zaburzenia te z kolei pośrednio wpływają na poziom innych kationów, takich jak np. magnez (Grosell i in., 2004). Wykazano również, że miedź wykazuje antagonizm w stosunku do cynku i wapnia (Yamaguchi, 1993; Milne i in., 2001) oraz odgrywa ważną rolę w metabolizmie żelaza (Ramirez-Cárdenas i in., 2005).

Jednym z najbardziej niebezpiecznych zjawisk występującym w zatruciu metalami ciężkimi są zaburzenia przewodzenia sygnałów komórkowych. W komórkach eksponowanych na metale ciężkie odnotowano nasiloną ekspresję genów IEG. Kontrolują one między innymi transkrypcję genów odpo-

wiedzialnych za proces wzrostu i podziału komórek. Zwiększona ekspresja genów IEG może być przyczyną powstawania i wzrostu tkanki nowotworowej (Waisberg i in., 2003). Efekt ten jest dodatkowo wzmacniany przez oddziaływanie metali ciężkich na system sygnałów wewnątrzkomórkowych. Stwierdzono, że wzrost poziomu jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w przedziale komórkowym związany z oddziaływaniem kadmu jest czynnikiem zaburzającym ekspresję genów. Ponadto jony kadmu aktywują wewnątrzkomórkowe kinazy białkowe, które nasilają fosforylację czynników transkrypcyjnych. Dlatego też obecnie uważa się, że mutagenne działanie metali ciężkich może być związane z rozregulowaniem ekspresji genów istotnych dla transformacji nowotworowej (Waisberg i in., 2003).

Inny mechanizm kancerogenezy indukowanej przez metale ciężkie jest związany z oddziaływaniem na E-kadherynę. Wykazano, że kationy  $\text{Cd}^{2+}$  wiążą się z E-kadheryną w miejscu przeznaczonym do wiązania jonów wapnia. Jest to przyczyną rozluźnienia połączeń między komórkami. E-kadheryna jest również związana z wewnątrzkomórkowym białkiem  $\beta$ -kateniną. Stwierdzono, że spowodowane przez kadm zaburzenie funkcji E-kadheryny indukuje ekspresję genów zależną od  $\beta$ -kateniny. Dlatego w tkankach ekspozycyjnych na kadm dochodzi do rozluźnienia układu komórek i nasilenia ekspresji genów czego efektem jest powiększenie jąder komórkowych. Zjawiska te mogą prowadzić do nasilenia podziałów mitotycznych i nieprawidłowego różnicowania się komórek. Co w konsekwencji może być przyczyną rozwoju nowotworu (Prozialek i in., 2003; Stawarz i in., 2008).

Mutagenne działanie metali ciężkich wynika również z ich bezpośredniego lub pośredniego oddziaływania na DNA. Metale ciężkie wykazują zróżnicowane powinowactwo do DNA. Kadm jest uznawany za metal wykazujący niższe powinowactwo do DNA niż do innych struktur komórkowych. Odmienna pod tym względem jest miedź. Wykazano, że  $\text{Cu}^{2+}$  może wiązać się z białkami histonowymi oraz z pierścieniami purynowymi nukleotydów. Uważa się nawet, że miedź wykazuje znacznie większe powinowactwo do DNA niż inne kationy dwuwartościowe. Tego rodzaju połączenia powodują zmiany konformacyjne w cząsteczkach DNA i promują uszkodzenia oksydacyjne podwójnej helisy prowadzące do jej pęknięć co w rezultacie upośledza ekspresję informacji genetycznej. Takie zmiany mogą również indukować kancerogenezę (Kagawa i in., 1991; Theophanides i Anastassopoulou, 2002). Pomimo wysokiego powinowactwa niektórych metali do DNA, rzadko się zdarza, aby w żywym ustroju metale ciężkie przedostawały się w bezpośrednie sąsiedztwo DNA. Są one bowiem silnie wiązane przez liczne struktury



komórkowe, mające przeciwdziałać toksycznym efektom zatrucia metalami. Dlatego też mutagenne działanie metali ciężkich jest najczęściej związane z ich pośrednim oddziaływaniem na kod genetyczny. Zaburzenia ekspresji genów mogą wynikać z opisanych powyżej nieprawidłowości w przewodzeniu sygnałów komórkowych. Dużą rolę odgrywają również reaktywne formy tlenu. Wykazano, że indukowane przez miedź wolne rodniki były przyczyną utleniania zasad azotowych DNA, pęknięcia nici DNA (Giulivi i Cadenas, 1998; Raveh i in., 2000; Krumschnabel i in., 2005; Bopp i in., 2008). Mutagenne działanie metali ciężkich jest także związane z inhibicją systemów reparacyjnych DNA. Stwierdzono między innymi, że kadm hamuje wycinanie dimerów pirymidynowych. Molekularny mechanizm tego zjawiska jest prawdopodobnie związany z wypieraniem przez kadm atomów cynku z palca cynkowego białek reparacyjnych, co uniemożliwia wiązanie się tych białek z cząsteczką DNA (Hartwig, 2001). Podobną rolę mogą również pełnić inne metale wykazujące antagonizm w stosunku do cynku, np. miedź i ołów. Ponadto kadm może hamować naprawę oksydacyjnych uszkodzeń DNA poprzez inhibicję ekspresji glikozylazy 8-oksoguaniny DNA (Potts i in., 2003).

Toksyczne właściwości metali ciężkich sprawiają, że po dostaniu się do organizmu są one niemal natychmiast wiązane z cząstkami organicznymi w formy nieszkodliwe dla komórek. W układzie pokarmowym zwierząt metale są wiązane przez aminokwasy, w szczególności metioninę oraz cysteinę. We krwi metale są transportowane w postaci kompleksów z albuminami, a także histydyną, treoniną i kwasem glutaminowym (Adman, 1991). Istnieje również szereg specyficznych białek, które odgrywają rolę w magazynowaniu i transporcie metali. Najważniejszą rolę w dystrybucji miedzi w organizmie pełni ceruloplazmina. Jedna cząsteczka ceruloplazminy zawiera aż 6 atomów miedzi, w tym 3 atomy na 1+ i 3 atomy na 2+ stopniach utlenienia. Ceruloplazmina wiąże aż 60 do 90% atomów miedzi znajdujących się w osoczu krwi (Fox i in., 1995). Żelazo z kolei magazynowane jest w formie ferrytyny, a transportowane przez transferynę (Young i in., 1997). W komórkach jony metali wiązane są z grupą białek określaną jako białka metalozaperonowe. Ich zadaniem jest zabezpieczenie komórki przed toksycznym działaniem jonów metali i przekazaniem ich atomów do struktur, w których pełnią funkcje biologiczne (O'Halloran i Culotta, 2000). Szczególną rolę w obronie komórek przed toksycznym oddziaływaniem metali ciężkich pełni metalotioneina. Jedna cząsteczka metalotioneiny może wiązać wiązaniami koordynacyjnymi 7 atomów miedzi cynku lub kadmu (Cherian i in., 1994). Struktury komórkowe zabezpieczane są także przed działaniem metali ciężkich przez glutation

(Martelli i in., 2006). Nawet niewielkie ilości kadmu, miedzi, cynku czy też ołowiu indukują w komórkach biosyntezę metalotioneiny, glutationu i białek opiekuńczych (Waisberg i in., 2003).

#### 1.4. Metale w środowisku wodnym

Metale ciężkie wykorzystuje się w metalurgii, elektrotechnice, elektronice i energetyce. Związki metali używane są także w przemyśle chemicznym, przede wszystkim do produkcji środków ochrony roślin i zwierząt. Na przykład wodorotlenek miedzi (II)  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  jest używany jako pestycyd i fungicyd. Tlenek miedzi (I)  $\text{Cu}_2\text{O}$  i chlorek miedzi  $\text{CuCl}_2$  są natomiast używane jako fungicydy. Związki miedzi stosuje się także do zwalczania glonów w zbiornikach wodnych (Theophanides i Anastassopoulou, 2002). Inne metale mogą być wprowadzane do upraw rolnych wraz z nawozami, szczególnie z nawozami fosforanowymi, a także z nawozami wyprodukowanymi z osadów ściekowych (Thornton, 1992). Ponadto metale ciężkie wprowadzane są do środowiska przez wszystkie typy działalności związanej z uzyskiwaniem energii w procesie spalania tzw. paliw kopalnych. Istnieją także naturalne źródła metali w środowisku. Zalicza się do nich przede wszystkim wybuchy wulkanów oraz pożary lasów. Metale ciężkie są także wypłukiwane ze skał w procesie erozji. Niemniej jednak źródła antropogeniczne wprowadzają do środowiska 3 do 10 razy więcej metali ciężkich niż źródła naturalne (Waisberg i in., 2003). Poza bezpośrednią emisją związków metali ciężkich działalność człowieka może również przyczynić się pośrednio do zatrucia środowiska metalami ciężkimi poprzez ich mobilizację ze stabilnych form chemicznych. Dzieje się tak przede wszystkim za sprawą zakwaszania wody i gleby. Zakwaszenie środowiska powoduje, że kationy metali połączone z cząsteczkami naładowanymi ujemnie ulegają reakcji wymiany z jonami wodorowymi. W ten sposób w środowisku zwiększa się liczba form jonowych metali (Tack i Verloo, 1995). Inny mechanizm mobilizacji metali związany jest z pojawianiem się warunków beztlenowych. Na przykład eutrofizacja zbiorników wodnych powoduje szybki spadek stężenia tlenu rozpuszczonego w wodzie, a to z kolei prowadzi do redukcji tlenków niektórych metali do form jonowych (Bjerregaard i Andersen, 2007).

W środowisku wodnym metale występują w kilku różnych formach, tj. w postaci wolnych jonów, jonów w stanie hydratacji, kompleksów organicznych i nieorganicznych oraz w połączeniach z nierozpuszczalnymi cząsteczkami organicznymi i nieorganicznymi. Spośród form nieorganicznych najczę-

ściej w wodzie występują wodorotlenki, węglany, siarczany, chlorki oraz jony metali (Dojlido 1987; Bjerregaard i Andersen, 2007). Formy te znajdują się we względnie stałej równowadze, która jednak może zostać zakłócona przez zmieniające się w zbiorniku wodnym warunki fizykochemiczne, takie jak pH, twardość wody, stężenie i powinowactwo ligandów do metali ciężkich, szybkość przepływu wody, natlenienie, temperatura wody czy też ukształtowanie zbiornika wodnego (Appelblad i in., 1999). Na przykład stwierdzono, że mieszanie się wody morskiej i rzecznej w estuariach nasila procesy sedymentacyjne, podczas których wolne lub rozpuszczone jony metali zostają wiązane w cząsteczkach osadów (Bjerregaard i Andersen, 2007).

Ważną grupę ligandów metali ciężkich w środowisku wodnym stanowią substancje humusowe. Jest to heterogenna grupa związków rozpuszczonych, zawieszonych w wodzie lub tworzących osady. Analiza chemiczna wody pod kątem zawartości substancji organicznych pozwala wyróżnić tzw. ogólny węgiel organiczny (OWO). Parametr ten obejmuje frakcję rozpuszczonego węgla organicznego (RWO) oraz związki organiczne o dużej masie cząsteczkowej nierozpuszczone w wodzie (Ouyang, 2003). Cząstki stanowiące frakcję rozpuszczonego węgla organicznego wiążą się z metalami poprzez wiązania koordynacyjne i tworzą związki o charakterze kompleksów (Gondar i in., 2006). Największy rezerwuuar metali w zbiornikach wodnych stanowią jednak osady denne (Škvarla, 1998). Duże cząstki organiczne i nieorganiczne zawieszane w wodzie lub tworzące osady posiadają na swej powierzchni grupy tlenowe O, które wykazują wysokie powinowactwo do kationów metali. Metale wiązane są zarówno z cząstkami organicznymi i nieorganicznymi osadów w wyniku oddziaływań fizycznych i chemicznych. Oddziaływania fizyczne związane są przede wszystkim z obecnością różnoimiennych ładunków na cząstkach sedymentów i jonach znajdujących się w wodzie. Istotną rolę odgrywają także oddziaływania cząsteczek o charakterze dipoli. Do procesów chemicznych prowadzących do związania kationów metali w osadach zalicza się wytrącanie osadów, reakcje wymiany, reakcje substytucji, a także dyfuzję (Bjerregaard i Andersen, 2007). Jony metali tworzą w osadach względnie stałe formy. Jednak w pewnych warunkach może dochodzić do ich mobilizacji. Przejście kationów metali z fazy stałej osadów do fazy rozpuszczonej w wodzie związane jest ze zmianą właściwości fizykochemicznych wody lub osadów. Właściwości te zależą przede wszystkim od zasolenia, pH środowiska, zawartości związków organicznych, stężenia związków siarki i żelaza, które w środowisku beztlenowym odgrywają rolę akceptorów elektronów i potencjału oksydacyjno-redukcyjnego. Wykazano również, że substancje organiczne pełniące rolę ligandów

metali ciężkich w środowisku wodnym bardzo intensywnie pochłaniają energię promieniowania UV (Williamson, 1996). Zjawisko to może być przyczyną zwiększenia dostępności biologicznej metali dla zwierząt wodnych.

## 1.5. Uzasadnienie i cel badań

Organizmy żyjące w środowisku naturalnym poddawane są ciągłej presji czynników biologicznych, fizycznych i chemicznych. W określonym momencie czasu organizm musi zmagać się z wieloma czynnikami działającymi jednocześnie, które mogą wchodzić z sobą w różnego rodzaju interakcje. Część interakcji zachodzi w środowisku poza tkankami ustroju w tzw. fazie dostępności biologicznej. Inne natomiast odbywają się w obrębie żywych struktur na różnych etapach wchłaniania, przemieszczania, biotransformacji i wiązania z docelowymi elementami.

Skażenie środowiska metalami ciężkimi ma duże znaczenie dla funkcjonowania ekosystemów wodnych. Są to pierwiastki o silnych właściwościach toksycznych i dużej aktywności chemicznej. Z tego powodu metale łatwo wchodzi w interakcje z różnego rodzaju czynnikami chemicznymi i biologicznymi występującymi w środowisku wodnym. Część z tych interakcji, na przykład wiązanie się z ligandami organicznymi lub nieorganicznymi, może prowadzić do zmniejszenia ich dostępności biologicznej. Jednak wiele czynników chemicznych i fizycznych może być przyczyną mobilizacji kationów metali z form o niskiej dostępności biologicznej. W takiej sytuacji może dojść do dużej kumulacji metali w tkankach organizmów żywych. Ponadto organizmy żywe wykazują zróżnicowanie międzygatunkowe pod względem wrażliwości na toksyczne metale oraz zdolności do ich wchłaniania, transformacji, kumulacji i wydalania.

W niniejszej pracy przyjęto następujące założenia:

- kumulacja metali ciężkich w tkankach zwierząt wodnych zależy od ich stężenia w środowisku wodnym oraz od form chemicznych, w jakich metale w środowisku występują,
- organizmy zwierząt wodnych wykazują zróżnicowanie gatunkowe pod względem stopnia kumulacji metali ciężkich w tkankach,
- dostępność biologiczna metali ciężkich w środowisku wodnym jest między innymi związana ze stężeniem ligandów organicznych oraz konkurencją z innymi kationami w narządach odpowiedzialnych za wychwyt jonów ze środowiska, niektóre czynniki fizyczne, na przykład promieniowanie UV, mogą wpływać na kumulację metali ciężkich u zwierząt wod-

nych. Bezpośredniego wpływu promieniowania UV na wychwyty metali ciężkich ze środowiska można oczekiwać u tych gatunków zwierząt, u których zewnętrzne powłoki ciała biorą udział w wymianie jonów ze środowiskiem i są odpowiedzialne za utrzymanie równowagi osmotycznej. Można również oczekiwać, że promieniowanie UV wpływa na specjację chemiczną metali w środowisku wodnym poprzez fotolizę organicznych ligandów metali ciężkich. Prowadzi to do wzrostu dostępności biologicznej metali dla wielu różnych grup organizmów wodnych,

- kumulacja metali ciężkich prowadzi do zaburzeń gospodarki mineralnej, co jest jedną z istotnych przyczyn zachwiania homeostazy i wzrostu śmiertelności u organizmów wodnych.

Celem podjętych badań jest:

- zbadanie całkowitego stężenia oraz stężenia form rozpuszczonych i nierozpuszczonych miedzi, kadmu, żelaza i ołowiu w wodzie i osadach dennych kilku zbiorników wodnych w województwie małopolskim, tj. Jezioro Rożnowskie; rzeka Wisła, stanowisko w Nowym Brzesku; starorzecze Wisły, gmina Wawrzeńczyce; staw hodowlany w Słupowie, powiat miechowski; oraz w województwie świętokrzyskim w starorzeczu Nidy w Pińczowie,
- porównanie zawartości metali ciężkich u błotniarki stawowej (*Lymnaea stagnalis*) i skójki zaostrej (*Unio tumidus*) pochodzących ze zbiorników wodnych różniących się pod względem zanieczyszczenia i specjacji metali ciężkich,
- zbadanie międzygatunkowych różnic w kumulacji metali ciężkich u ryb: okonia (*Perca fluviatilis*), jazia (*Leuciscus idus*), karasia (*Carassius carassius*),
- ocena poziomu kumulacji miedzi, żelaza, ołowiu i kadmu w narządach leszcza (*Abramis brama*) pochodzącego z kilku zbiorników wodnych różniących się pod względem zanieczyszczenia i specjacji metali ciężkich,
- zbadanie wpływu substancji humusowych na biologiczną dostępność kadmu dla skójki zaostrej (*Unio tumidus*) i błotniarki stawowej (*Lymnaea stagnalis*),
- analiza interakcji między kadmem i wapniem, magnezem, żelazem, cynkiem i miedzią u skójki zaostrej i larw żaby trawnej,
- ocena wpływu promieniowania UV na kumulację kadmu, ołowiu i miedzi u larw żaby trawnej (*Rana temporaria*),
- zbadanie wpływu promieniowania UV na biologiczną dostępność kadmu dla skójki zaostrej (*Unio tumidus*) w obecności kwasu humusowego.



## 2. Materiał i metodyka badań

### 2.1. Zwierzęta

Badania zostały przeprowadzone na kilku gatunkach bezkręgowców i kręgowców żyjących w środowisku wodnym, tj. błotniarce stawowej (*Lymnaea stagnalis*), skójkce zaostrowanej (*Unio tumidus*), jaziu (*Leuciscus idus*), okoniu (*Percu fluviatilis*), karasiu (*Carassius carassius*), leszczu (*Abramis brama*) i larwach żaby trawnej (*Rana temporaria*). Zwierzęta zostały odłowione w kilku zbiornikach wodnych na terenie Polski południowej. Błotniarka stawowa pochodziła ze sztucznych stawów ogrodowych położonych w Pleśnej (woj. małopolskie) oraz ze starorzecza Nidy znajdującego się w Pińczowie (woj. świętokrzyskie). Skójkka zaostrowana została odłowiona w starorzeczu Nidy w Pińczowie oraz w Jeziorze Rożnowskim. Okoń, jaź, karaś pochodziły ze stawu hodowlanego znajdującego się w miejscowości Słupów, powiat miechowski, woj. małopolskie. Leszcz odłowiony został na trzech stanowiskach: w stawie hodowlanym w Słupowie; rzece Wiśle – stanowisko w Nowym Brzesku; starorzeczu Wisły – gmina Wawrzeńczyce (woj. małopolskie). Na wybranych stanowiskach odłowiono po 50 osobników błotniarki stawowej, 50 osobników skójkki zaostrowanej oraz po 10 ryb każdego gatunku. Larwy żaby trawnej zostały wyhodowane ze skrzeku zebranego w stawie rybnym w miejscowości Łuczyce, gmina Kocmyrzów-Luborzyca k. Krakowa. Ryby, małże i ślimaki przeznaczone do badań monitoringowych bezpośrednio po przewiezieniu do laboratorium poddano rutynowym procedurom mającym na celu przygotowanie zmineralizowanych próbek narządów do pomiarów zawartości metali.

Druga część badań poświęcona była oddziaływaniu wybranych czynników fizycznych i chemicznych na kumulację metali ciężkich u błotniarki stawowej, skójkki zaostrowanej i larw żaby trawnej. Larwy żaby trawnej były poddawane łącznemu działaniu promieniowania UV i jonów ołowiu, miedzi lub kadmu przez 3 dni. Dzielne dawki promieniowania biologicznie efektyw-

nego wynosiły: UV-A=0,24 kJ·m<sup>-2</sup>; UV-B=2,71 kJ·m<sup>-2</sup>. Stężenie jonów miedzi w hodowlach larw wynosiło 0,2 mg·l<sup>-1</sup>. Kadm i ołów stosowane były w stężeniu 1 mg·l<sup>-1</sup>. Larwy hodowane w obecności ołowiu zostały po zakończeniu ekspozycji na jony Pb<sup>2+</sup> przeniesione do czystej wody na 3 dni. Odtruwanie larw hodowanych w roztworze jonów Cd<sup>2+</sup> trwało 28 dni. U kijanek hodowanych w roztworze miedzi (każda grupa składała się z n=10 osobników) oznaczono zawartość Cu po 3 dniach zatrucia. Zawartość ołowiu u larw eksponowanych na jony Pb<sup>2+</sup> (każda grupa składała się z n=10 osobników) oznaczana była po 3 dniach zatrucia i po 3 dniach odtruwania. Z kolei zawartość kadmu u larw hodowanych w roztworach Cd<sup>2+</sup> oznaczono po 3 dniach zatrucia oraz po 3, 14 i 28 dniach odtruwania (w każdym przedziale czasowym wykonano n=5 pomiarów). Larwy w czasie odtruwania były naświetlane promieniowaniem UV. U kijanek hodowanych w roztworze kadmu oznaczono dodatkowo śmiertelność (każda grupa składała się z n=22–30 osobników) oraz zawartość miedzi, cynku, żelaza, wapnia, magnezu, sodu i potasu. Szczegółowa metodyka tych badań została opisana przez Formickiego i in. (2006, 2008a, 2008b).

Badania nad wpływem kwasu humusowego i promieniowania UV na dostępność biologiczną kadmu przeprowadzono na błotniarce stawowej i skójkę zaostrożonej. W badaniach tych wykorzystano kwas humusowy FLUKA (Sigma-Aldrich). Błotniarka stawowa (grupy badawcze składały się z n=5 osobników) hodowana była w roztworze jonów kadmu (1 mg·l<sup>-1</sup>) lub kwasu humusowego (43 mg·l<sup>-1</sup>) i jonów kadmu przez okres 24 godzin. Po zakończeniu ekspozycji na jony Cd<sup>2+</sup> oznaczono zawartość kadmu, miedzi i cynku oraz aktywność katalazy w gruczole trzustkowątrobowym badanych zwierząt. Skójkę zaostrożoną (grupy badawcze składały się z n=5 osobników) umieszczono w roztworach jonów kadmu (0,25; 0,5 i 1 mg·l<sup>-1</sup>) i kwasu humusowego (stężenie ogólnego węgla organicznego, OWO=28,8 mg·l<sup>-1</sup>) na okres 24 godzin. Przygotowane roztwory były naświetlane promieniowaniem UV przez 12 godzin (UV-A=2,46·10<sup>-4</sup> W·cm<sup>-2</sup>; UV-B=3,59·10<sup>-4</sup> W·cm<sup>-2</sup>) przed umieszczeniem w nich zwierząt. Po zakończeniu eksperymentu oznaczono zawartość kadmu, miedzi, cynku, żelaza, wapnia, magnezu, sodu i potasu w skrzelach, gruczole trzustkowątrobowym, płaszczu i nodze badanych małży. Szczegółowy opis metodyki tych badań można znaleźć w pracach Formickiego i in. (2007, 2009).

Na badania uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej nr 11/OP/2004 i 12/OP/2004 z dnia 10.02.2004 oraz zezwolenia Ministra Środowiska o numerach DLOiKog – 4201 – 181/00 z dnia 25.05.2000 i DOPog – 4201 – 02 – 1/05/aj ze stycznia 2005 roku.



## 2.2. Pomiary zawartości metali

Zawartość miedzi, cynku, żelaza, kadmu i ołowiu zbadano u ryb w skórze, skrzelach, wątrobie, mięśniach i kościach. U skójkii zaostrowanej zawartość metali zmierzono w gruczole trzustkowątrobowym, płaszczu, nodze i skrzelach. Natomiast u błotniarki stawowej zawartość badanych metali została oznaczona w nodze i gruczole trzustkowątrobowym. Masa każdej pobranej do badań próbki narządów wynosiła ok. 1 g. Ponadto pomiary zawartości metali wykonane zostały w całym ciele błotniarki stawowej i larw żaby trawnej. Pobrane narządy suszono w temperaturze 105°C do uzyskania suchej masy. Po uzyskaniu suchej masy narządy zważono i poddano procedurze mineralizacyjnej w mineralizatorze Velp Scientifica w stężonym kwasie azotowym w temperaturze 90°C aż do całkowitego rozpuszczenia tkanek.

W próbkach (n=10) wody pobranych ze zbiorników wodnych oznaczono pH, całkowite stężenie metali, a także stężenia ich form rozpuszczonych i nierozpuszczonych. W próbkach górnej warstwy osadu (n=10) zebranego z dna zbiorników wodnych wykonano analizy całkowitej zawartości metali oraz stężenia form rozpuszczonych metali w wodzie znajdującej się w osadzie. Głębokość pobranego osadu wynosiła 2–3 cm. W celu rozdzielenia form rozpuszczonych od form nierozpuszczonych metali wodę przefiltrowano przy pomocy mikromembrany filtracyjnej – średnica porów 0,45µm. Do przefiltrowanych próbek dodano kwasu azotowego w stosunku objętościowym 3:1 i mineralizowano w mineralizatorze ultrafioletowym Mineral 6 przez 1 godzinę. próbki osadu suszono w temperaturze 105°C, a następnie zmineralizowano w taki sam sposób jak tkanki zwierząt. Opis analizy wody z hodowli eksperymentalnych oraz zastosowane procedury badawcze można znaleźć w publikacjach Formickiego i współpracowników (2008a, 2009).

Pomiary zawartości metali ciężkich u larw żaby trawnej oraz stężenie form jonowych kadmu w próbkach wody pochodzących z hodowli eksperymentalnych wykonano metodą voltametryczną przy użyciu elektrody rtęciowej (CGMDE) i potencjostatu firmy MTM (Kraków, Polska). Metodyka wykonanych pomiarów voltametrycznych została przedstawiona przez Formickiego i współpracowników (2006, 2008a, 2008b, 2009). Zawartość metali w pozostałych tkankach, próbkach wody i osadów zmierzono techniką płomieniowej spektrofotometrii atomowej (FAAS). Do oznaczeń użyto spektrofotometru BUCK 200A wyposażonego w lampy z katodą wnątkową (HCL–hollow cathode lamp) wykorzystując płomień acetylen/powietrze. Wyniki obliczono na podstawie krzywej kalibracyjnej dla roztworów wzorcowych.

### 2.3. Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki zostały wstępnie przeanalizowane testem normalności Shapiro–Wilka oraz testem jednorodności wariancji Levene’a. Jeżeli badana seria wyników spełniała wymogi testów parametrycznych, dalszą analizę prowadzono przy pomocy jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA. Analizę *post hoc* wykonano przy pomocy testu Tukeya. W przypadku, gdy rozkład badanej cechy odbiegał od rozkładu normalnego lub nie został spełniony warunek homogeniczności wariancji, wyniki z poszczególnych grup porównywane były nieparametryczną analizą wariancji Kruskala–Wallisa, po przeprowadzeniu której wykonywano test U Manna–Whitneya. Oprócz wymienionych testów wykonano również obliczenia współczynnika  $r$  korelacji Pearsona. Różnice uznano za statystycznie istotne przy  $p < 0,05$  (Wołek, 2006). Analiza statystyczna została wykonana przy pomocy programu STATISTICA 7.1 Stat-Soft. Inc. 1984-2005.

## 3. Wyniki i dyskusja

### 3.1. Kumulacja metali ciężkich u zwierząt w środowisku wonym

#### 3.1.1. Kumulacja metali u wybranych bezkręgowców

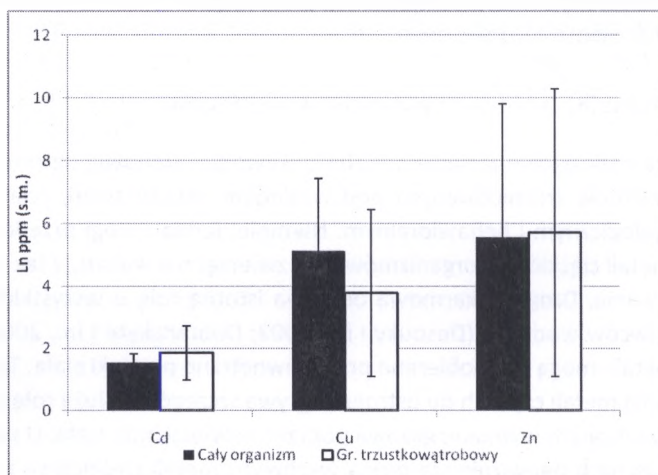
Zwierzęta bezkręgowce zasiedlające zbiorniki wodne stanowią ogromną grupę organizmów zróżnicowanych pod względem genetycznym, anatomicznym, fizjologicznym i behawioralnym. Niemniej jednak drogi przedostawiania się metali ciężkich do organizmów tych zwierząt nie wykazują tak dużego zróżnicowania. Droga pokarmowa odgrywa istotną rolę u wszystkich grup bezkręgowców wodnych (Desouky i in., 2002; Dobranskyte i in., 2006). Ponadto metale mogą być pobierane przez zewnętrzne powłoki ciała. Ta droga przenikania metali ciężkich do ustroju odgrywa szczególnie dużą rolę u zwierząt prowadzących wymianę gazową poprzez powierzchnię ciała. U zwierząt skrzelodysznych najważniejszą drogą wychwytu metali ciężkich są z reguły skrzela (Das i Jana, 1992). Metale ciężkie mogą być również wychwytywane z powietrza przez układ oddechowy zwierząt oddychających tlenem atmosferycznym (Desouky i in., 2002; Dobranskyte i in., 2006).

Bezkręgowce wodne wykazują bardzo duże zróżnicowanie pod względem wrażliwości na metale ciężkie. Na przykład toksyczność ostra chloreku kadmu dla stulbi pospolitej (*Hydra vulgaris*) oznaczona po 96 godzinach wynosiła 0,12 ppm (pesticideinfo, 2010), podczas gdy u omulka jadalnego (*Mytilus edulis*) toksyczność ostra kadmu po 96 godzinach wynosiła 25 ppm (Eisler, 1971).

Duże różnice międzygatunkowe dotyczą kumulacji metali ciężkich u zwierząt bezkręgowych. Kuczkowska-Kuźniar i współpracownicy (2009) stwierdzili, że pijawka rybia (*Piscicola geometra*) hodowana w roztworze jonów kadmu o stężeniu  $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  przez 24 godziny kumulowała kadm w stężeniu 0,07 ppm w przeliczeniu na suchą masę ciała (s.m). Ślimak błotniarka stawowa (*Lymnaea*

*stagnalis*) hodowany w takim samym roztworze jonów kadmu przez 24 godziny kumulował 108 ppm kadmu w gruczole trzustkowątrobowym w przeliczeniu na jego suchą masę (Formicki i in., 2007). Skójką zaostrożona (*Unio tumidus*) hodowana w analogicznych warunkach kumulowała w suchej masie gruczolu trzustkowątrobowego 17.58 ppm kadmu (Formicki i in., 2009).

Międzygatunkowe różnice dotyczące kumulacji metali ciężkich są z pewnością związane z innymi drogami pobierania metali oraz różnicami związanymi z procesami detoksykacyjnymi, jak np. synteza metalotioneiny i innych białek biorących udział w transporcie metali oraz znoszeniu ich toksycznego oddziaływania na tkanki.



**Wykres 1.** Porównanie średniego stężenia kadmu, miedzi i cynku (ppm s.m.) w gruczole trzustkowątrobowym i całym organizmie błotniarki stawowej (*Lymnaea stagnalis*) Formicki i Stawarz, 2006; Formicki i in. 2007

Poza cechami anatomicznymi i fizjologicznymi, kumulacja metali ciężkich zależy od ich stężenia w środowisku. Odnotowywane są ponadto różnice międzynarodowe dotyczące kumulacji metali ciężkich.

Badania prowadzone na błotniarce stawowej zasiedlającej sztuczne stawy ogrodowe w Pleśnej woj. małopolskie wykazały obecność kadmu u wszystkich osobników. Średnia zawartość tego pierwiastka wynosiła  $4,68 \pm 1,90$  ppm w suchej masie tkanki. Średnia zawartość cynku w suchej masie badanych osobników wynosiła  $257 \pm 83$  ppm. Średnia zawartość miedzi wynosiła w przeliczeniu na suchą masę tkanki  $166 \pm 12$  ppm.

Kumulowany kadm powodował istotne obniżenie zawartości cynku ( $r=0,83$ ;  $p=0,0027$ ) oraz miedzi ( $r=0,87$ ,  $p=0,001$ ). Stwierdzone zostały dodatnie korelacje między poziomem miedzi i cynku u badanych osobników ( $r=0,94$ ;  $p=0,000007$ ). Badania te wykazały, że sztuczne stawy ogrodowe są zanieczyszczone kadmem, co wpływa na kumulację tego pierwiastka u żyjących tam zwierząt. Skumulowany kadm powodował wypieranie z organizmów badanych osobników jonów cynku i miedzi, mających istotne znaczenie dla przemian fizjologicznych (Formicki i Stawarz, 2006; Formicki i in., 2007). W największej ilości kadm i cynk gromadziły się u badanych osobników błotniarki stawowej w gruczole trzustkowątrobowym. Narząd ten zawierał bowiem  $6,4 \pm 2,4$  ppm s.m. Cd i  $297,7 \pm 99,3$  ppm s.m. Zn. Miedź natomiast występowała w niższym stężeniu w gruczole trzustkowątrobowym ( $43,4 \pm 14,6$  ppm s.m.) niż w całym organizmie (Formicki i in., 2007) – (wykres 1, tabela 1). W odmienny sposób kształtowała się kumulacja metali w organizmie błotniarki stawowej pochodzącej ze starorzecza Nidy w Pińczowie. Zawartości miedzi w gruczole trzustkowątrobowym tych zwierząt wynosiła  $14,57 \pm 4,29$  ppm w przeliczeniu na suchą masę. W nodze miedź występowała w stężeniu  $9,60 \pm 1,98$  ppm w suchej masie narządu. Różnice w zawartości miedzi występujące między tymi narządami były statystycznie istotne ( $p=0,009$ ). Zawartość cynku w suchej masie gruczolu trzustkowątrobowego wynosiła  $111,32 \pm 27,83$  ppm. W nodze pierwiastek ten występował w stężeniu  $92,77 \pm 23,14$  ppm s.m. Różnice między badanymi narządami dotyczące zawartości cynku były statystycznie nieistotne ( $p=0,51$ ). Kadm występował w większym stężeniu w gruczole trzustkowątrobowym ( $3,39 \pm 1,18$  ppm s.m.) niż w nodze ( $2,34 \pm 0,66$  ppm s.m.). Różnice dotyczące zawartości kadmu występujące między gruczolem trzustkowątrobowym i nogą były statystycznie istotne ( $p=0,038$ ). Ołów podobnie jak inne pierwiastki występował w wyższym stężeniu w gruczole trzustkowątrobowym ( $13,84 \pm 3,39$  ppm s.m.) niż w nodze ( $11,42 \pm 3,23$  ppm s.m.) – tabela 1.

Porównanie kumulacji kadmu, miedzi i cynku w gruczole trzustkowątrobowym błotniarki stawowej ze sztucznych stawów ogrodowych z osobnikami pochodzącymi ze starorzecza Nidy wykazało, iż większe ilości metali kumulowały zwierzęta żyjące w zbiornikach sztucznych. Odnotowane różnice dotyczące kumulacji metali w gruczole trzustkowątrobowym były statystycznie istotne: miedź ( $p=0,000004$ ), cynk ( $p=0,000003$ ), kadm ( $p=0,001$ ) – (wykres 2, tabela 1). Wydaje się, że wyższa kumulacja metali u osobników zasiedlających sztuczne stawy ogrodowe może być związana z zabiegami pielęgnacyjnymi prowadzonymi w oczkach wodnych oraz w ich sąsiedztwie jak np. wprowadzanie nawozów potrzebnych do prawidłowego wzrostu roślin, aplikowanie

preparatów hamujących rozwój glonów czy też dokarmianie ryb. Źródłem metali ciężkich w oczkach wodnych mogą być również różne elementy instalacji wodnej zapewniające przepływ wody, jej natlenienie itp.

**Tabela 1.** Porównanie zawartości wybranych metali (ppm s.m.) u błotniarki stawowej zasiedlającej sztuczne i naturalne zbiorniki wodne

Tkanki/pierwiastki	Cu	Zn	Cd
Sztuczne stawy ogrodowe – Pleśna			
Całe ciało	166±12	257±83	4,68±1,9
Gr. trzustkowątrobowy	43,4±14,6###	297±99###	6,4±2,4##
Starorzecze Nidy – Pińczów			
Noga	9,60±1,97**	93±23	2,34±0,66*
Gr. trzustkowątrobowy	14,57±4,29**###	111±28###	3,39±0,18*##

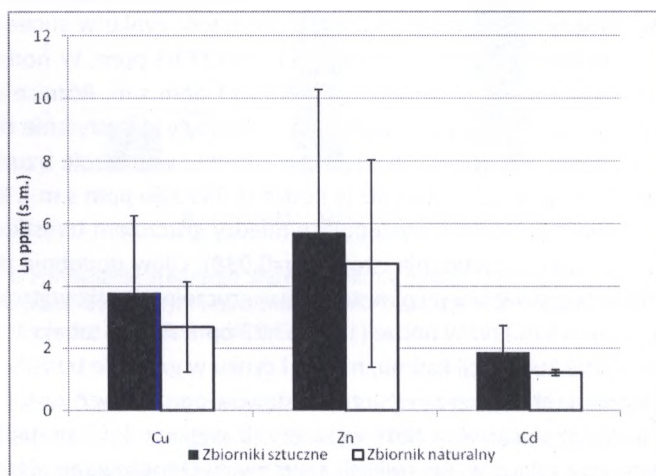
\*statystycznie istotne różnice między narządami ślimaków ze starorzecza Nidy przy  $p < 0,05$

\*\*statystycznie istotne różnice między narządami ślimaków ze starorzecza Nidy przy  $p < 0,01$

##statystycznie istotne różnice między gr. trzustkowątrobowym ślimaków z różnych środowisk przy  $p < 0,01$

### statystycznie istotne różnice między gr. trzustkowątrobowym ślimaków z różnych środowisk przy  $p < 0,001$

Formicki i Stawarz, 2006; Formicki i in. 2007



**Wykres 2.** Porównanie średniego stężenia kadmu, miedzi i cyku (ppm s.m.) w gruczole trzustkowątrobowym błotniarki stawowej (*Lymnaea stagnalis*) bytującej w sztucznych stawach ogrodowych i starorzeczu Nidy

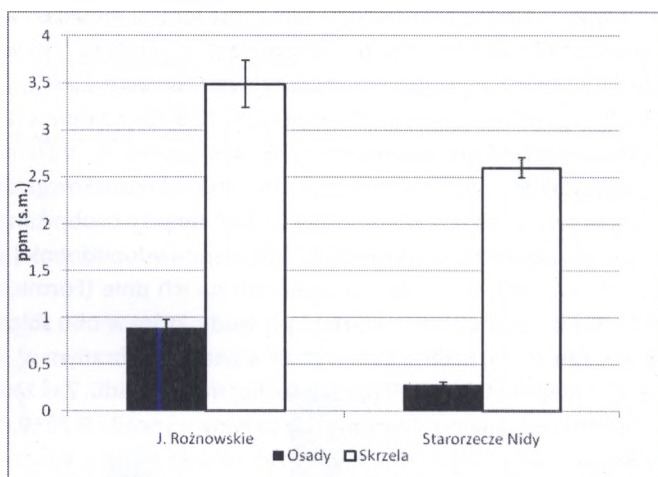
Formicki i Stawarz, 2006; Formicki i in. 2007

Różnice w zawartości metali ciężkich między osobnikami zasiedlającymi różne zbiorniki wodne zostały również stwierdzone u skójki zaostrej

(*Unio tumidus*). Formicki i Stawarz (2010) wykazali, że skójką zaostrzona zasiedlająca Jezioro Rożnowskie kumulowała więcej kadmu niż osobniki tego samego gatunku pochodzące ze starorzecza Nidy w Pińczowie. Małże z Jeziora Rożnowskiego zawierały bowiem  $1,68 \pm 0,24$  ppm s.m. kadmu w płaszczu,  $1,82 \pm 0,19$  ppm s.m. w nodze,  $2,53 \pm 0,22$  ppm s.m. w gruczole trzustkowątrobowym oraz  $3,49 \pm 0,25$  ppm s.m. w skrzelach. Tymczasem małże ze starorzecza Nidy zawierały kadm w następującym stężeniu:  $0,54 \pm 0,01$  ppm s.m. – płaszcz;  $0,36 \pm 0,07$  ppm s.m. – noga;  $0,47 \pm 0,06$  ppm s.m. – gruczoł trzustkowątrobowy;  $2,60 \pm 0,11$  ppm s.m. – skrzela (wykres 3). Badania prowadzone przez Stawarza (2009) wykazały jeszcze wyższą kumulację kadmu w tkankach skójką zaostrzonej z Jeziora Rożnowskiego. Osobniki te zawierały  $5,22 \pm 1,78$  ppm s.m. kadmu w nodze;  $5,76 \pm 1,14$  ppm s.m. w gruczole trzustkowątrobowym,  $4,58 \pm 2,39$  ppm s.m. w muszli i  $5,49$  ppm s.m. w pozostałych tkankach miękkich. Stawarz (2009) podał również zawartość innych metali u badanych małży. Zawartość ołowiu wynosiła u tych zwierząt od  $41,91 \pm 17,36$  w muszli do  $146,65 \pm 87,82$  ppm s.m. w gruczole trzustkowątrobowym. Zawartość miedzi wahała się w granicach  $3,84 \pm 1,78$  w muszli do  $22,87 \pm 6,53$  ppm s.m. w gruczole trzustkowątrobowym. Natomiast cynk występował w stężeniach od  $6,79 \pm 2,97$  (muszla) do  $165,73 \pm 44,84$  ppm s.m. (gruczoł trzustkowątrobowy).

Zaobserwowane różnice w kumulacji kadmu między osobnikami skójką zaostrzonej z porównywanych zbiorników były najprawdopodobniej związane z obecnością kadmu w osadzie zalegającym na ich dnie (Formicki i Stawarz, 2010). Nie było natomiast związku z pH wody, które w obu zbiornikach było zbliżone. Zawartość kadmu była wyższa w osadzie zebranym w Jeziorze Rożnowskim i wynosiła  $0,89 \pm 0,09$  ppm w suchej masie osadu. Zaś zawartość kadmu w osadzie zebranym z dna starorzecza Nidy wynosiła  $0,28 \pm 0,03$  ppm w suchej masie osadu. Różnice w zawartości kadmu między osadem z Jeziora Rożnowskiego a osadem ze starorzecza Nidy były statystycznie istotne ( $p < 0,0001$ ) (wykres 3). Nie było natomiast różnic dotyczących stężenia kadmu w wodzie między badanymi zbiornikami. Woda z Jeziora Rożnowskiego zawierała kadm w stężeniu  $0,14 \pm 0,01$  ppm., woda ze starorzecza Nidy w stężeniu  $0,16 \pm 0,02$  ppm. Jedną z przyczyn występowania różnic w zanieczyszczeniu obu zbiorników może być odmienny opad pyłu. Opad pyłu mierzony w pobliżu Jeziora Rożnowskiego wynosi  $53 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$  na rok. Przy czym opad kadmu wynosi  $0.3\text{--}1.4 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$  rocznie (WIOŚ, 2004). Opad pyłu w okolicach Pińczowa wynoszący  $60\text{--}66 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$  na rok jest wyższy niż w okolicach Jeziora Rożnowskiego. Jednak pył ten zawiera niewielkie ilości kadmu – poniżej  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$  na rok (WIOŚ, 2000). Uzyskane wyniki wskazują, że w badanych

zbiornikach głównym rezerwuarem kadmu są osady dennie. Spostrzeżenie to jest zgodne z wynikami badań Müller i in. (1997) wykazującymi, że największą rolę w usuwaniu kadmu z wody odgrywiają procesy sedymentacyjne. Ulegające sedymentacji cząstki, takie jak materiał organiczny, węglan wapnia, tlenki manganu i żelaza, posiadają duże powierzchnie, na których znajdują się liczne miejsca wykazujące powinowactwo do metali ciężkich (Nascimento i in., 2006). Uważa się, że metale ciężkie związane w osadach mają niską dostępność biologiczną. Niemniej jednak skójką zaostrożoną należy do grupy tzw. organizmów filtrujących, które wykorzystują część osadu gromadzącego się przy dnie jako pokarm. Tryb życia tych zwierząt z pewnością powoduje, że stopień kumulacji metali ciężkich w ich tkankach związany jest głównie z zawartością metali w osadzie przydennym.



**Wykres 3.** Porównanie zawartości kadmu (ppm s.m.) w osadach dennych Jeziora Rożnowskiego i starorzecza Nidy z zawartością kadmu w skrzelach skóry zaostrożonej zasiedlającej badane zbiorniki wodne

Formicki i in., 2009; Formicki i Stawarz, 2010

Podobną zawartość kadmu w organizmie małży *Lamellidens marginalis* stwierdzili Das i Jana (1992). Autorzy ci wykazali, że najwięcej kadmu gromadziło się w gruczole trzustkowątrobowym, a następnie w skrzelach i płaszczu. W moich badaniach odnotowany został odmienny rozkład kadmu u małży z badanych stanowisk. Skójką zaostrożoną z Jeziora Rożnowskiego najwięcej kadmu kumulowała w skrzelach, następnie w gruczole trzustkowątrobowym, nodze



i płaszczu. Osobniki odłowione w starorzeczu Nidy również zawierały najwięcej kadmu w skrzelach, na drugim miejscu pod względem zawartości kadmu był płaszcz, a następnie gruczoł trzustkowątrobowy i noga. Badania Formickiego i in. (2009) nad biologiczną dostępnością kadmu dla skójkii zaostrowanej wykazały najwyższą kumulację tego pierwiastka w skrzelach. Na drugim miejscu pod względem zawartości kadmu znajdował się płaszcz, a następnie gruczoł trzustkowątrobowy i noga. Podobnie jak u badanych małży błotniarka stawowa zawierała więcej metali ciężkich w gruczole trzustkowątrobowym niż w nodze.

Zaobserwowany rozkład metali ciężkich w narządach błotniarki stawowej jest zgodny z wynikami uzyskanymi przez Coeurdassiera i współpracowników (2003), którzy prowadzili badania na tym samym gatunku ślimaka. Rozkład zawartości metali w narządach błotniarki stawowej i skójkii zaostrowanej wskazuje najważniejsze drogi przedostawania się metali ciężkich do organizmów badanych zwierząt. U ślimaków płucodysznych najważniejszą rolę pod tym względem pełni układ pokarmowy oraz w mniejszym stopniu skóra (Desouky i in., 2002; Dobranskyte i in., 2006), natomiast u zwierząt skrzelodysznych metale ciężkie dostają się do tkanek głównie poprzez skrzela i w mniejszym stopniu przez układ pokarmowy (Das i Jana, 1992). Nie bez znaczenia dla opisanego rozkładu zawartości metali jest fakt, że skrzela pobierają metale ciężkie bezpośrednio ze środowiska. Do pozostałych narządów kadm i miedź przedostają się za pośrednictwem krwi. Uzyskane wyniki wskazują również na wysoką zdolność gruczołu trzustkowątrobowego do kumulacji metali ciężkich. Zgodnie z danymi literaturowymi zjawisko to należy wiązać z dużą zawartością metalotioneiny w tym narządzie i jej podstawową rolą w procesach detoksyfikacyjnych (Balamurugan i Schaffner, 2006; Bouskill i in., 2006; Heeseon i in., 2007). Warto także zwrócić uwagę na wysoką zawartość kadmu w płaszczu skójkii zaostrowanej odłowionej w starorzeczu Nidy. Zjawisko to jest prawdopodobnie związane z rolą, jaką pełni płaszcz w procesach detoksyfikacyjnych, a polegającą na wbudowywaniu metali ciężkich w struktury tworzonej muszli (Walsh i in., 1995; Jing i in., 2007).

### 3.1.2. Kumulacja metali u wybranych kręgowców

U kręgowców wodnych podstawową rolę w wymianie jonów ze środowiskiem pełnią skrzela, zewnętrzne powłoki ciała oraz układ pokarmowy.

Metale ciężkie wykazują silne właściwości toksyczne w organizmach zwierząt kręgowych. Zwierzęta wykazują często jednak zróżnicowaną pod względem gatunkowym wrażliwość na metale ciężkie. Toksyczność ostro

jonów kadmu 96h–LC50 dla zarodków *Rana pipiens* wynosiła 3068  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (Birge i in., 1975). Natomiast w przedziale czasowym 120–216 godzin toksyczność ostra kadmu dla zarodków tego gatunku płaza wynosiła od 1554 do 307  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (Birge i in., 1975). Toksyczność ostra jonów kadmu wyznaczona dla larw żaby trawnej po 96h ekspozycji wynosiła 3155  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (Formicki i in., 2008a). Zbliżoną toksyczność ostrą kadmu (96h–LC50=2190–6770  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) dla *Bufo arenarum* wyznaczyli Ferrari i in. (1993). Z drugiej strony larwy *Rana ridibunda* mają znacznie mniejszą wrażliwość na jony kadmu. Stwierdzono bowiem, że toksyczność ostra kadmu dla kijanek tego gatunku mierzona po 96 godzinach eksperymentu (96h–LC50) wynosi aż 71800  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (Ferrari i in., 1993). Podobnie zróżnicowana jest wrażliwość zarodków i larw płazów na inne metale ciężkie. Dobrym tego przykładem są badania nad toksycznością ostrą miedzi. W zależności od badanego gatunku oraz warunków, w jakich prowadzony był eksperyment, wartość LC50 oznaczona dla zarodków po 96 godzinach wynosiła od 60  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  dla *Rana pipiens* do 3590  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  dla *Ambystoma opacum* (Birge i Black, 1979). Po 7 dniach ekspozycji na jony miedzi wartość LC50 dla zarodków *Hyla chrysoscelis* wynosiła 40  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Natomiast toksyczność ostra miedzi oznaczona po 8 dniach wynosiła od 50  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  dla *Rana pipiens* do 770  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  dla *Ambystoma opacum* (Birge i Black, 1979).

Ryby również wykazują zróżnicowaną wrażliwość na metale ciężkie. Toksyczność ostra siarczanu cynku dla leszcza (*Abramis brama*) 96h–LC50 wynosi 20000  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Zaś dla okonia (*Perca fluviatilis*) toksyczność 96h–LC50 tego samego związku wynosi 10000  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (pesticideinfo, 2010).

Międzygatunkowe różnice w kumulacji metali ciężkich zbadano u 3 gatunków ryb, tj. okonia (*Perca fluviatilis*), jazia (*Leuciscus idus*) i karasia (*Carassius carassius*). Ryby pochodziły z tego samego zbiornika wodnego z hodowli ryb w Słupowie, powiat miechowski. Analizy wody pochodzącej ze zbiornika wykazały obecność metali. Szczegółowe dane dotyczące form chemicznych metali w badanym zbiorniku przedstawiają tabele 4 i 5. Pierwiastki stwierdzone w wodzie i w osadzie zebranym z dna obecne były również w tkankach odłowionych ryb. Najwyższą koncentrację miedzi, ołowiu i kadmu stwierdzono w kościach ryb. Świadczy to zapewne o roli, jaką pełni tkanka kostna w gromadzeniu stabilnych i względnie nieszkodliwych form metali ciężkich. Wysoka zawartość niklu, miedzi, cynku, aluminium, strontu w tkance kostnej ryb w porównaniu z innymi tkankami została stwierdzona między innymi przez Moiseenko i Kudryavtseva (2001). Odkładanie się metali ciężkich w tkance kostnej ryb może być jednak przyczyną odwapniania kości, co z kolei prowadzi do ich zwyrodnienia oraz powstawania kamicy nerkowej (Spry and Viener, 1991, Moiseenko i Kudryavtseva, 2001).

Spośród badanych metali najwyższe stężenie we wszystkich narządach osiągał cynk. W skrzelach i kościach okonia zawartość cynku przekraczała 100 ppm, a skrzela karasia zawierały ponad 300 ppm cynku. U ssaków zawartość cynku w zależności od analizowanej tkanki waha się w granicach 10 do 100 ppm (Hambidge i in., 1986). Zawartość cynku u ryb wykazuje duże zróżnicowanie gatunkowe. U niektórych gatunków występuje bardzo wysokie stężenie cynku. Zawartość cynku w tkankach pstrąga potokowego (*Salmo trutta*) wynosi od 34 w mięśniach do do 347 ppm w skrzelach. Z kolei sieja pospolita (*Coregonus lavaretus*) zawiera od 26 ppm cynku w mięśniach do 577 ppm w skrzelach (Moiseenko i Kudryavtseva, 2001). Karp (*Cyprinus carpio*) w tkankach przewodu pokarmowego gromadzi cynk w stężeniu przekraczającym 300 ppm. Wykazano, że cynk w ścianie jelit karpia wiąże się przede wszystkim z białkami błon komórkowych, a także błony jądrowej. Fenomen ten nie został jeszcze dobrze poznany, ale wydaje się, że jest to sposób na magazynowanie cynku w formie, z której może on być szybko mobilizowany na potrzeby metabolizmu komórkowego (Jeng i in., 1999). U badanych przeze mnie ryb cynk w największej ilości występował w skrzelach u okonia i karasia. Poziom cynku w skrzelach tych ryb znacznie przewyższał zawartość cynku w skrzelach jазia. Różnice między jaziem i okoniem ( $p=0,0007$ ) oraz jaziem i karasiem ( $p=0,0001$ ) były statystycznie istotne (tabela 2).

Zawartość pozostałych pierwiastków w skrzelach również była bardzo wysoka. W narządzie tym w szczególnie wysokim stężeniu występował ołów, przy czym najwyższą zawartość tego metalu odnotowano w skrzelach jазia. Zawartość ołowiu w skrzelach jазia różniła się w sposób statystycznie istotny ( $p=0,02$ ) od zawartości ołowiu w skrzelach karasia. Wysoki poziom wszystkich badanych metali w skrzelach ryb wskazuje na najważniejszą drogę przedostawania się metali ciężkich do organizmów tych zwierząt. Śluz pokrywający skrzela stanowi środowisko, w którym łatwo dochodzi do wymiany jonów między nabłonkiem a środowiskiem wodnym. Odczyn mikrośrodowiska skrzeli jest regulowany przez przemieszczanie się  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CO}_2$ , i  $\text{HCO}_3^-$  przez nabłonek (Tao i in., 2000). Playle i Wood (1989) wykazali, że obniżenie odczynu śluzu pokrywającego skrzela odgrywa ważną rolę w mobilizacji metali z form, w których wykazują one małą dostępność dla ryb. Wydzielanie przez nabłonek skrzeli  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CO}_2$ , i  $\text{HCO}_3^-$  jest bezpośrednio związane z aktywnością metaboliczną oraz kondycją zdrowotną zwierząt (Tao i in., 2000). Wydaje się zatem, że właściwości mikrośrodowiska skrzeli mogą odgrywać istotną rolę w zróżnicowaniu międzygatunkowym a nawet osobniczym pod względem kumulacji metali ciężkich. Różnice międzygatunkowe poza wła-

ściwościami fizjologicznymi wpływającymi na mikrośrodowisko skrzelii związane są również z trybem życia ryb. Moiseenko i współpracownicy (1995) wykazali wyższą kumulację metali u ryb żerujących w pobliżu dna zbiorników wodnych, gdzie metale występują w postaci związanej z osadami. Spostrzeżenie to nie znajduje jednak potwierdzenia w prezentowanych w niniejszej pracy wynikach. Spośród 3 gatunków badanych ryb karaś najchętniej poszukuje pokarmu w pobliżu dna (Zamachowski i Żyśk, 1997). Tymczasem ryba ta miała najniższy poziom kadmu i ołowiu w tkankach.

Pod względem użytkowym bardzo ważny problem stanowi zanieczyszczenie mięsa ryb metalami ciężkimi. Zawartość metali ciężkich u badanych ryb była z reguły niższa niż w innych narządach. Spostrzeżenie to jest zgodne z wynikami badań innych autorów (Gbem i in., 2001). Przeprowadzone badania wykazały największą zawartość ołowiu i kadmu w mięśniach jazia. Zawartość ołowiu w mięśniach jazia różniła się w sposób statystycznie istotny od zawartości tego metalu w mięśniach karasia ( $p=0,045$ ). Okoń kumulował w mięśniach podobną ilość ołowiu co jaź (wykres 4). Nie było również istotnych różnic między badanymi rybami pod względem zawartości kadmu w mięśniach. Szczegółowe wyniki badań zostały zebrane w tabeli 2.

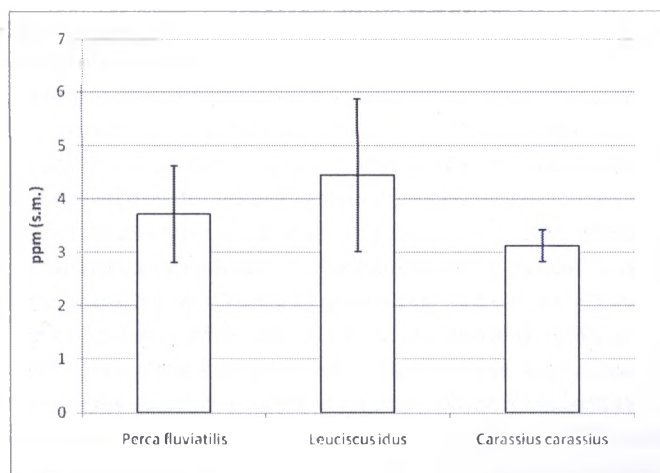
**Tabela 2.** Zawartość metali ciężkich (ppm s.m.) w wybranych narządach ryb odłowionych w stawie hodowlanym – Słupów, powiat miechowski

Narząd	Cu	Zn	Pb	Cd
<i>Okoń (Perca fluviatilis)</i>				
Skrzela	2,86±0,70	138,86±42,80 <sup>k</sup>	15,72±6,11	1,15±0,40
Skóra	1,92±0,52 <sup>i</sup>	47,73±31,45	10,53±2,97 <sup>h</sup>	0,85±0,25
Mięśnie	1,24±0,32 <sup>k</sup>	15,88±6,63 <sup>k</sup>	3,71±0,90	0,37±0,31
Kości	5,55±3,15	115,77±37,45	67,59±16,72 <sup>k</sup>	5,26±2,30 <sup>k</sup>
<i>Jaź (Leuciscus idus)</i>				
Skrzela	3,50±1,49	64,46±15,30 <sup>ok</sup>	18,26±8,65 <sup>k</sup>	1,45±0,70
Skóra	2,77±0,82 <sup>ok</sup>	45,79±32,49	8,18±2,87 <sup>k</sup>	0,80±0,32
Mięśnie	1,66±0,54	25,08±15,63 <sup>k</sup>	4,44±1,43 <sup>k</sup>	0,42±0,16
Kości	7,15±1,96 <sup>k</sup>	133,83±117,08	50,40±17,36 <sup>k</sup>	4,31±1,52 <sup>k</sup>
<i>Karaś (Carassius carassius)</i>				
Skrzela	2,74±0,56	339,32±54,62 <sup>oi</sup>	10,29±2,16 <sup>i</sup>	0,95±0,41
Skóra	2,05±0,56 <sup>i</sup>	48,82±22,29	4,56±2,33 <sup>oi</sup>	0,65±0,50
Mięśnie	2,07±0,51 <sup>o</sup>	42,53±21,35 <sup>oi</sup>	3,12±1,33 <sup>i</sup>	0,30±0,18
Kości	3,45±2,30 <sup>i</sup>	95,96±38,68	19,42±10,75 <sup>oi</sup>	1,54±0,59 <sup>oi</sup>

o – statystycznie istotne różnice w porównaniu z okoniem

j – statystycznie istotne różnice w porównaniu z jaziem

k – statystycznie istotne różnice w porównaniu z karasiem



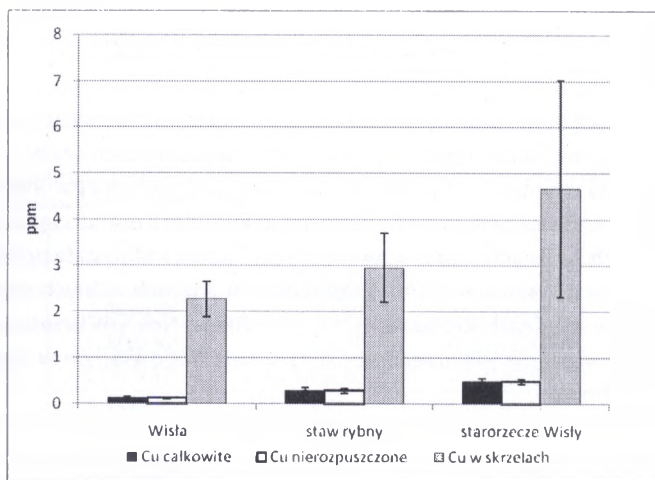
**Wykres 4.** Zawartość ołowiu (ppm s.m.) w mięśniach okonia (*Perca fluviatilis*), jazia (*Leuciscus idus*) i karasia (*Carassius carassius*) zasiedlających ten sam zbiornik wodny – staw hodowlany, Słupów, powiat miechowski

Przeprowadzone badania wykazują, że kumulacja metali niezbędnych dla utrzymania homeostazy organizmu oraz metali wykazujących wyłącznie właściwości toksyczne może być związana z ze swoistymi cechami gatunkowymi.

Kolejne badania polegały na porównaniu kumulacji metali ciężkich u ryb pochodzących z różnych zbiorników wodnych. Badania te zostały przeprowadzone na leszczu (*Abramis brama*) odłowionym z trzech różnych stanowisk położonych w okolicach Krakowa, tj. rzeki Wiśle w Nowym Brzesku, starorzeczu Wisły w gminie Wawrzeńczyce oraz stawie hodowlanym w Słupowie, powiat miechowski.

Przenikanie metali do organizmu zwierzęcego związane jest z konkurencją między różnymi kationami o miejsca wiązania w transporterach błonowych (Vercauteren i Blust, 1999). Ogromne znaczenie mają również formy chemiczne, w jakich metale występują w środowisku. Z reguły jednak większe stężenie metali ciężkich w środowisku wiąże się z ich wyższą kumulacją w tkankach zwierząt (Das i Jana, 1992; Loumbourdis i in., 1999). Stwierdzono statystycznie istotne różnice pod względem zawartości metali między rybami pochodzącymi z poszczególnych stanowisk. W badanych tkankach w najwyższym stężeniu występowało żelazo. Przy czym największy poziom żelaza został stwierdzony w skrzelach i wątrobie. Wysoka zawartość żelaza w tych narządach jest związana z ich silnym ukrwieniem oraz wynika z roli, jaką pełni wątroba w metabolizmie Fe (Zamachowski i Zyśk, 1997). Porównanie ryb

pochodzących z różnych siedlisk wykazało najwyższą zawartość żelaza i miedzi u osobników odłowionych w starorzeczu Wisły (tabela 3). Zawartość miedzi w ich skrzelach różniła się w sposób statystycznie istotny od zawartości tego pierwiastka w skrzelach ryb z Wisły ( $p=0,0001$ ) i stawu hodowlanego ( $p=0,001$ ). Próbkę wody pobrane ze starorzecza zawierały najwyższe całkowite stężenie miedzi w porównaniu z wodą pobraną z Wisły ( $p=0,0004$ ) oraz stawu rybnego ( $p=0,02$ ). Odnotowane różnice były statystycznie istotne. Badane zbiorniki różniły się też pod względem stężenia form miedzi nierozpuszczonych w wodzie. Najwyższe stężenie tej frakcji Cu stwierdzono w wodzie ze starorzecza. Różnice dotyczące stężenia form miedzi nierozpuszczonych w wodzie występujące między starorzeczem Wisły i Wisłą ( $p=0,0004$ ) oraz starorzeczem i stawem hodowlanym ( $p=0,02$ ) były statystycznie istotne (tabela 3, wykres 5).



**Wykres 5.** Porównanie stężenia całkowitego i stężenia form nierozpuszczonych miedzi (ppm) w środowisku wodnym z zawartością miedzi (ppm s.m.) w skrzelach leszcza (*Abramis brama*)

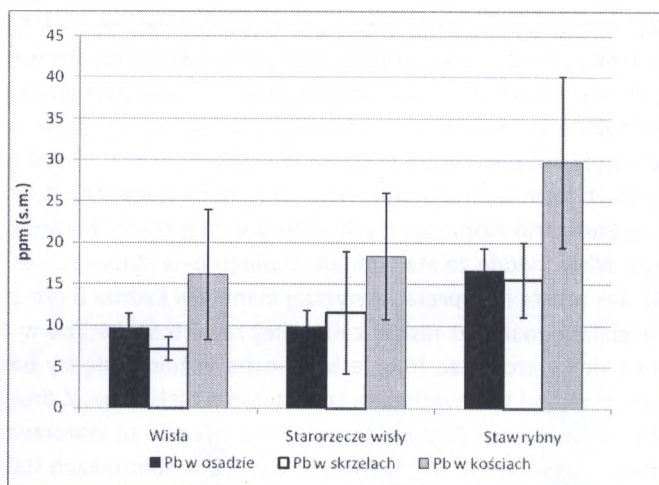
U ryb ze starorzecza stwierdzono również najwyższą zawartość żelaza w mięśniach oraz wątrobie i różniły się one pod tym względem w sposób statystycznie istotny ryb z Wisły ( $p<0,02$ ) i od ryb ze stawu hodowlanego ( $p<0,001$ ) (tabela 3). Wysoka zawartość pierwiastków, które wchodzi w skład pokarmu ryb oraz materii organicznej znajdującej się w zbiornikach wodnych, może świadczyć o eutrofizacji badanego starorzecza, co jest zwią-

zane z wyższą dostępnością składników pokarmowych, w tym różnych mikro- i makroelementów (Balasubramanian i in., 1995).

Jak wiadomo, jedną z przyczyn eutrofizacji zbiorników wodnych jest przedostawanie się do nich nawozów mineralnych z pól uprawnych (Katsev i in., 2006). Nawozy te, w szczególności nawozy fosforanowe, stanowią bardzo poważne źródło kadmu, a także innych metali ciężkich w środowisku (Thornton, 1992). Okazuje się, że ryby pochodzące ze starorzecza miały najwyższą zawartość kadmu w skrzelach, skórze, mięśniach i wątrobie. Odnotowane różnice pod względem zawartości kadmu między rybami ze starorzecza a rybami z Wisły (skrzela:  $p=0,002$ ; mięśnie:  $p=0,0002$ ; wątroba:  $p=0,0001$ ) i stawu hodowlanego (skrzela:  $p=0,0004$ ; mięśnie:  $p=0,0001$ ; wątroba:  $p=0,0001$ ) były statystycznie istotne (tabela 3). Okazało się również, że woda ze starorzecza zawierała stosunkowo wysokie stężenie całkowite kadmu. Podobnie stężenie form rozpuszczonych kadmu w wodzie ze starorzecza było wyższe niż w wodzie ze stawu hodowlanego oraz równe stężeniu rozpuszczonych form kadmu odnotowanych w Wiśle (tabela 4). Różnice dotyczące stężenia form rozpuszczonych kadmu występujące między wodą ze starorzecza Wisły i wodą ze stawu hodowlanego były statystycznie istotne ( $p=0,044$ ). Tak prostą interpretację wyższej kumulacji kadmu u ryb ze starorzecza utrudnia jednak fakt niskiej całkowitej zawartości kadmu w osadzie pobranym z dna starorzecza (tabela 5), chociaż różnice między badanymi zbiornikami były pod tym względem statystycznie nieistotne. Z drugiej jednak strony stężenie form rozpuszczonych Cd w osadzie ze starorzecza było niemal równie wysokie jak w pozostałych badanych zbiornikach (tabela 5). Różnice między zbiornikami dotyczące stężenia form rozpuszczonych kadmu w wodzie z osadów dennych również były statystycznie nieistotne. W związku z tym można sądzić, że w badanym starorzeczu Wisły występuje wysokie stężenie kadmu w formie łatwo dostępnej dla ryb. Może to być związane z odczynem wody. Przeprowadzone badania wykazały bowiem, że woda ze starorzecza miała najniższe pH spośród wszystkich badanych zbiorników (tabela 4). To przypuszczenie wydaje się również prawdopodobne, ze względu na dość wysoką kumulację ołowiu u ryb pochodzących ze starorzecza. Jak wiadomo, niskie pH wody powoduje mobilizację jonów metali z form o małej dostępności biologicznej (Carvalho i in., 2008), co ułatwia ich wychwyt przez zwierzęta wodne.

Kolejnym badanym pierwiastkiem nie pełniącym funkcji biologicznych i wykazującym silne właściwości toksyczne jest ołów. Najwyższa zawartość ołowiu została stwierdzona w skrzelach, kościach i wątrobie ryb odłowio-

nych ze stawu hodowlanego w Słupowie. Skrzela i wątroba ryb ze stawu hodowlanego różniły się pod względem zawartości ołowiu od skrzeli i wątroby ryb z Wisły w sposób statystycznie istotny ( $p < 0,002$ ). Natomiast kumulacja ołowiu w kościach u ryb ze stawu hodowlanego różniła się w sposób statystycznie istotny zarówno od kumulacji tego pierwiastka w kościach ryb z Wisły ( $p = 0,01$ ), jak i ze starorzecza tej rzeki ( $p = 0,03$ ). Wysoki poziom kumulacji ołowiu w narządach ryb pochodzących z hodowli jest najprawdopodobniej wynikiem wysokiej zawartości ołowiu w zbiorniku wodnym (tabela 3, 4, 5, wykres 6).



**Wykres 6.** Porównanie całkowitej zawartości ołowiu w osadzie zebrany z dna zbiorników wodnych z zawartością ołowiu w skrzelach i kościach leszcza (*Abramis brama*) – ppm w suchej masie próbek

Przeprowadzone badania wykazały bowiem, że woda ze stawu hodowlanego charakteryzowała się najwyższym całkowitym stężeniem ołowiu, a także najwyższym stężeniem jego form rozpuszczonych i nierozpuszczonych (tabela 4). Osad zebrany z dna stawu hodowlanego ryb również zawierał najwyższe stężenie ołowiu w porównaniu z osadem z pozostałych zbiorników. Różnice dotyczące całkowitej zawartości ołowiu w osadzie dennym występujące między stawem hodowlanym i rzeką Wisłą ( $p = 0,02$ ) oraz stawem hodowlanym i starorzeczem Wisły ( $p = 0,02$ ) były statystycznie istotne. Co więcej, stężenie form rozpuszczonych ołowiu w osadzie ze stawu hodowlanego znacznie przewyższało stężenie form rozpuszczonych



ołowiu w osadzie z pozostałych zbiorników. Staw hodowlany różnił się pod tym względem od Wisły ( $p=0,008$ ) i jej starorzecza ( $p=0,02$ ) w sposób statystycznie istotny (tabela 5).

Trudno jest wskazać najważniejsze źródła metali ciężkich w badanych zbiornikach. Poza działalnością rolniczą, emisją zanieczyszczeń z gospodarstw domowych lub wysypisk śmieci istotnym źródłem metali może być opad pyłu na danym terenie. Według monitoringu środowiska stężenie kadmu w pyłe zawieszonym w strefie bocheńsko-brzeskiej (stanowisko na Wiśle oraz starorzecze Wisły) wynosi  $1,9 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$ . Ten sam parametr mierzony w strefie miechowsko-proszowskiej (staw hodowlany) osiągnął wartość  $1,1 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$ . Stężenie ołowiu w pyłe zawieszonym stwierdzone w strefie bocheńsko-brzeskiej wynosi  $0,06 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ , a w strefie miechowsko-proszowskiej  $0,04 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$  (WIOŚ, 2007). Dane na temat skażenia środowiska kadmem i ołowiem nie pokrywają się jednak z pomiarami zawartości kadmu i ołowiu w badanych przez mnie zbiornikach wody. Na szczególną uwagę zasługuje wysoki poziom ołowiu w stawie hodowlanym w Słupowie położonym na terenie względnie mało zagrożonym opadem pyłów. Można sądzić, że badane zbiorniki (w szczególności staw w Słupowie i starorzecze Wisły) są narażone poza źródłami o dużym zasięgu na różne lokalne źródła zanieczyszczeń kadmem i ołowiem. Należy również pamiętać, że skażenie środowiska wodnego i żyjących w nich zwierząt metalami ciężkimi może zależeć od specyficznych warunków panujących w zbiornikach wodnych. Rzeka Wisła narażona jest na źródła zanieczyszczeń znajdujące się na dużym obszarze. Z kolei w zanieczyszczeniu starorzecza Wisły i stawu hodowlanego lokalne źródła mogą mieć większe znaczenie niż źródła o dużym zasięgu. Natomiast przenikanie metali ciężkich do tkanek zwierząt zależy od bardzo wielu parametrów fizykochemicznych wody, takich jak np. pH, stężenie ligandów metali ciężkich, właściwości chemiczne ligandów, obecność innych jonów, warunki tlenowe etc.

U badanych ryb stwierdzony został charakterystyczny rozkład stężenia metali w poszczególnych narządach. Najwyższe stężenie badanych metali występowało z reguły w skrzelach, wątrobie i kościach. Natomiast mięśnie i skóra zawierały stosunkowo niskie stężenie badanych pierwiastków. Podobnie jak w przypadku badanych wcześniej ślimaków i małży różnice te są zapewne związane z metabolizmem oraz rolą, jaką pełnią narządy w procesach detoksykacyjnych i bezpiecznym magazynowaniu metali. Spostrzeżenie to jest zgodne z wynikami badań prowadzonych przez innych autorów (Gbem i in., 2001; Moiseenko i Kudryavtseva, 2001).

**Tabela 3.** Porównanie zawartości metali (ppm s.m.) w narządach leszcza (*Abramis brama*) pochodzącego z 3 stanowisk w okolicach Krakowa – rzeka Wisła (Nowe Brzesko), starorzecze Wisły (gmina Wawrzeńczyce) i staw hodowlany (Słupów, k. Miechowa)

Narząd	Cu	Fe	Pb	Cd
Wisła				
Skrzela	2,27±0,38 <sup>s</sup>	217,04±46,50 <sup>sh</sup>	7,18±1,40 <sup>h</sup>	1,37±0,40 <sup>s</sup>
Skóra	2,12±0,44	52,64±19,13	2,93±2,38	0,74±0,47 <sup>s</sup>
Mięśnie	1,15±0,28	24,80±8,82 <sup>s</sup>	2,42±0,85	0,36±0,10 <sup>s</sup>
Kości	2,57±0,44 <sup>h</sup>	43,98±22,20	16,15±7,84 <sup>h</sup>	2,31±0,87
Wątroba	4,43±2,47	163,25±60,39 <sup>sh</sup>	3,45±2,56 <sup>h</sup>	1,22±0,93
Starorzecze Wisły				
Skrzela	4,67±1,35 <sup>wh</sup>	278,72±62,25 <sup>wh</sup>	11,56±7,37	2,47±0,92 <sup>wh</sup>
Skóra	2,66±1,66 <sup>h</sup>	45,04±15,50	28,19±37,93	1,43±0,73 <sup>wh</sup>
Mięśnie	1,40±0,46	41,60±18,45 <sup>wh</sup>	2,46±1,91	0,81±0,34 <sup>wh</sup>
Kości	3,43±0,81 <sup>h</sup>	52,77±24,00	18,31±7,63 <sup>h</sup>	2,44±0,73
Wątroba	9,62±6,73 <sup>wh</sup>	624,48±148,10 <sup>wh</sup>	9,25±2,63	1,58±1,78
Staw hodowlany				
Skrzela	2,95±0,74 <sup>s</sup>	130,94±26,06 <sup>ws</sup>	15,55±4,49 <sup>w</sup>	1,37±0,44 <sup>s</sup>
Skóra	1,48±0,34 <sup>s</sup>	38,83±5,44	6,52±2,00	0,74±0,27 <sup>s</sup>
Mięśnie	1,12±0,29	18,00±3,96 <sup>s</sup>	3,13±0,59	0,29±0,04 <sup>s</sup>
Kości	4,56±1,39 <sup>ws</sup>	60,66±19,62	29,77±10,36 <sup>ws</sup>	3,13±1,63
Wątroba	3,08±1,15 <sup>s</sup>	147,34±54,25 <sup>ws</sup>	8,94±3,06 <sup>w</sup>	1,34±0,73

w – różnice statystycznie istotne w porównaniu z analogiczną tkanką ryb z Wisły

s – różnice statystycznie istotne w porównaniu z analogiczną tkanką ryb ze starorzecza Wisły

h – różnice statystycznie istotne w porównaniu z analogiczną tkanką ryb ze stawu rybnego w Słupowie

**Tabela 4.** Formy chemiczne metali w próbkach wody z badanych zbiornikach wodnych (ppm)

Frakcja	Wisła	Starorzecze Wisły	Staw hodowlany
Cu			
Stężenie całkowite	0,13±0,02 <sup>sh</sup>	0,49±0,06 <sup>wh</sup>	0,29±0,06 <sup>ws</sup>
Stężenie form rozpuszczonych	0,01±0,002	0,01±0,003	0,01±0,004
Stężenie form nierozpuszczonych	0,12±0,02 <sup>sh</sup>	0,48±0,06 <sup>wh</sup>	0,28±0,06 <sup>ws</sup>
Fe			
Stężenie całkowite	2,37±0,47	2,02±0,41	1,61±0,19
Stężenie form rozpuszczonych	0,01±0,005	0,01±0,006	0,01±0,004
Stężenie form nierozpuszczonych	2,36±0,47	2,01±0,40	1,60±0,15
Pb			
Stężenie całkowite	0,18±0,06	0,26±0,05	0,30±0,05
Stężenie form rozpuszczonych	0,05±0,02	0,09±0,03	0,10±0,02
Stężenie form nierozpuszczonych	0,13±0,08	0,17±0,08	0,20±0,07

Cd			
Stężenie całkowite	0,09±0,03	0,08±0,03	0,06±0,03
Stężenie form rozpuszczonych	0,02±0,004	0,02±0,005 <sup>h</sup>	0,01±0,002 <sup>s</sup>
Stężenie form nierozpuszczonych	0,07±0,02	0,06±0,03	0,05±0,02
pH wody			
	6,82	6,71	6,94

w – różnice statystycznie istotne w porównaniu ze stężeniem analogicznej formy chemicznej w próbkach z Wisły

s – różnice statystycznie istotne w porównaniu ze stężeniem analogicznej formy chemicznej w próbkach ze starorzecza Wisły

h – różnice statystycznie istotne w porównaniu ze stężeniem analogicznej formy chemicznej w próbkach ze stawu rybnego w Słupowie

**Tabela 5.** Formy chemiczne metali w próbkach wody pobranej z osadów dennych (ppm) oraz całkowita zawartość metali w osadach (ppm s.m.)

Frakcja	Wisła	Starorzecze Wisły	Staw hodowlany
Cu			
Całkowita zawartość	4,63±0,15 <sup>h</sup>	4,63±0,16 <sup>h</sup>	3,75±0,20 <sup>ws</sup>
Formy rozpuszczone w wodzie	0,34±0,07 <sup>sh</sup>	0,16±0,05 <sup>w</sup>	0,09±0,03 <sup>w</sup>
Fe			
Całkowita zawartość	72,98±15,53	79,89±11,16	97,54±22,06
Formy rozpuszczone w wodzie	0,03±0,01	0,03±0,01	0,04±0,01
Pb			
Całkowita zawartość	9,66±1,75 <sup>h</sup>	9,89±1,92 <sup>h</sup>	16,66±2,62 <sup>ws</sup>
Formy rozpuszczone w wodzie	0,14±0,04 <sup>h</sup>	0,18±0,04 <sup>h</sup>	0,35±0,08 <sup>ws</sup>
Cd			
Całkowita zawartość	0,67±0,15	0,48±0,09	0,76±0,14
Formy rozpuszczone w wodzie	0,01±0,002	0,01±0,004	0,15±0,04

w – różnice statystycznie istotne w porównaniu ze stężeniem analogicznej formy chemicznej w próbkach z Wisły

s – różnice statystycznie istotne w porównaniu ze stężeniem analogicznej formy chemicznej w próbkach ze starorzecza Wisły

h – różnice statystycznie istotne w porównaniu ze stężeniem analogicznej formy chemicznej w próbkach ze stawu rybnego w Słupowie

### 3.2. Czynniki fizyczne i chemiczne wpływające na kumulację metali ciężkich u zwierząt środowiska wodnego

Jony metali ciężkich występują w naturalnym środowisku wodnym w bardzo niskich stężeniach. Atomy metali tworzą bowiem względnie stabilne wiązania z organicznymi i nieorganicznymi cząstkami rozpuszczonymi, zawieszono-

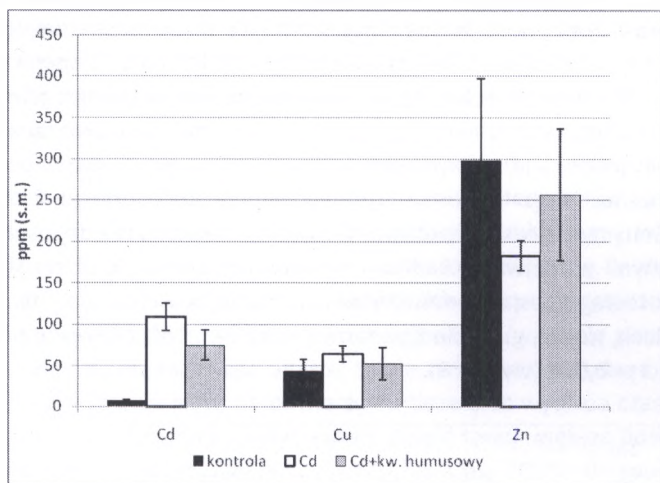
nymi lub osadzonymi na dnie w postaci osadów (Škvarla, 1998). Związane w ten sposób atomy metali charakteryzują się stosunkowo niską dostępnością biologiczną. W pewnych warunkach może jednak dochodzić do ich mobilizacji, co z kolei z reguły wiąże się ze wzrostem dostępności biologicznej metali w środowisku wodnym. Mobilizacja kationów do fazy rozpuszczonej w wodzie związana jest ze zmianą właściwości fizykochemicznych wody lub osadów, takich jak zasolenie, odczyn środowiska, zawartości związków organicznych, stężenia związków siarki i żelaza (Bjerregaard i Andersen, 2007). Dostępność metali ciężkich dla organizmów środowiska wodnego zależy również od stężenia kationów innych metali, które mogą konkurować z metalami ciężkimi o miejsca wiązania i transportu przez błony biologiczne (Bervoets i in., 2005; Niyogi i Wood, 2004). Można zatem sądzić, że równowaga, jaka ustala się w środowisku między stężeniem form jonowych rozpuszczonych i nierozpuszczonych metali może zostać zaburzona przez różnego rodzaju czynniki chemiczne i fizyczne. Efektem takich interakcji może być wzrost lub obniżenie dostępności biologicznej metali dla organizmów wodnych.

### 3.2.1. Czynniki chemiczne

Biologiczna dostępność metali ciężkich jest przede wszystkim związana z formą chemiczną, w której metale występują w środowisku. Uważa się, że metale w formie uwodnionych jonów oraz hydroksokompleksów są najłatwiej dostępne dla organizmów żywych (Kuimr i in., 1996). Dostępność metali ciężkich w środowisku wodnym jest modyfikowana przez ich interakcje z cząstkami organicznymi i nieorganicznymi rozpuszczonymi lub zawieszonymi w wodzie (Škvarla, 1998).

Jednym z ważniejszych czynników chemicznych wpływających na biologiczną dostępność metali ciężkich w ekosystemach wodnych jest materiał organiczny. Metale ciężkie w postaci związanej z materiałem organicznym z reguły mają niższą dostępność biologiczną dla organizmów wodnych. Wykazały to na przykład badania Voets i współpracowników (2004), podczas których zaobserwowany został spadek form jonowych kadmu w roztworze zawierającym kwas humusowy. Zjawisku temu towarzyszył zmniejszony wychwyt kadmu przez racicznice zmienną (*Dreissena polymorpha*). Obniżona kumulacja kadmu w obecności materiału organicznego (kwas humusowy w stężeniu  $3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) została także zaobserwowana u pijawki rybiej (*Piscicola geometra*) (Kuczkowska-Kuźniar i in., 2009).

Kwas humusowy stanowił źródło substancji organicznych w badaniach Formickiego i współpracowników (2007). Badania te wykazały, że kwas humusowy ( $43 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) wpływał hamująco na kumulację kadmu w gruczole trzustkowo-wątrobowym ślimaka błotniarki stawowej (*Lymnaea stagnalis*). Zaobserwowano również zmiany aktywności katalazy oraz zawartości miedzi i cynku, świadczące pośrednio o obniżeniu dostępności biologicznej jonów kadmu dla błotniarki stawowej w obecności substancji organicznych (wykres 7).

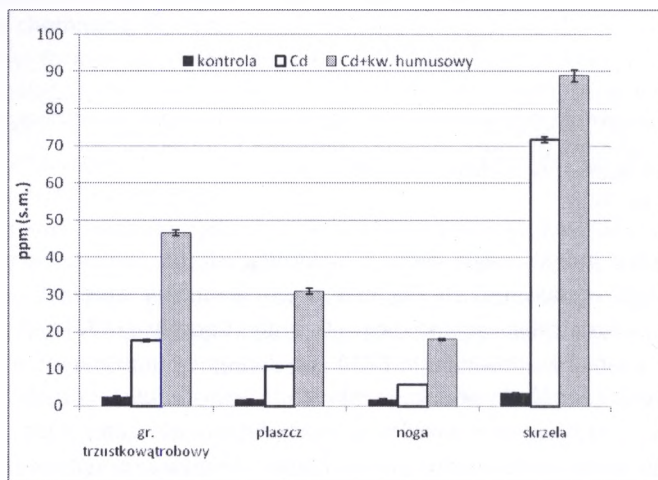


**Wykres 7.** Zawartość kadmu miedzi i cynku (ppm s.m.) w gruczole trzustkowo-wątrobowym błotniarki stawowej (*Lymnaea stagnalis*) hodowanej w roztworze kadmu ( $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) oraz w roztworze kadmu i kwasu humusowego ( $43 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) Formicki i in., 2007

Istnieje jednak wiele danych wskazujących na wzrost biologicznej dostępności metali ciężkich dla niektórych gatunków zwierząt wodnych w obecności materiału organicznego. George i Coombs (1977) wykazali, że kadm w postaci kompleksów z EDTA lub kwasem humusowym wykazuje większą dostępność dla omułka jadalnego (*Mytilus edulis*). Kożuch i Pempkowiak (1996) również stwierdzili wyższą dostępność kadmu dla omułka jadalnego w obecności kwasu humusowego. Wykazano ponadto, że małże z gatunków małgiew piaszkołaz (*Mya arenaria*) i astarta północna (*Astarte borealis*) bytujące w Zatoce Gdańskiej kumulują więcej miedzi niż osobniki żyjące w Morzu Norweskim. Przyczyną tego zjawiska jest najprawdopodobniej większe stężenie jonów miedzi związanych z substancjami humusowymi

występujące w wodach Zatoki Gdańskiej w porównaniu wodami Morza Norweskiego (Pempkowiak i in., 1999). Dobranskyte i współpracownicy (2006), zaobserwowali obniżenie stężenia form rozpuszczonych aluminium w roztworze wodnym  $Al(NO_3)_3$  po dodaniu kwasu humusowego. Przy czym obecność kwasu humusowego nie wpłynęła na tempo kumulacji aluminium w organizmie błotniarki stawowej (*Lymnaea stagnalis*), co świadczy, iż formy jonowe aluminium mają taką samą dostępność dla tego ślimaka jak formy aluminium związane z cząstkami kwasu humusowego (Dobranskyte i in., 2006).

Wzrost dostępności biologicznej kadmu dla skójki zaostrojonej (*Unio tumidus*) w obecności kwasu humusowego wykazał Formicki i współpracownicy (2009). Badania te wykazały, że zawartość kadmu w poszczególnych narządach (skrzela, gruczoł trzustkowątrobowy, noga i płaszcz) związana była ze stężeniem jonów kadmu w roztworze (0,25; 0,5; 1  $mg \cdot l^{-1}$ ) oraz obecnością kwasu humusowego (stężenie ogólnego węgla organicznego OWO=28,8  $mg \cdot l^{-1}$ ). Statystycznie istotne różnice w zawartości kadmu między osobnikami hodowanymi w roztworze kadmu i w roztworze kadmu w obecności kwasu humusowego zostały odnotowane we wszystkich badanych narządach, tj. skrzelach, nodze, gruczole trzustkowątrobowym i płaszczu przy poziomie istotności  $p < 0,002$  (wykres 8).



**Wykres 8.** Zawartość kadmu (ppm s.m.) w narządach skójki zaostrojonej hodowanej w roztworze kadmu ( $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) oraz w roztworze kadmu i kwasu humusowego (OWO=28,8  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) Formicki i in., 2009

Odmienny wpływ materiału organicznego na biologiczną dostępność metali ciężkich dla zwierząt wodnych wynika zapewne z różnic w pobieraniu jonów ze środowiska, odmiennych funkcji narządów w procesach detoksykacyjnych oraz różnych właściwości chemicznych i biologicznych metali (Benedetti i in., 1995; Appelblad i in., 1999; Gondar i in., 2006). Istniejące w literaturze próby wyjaśnienia wyższej kumulacji metali ciężkich w obecności substancji organicznych zwracają uwagę na rolę skrzeli w wychwycie jonów ze środowiska wodnego. Jak wcześniej wspomniano, wychwyt metali przez skrzela zależy nie tylko od właściwości chemicznych środowiska wodnego, ale też od przemian metabolicznych zachodzących w organizmie, które z kolei modyfikują odczyn mikrośrodowiska wokół blaszek skrzelowych. Zatem właściwości metaboliczne poszczególnych gatunków, a być może pojedynczych osobników mogą wpływać na łatwiejsze pobieranie metali ze środowiska. Playle i Wood (1989) wykazali, że obniżenie odczynu śluzu pokrywającego skrzela odgrywa ważną rolę w mobilizacji metali z form, w których wykazują one małą dostępność dla ryb. Inni autorzy sugerują, że desorpcję jonów z dużych cząstek organicznych ułatwia śluz pokrywający skrzela. Pełni on rolę środowiska, które ułatwia wymianę jonów. Uważa się ponadto, że cząstki materiału organicznego o dużej masie związane z metalami ciężkimi mocniej przylegają do śluzu na powierzchni skrzeli, co wydłuża czas, w którym dochodzi do desorpcji jonów metali. Dzięki temu większa ilość jonów może być pobrana przez nabłonek skrzeli (Tao i in., 2000). Przypuszczenie to zostało potwierdzone przez Formickiego i współpracowników (2009), którzy wykazali statystycznie istotną zależność między stężeniem jonów kadmu związanych z dużymi zawieszonymi w wodzie cząstkami kwasu humusowego a kumulacją kadmu w skrzelach skóry zaostrożonej.

Niezwykle ważną rolę w wychwycie metali ciężkich odgrywa zjawisko konkurencji jonów metali ciężkich z innymi kationami o miejsca wiązań na ligandach biotycznych i abiotycznych (Bervoets i in., 2005; Niyogi i Wood, 2004). Naukowcy zajmujący się problemem toksyczności metali ciężkich dla zwierząt wodnych zauważyli, że zwierzęta hodowane w twardej wodzie wykazują mniejszą wrażliwość na działanie metali. Wykazano, że zjawisko to jest przede wszystkim związane z obecnością w twardej wodzie wysokiego stężenia kationów  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$ . Kationy te konkurują o miejsca transportu z kationami metali ciężkich, przede wszystkim  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  oraz  $\text{Pb}^{2+}$ . Wiadomo ponadto, że jony miedzi  $\text{Cu}^+$  konkurują o kanały sodowe ENaC. Oprócz tego może dochodzić do interakcji między żelazem oraz różnymi kationami dwuwartościowymi, głównie Cu, Cd, Zn, Mn, Pb (Niyogi i Wood, 2004).

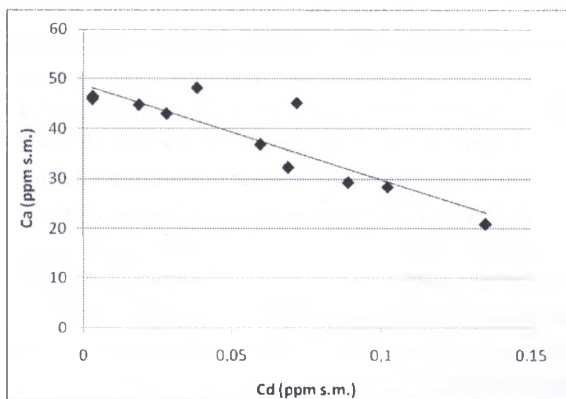
W przypadku organizmów wodnych największe znaczenie dla toksyczności metali mają interakcje między kationami zachodzące na powierzchni nabłonków oddechowych pokrywających skrzelą lub skórę (Bervoets i in., 2005).

Jednym z najważniejszych czynników wpływających na biologiczną dostępność metali ciężkich jest stężenie kationów wapnia w wodzie. Wiele metali ciężkich dostaje się do organizmów zwierzęcych głównie poprzez kanały wapniowe. Okazuje się, że zablokowanie tych kanałów zmniejsza pobieranie metali przez skrzelą u zwierząt wodnych (Roesijadi i Unger, 1993). Antagonizm między kationami wapnia, kadmu, cynku, kobaltu i ołowiu związany jest przede wszystkim z konkurencją o drogi transportu. Wykazano również, że metale ciężkie – na przykład kadm – hamują aktywność  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPazy, co jeszcze bardziej nasila negatywny wpływ ich jonów na poziom wapnia w tkankach zwierząt (Pivovarova i Lagerspetz, 1996). Ujemne interakcje między metalami ciężkimi i wapniem obejmują również wzajemne wypieranie się z różnego rodzaju struktur komórkowych. Ponadto wykazano, że kadm zaburza przewodzenie sygnałów komórkowych związanych jonami wapnia (Martelli i in., 2006). Silny antagonizm między kadmem i wapniem sprawia, że zmiany zawartości wapnia w organizmie mogą być źródłem informacji o biologicznej dostępności i toksyczności kadmu. Wykazały to badania przeprowadzone na larwach żaby trawnej poddawanych ekspozycji na jony kadmu i promieniowanie UV (Formicki i in., 2008a) oraz skójkę zaostrożonej hodowanej w obecności jonów kadmu, kwasu humusowego i promieniowania UV (Formicki i in., 2009). W wyniku tych badań stwierdzono statystycznie istotne ujemne korelacje między poziomem skumulowanego kadmu a zawartością wapnia zarówno u larw żaby trawnej, jak i w większości narządów skójkę zaostrożonej (wykres 9).

Równie ważną rolę w toksyczności metali ciężkich dla organizmów wodnych odgrywają kationy magnezu. Opisano wiele mechanizmów transportu magnezu przez nabłonki do krwi. Ważną rolę w pobieraniu magnezu przez komórki nabłonkowe pełnią kanały wapniowe (Karbach i Rummel, 1990). Ponadto transport magnezu związany jest z obecnością transporterów MgtA/B, MgtC, MgtE, TRPM6, TRPM7, które wykryto u różnych grup organizmów (Kehres i Maguire, 2002; Chubanov i in., 2005; Lee i Gardner, 2006). Część z nich to systemy transportu aktywnego związane z aktywnością ATPazy (Kehres i Maguire, 2002). Największą rolę w transporcie magnezu pełnią kanały TRP6 i TRP7 oraz kanały wapniowe, przez które jony magnezu napływają do cytoplazmy komórek nabłonkowych (Karbach i Rummel, 1990; Chubanov i in., 2005). Napływ jonów magnezu jest zapewniony dzięki stałemu gradien-



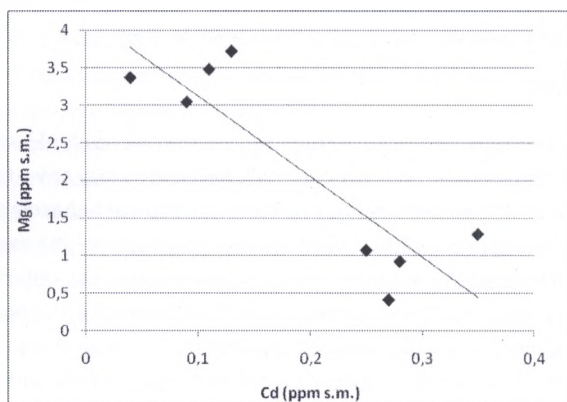
towi elektrochemicznemu, który jest utrzymywany przez stałe przenoszenie magnezu do krwi (Van der Velden i in., 1990).



**Wykres 9.** Zależność między stężeniem kadmu i wapnia (ppm s.m.) w skrzelach skóry zaostrej (*Unio tumidus*) ( $r = -0,90$ ;  $p = 0$ ) Formicki i in., 2009

Mechanizm transportu jonów magnezu z komórek nabłonkowych do krwi nie został jeszcze poznany. Wiadomo jednak, że jest on związany z transportem jonów sodu oraz aktywnością pompy sodowo-potasowej w bazolateralnej części komórek (Bijveldts i in., 1996, 1997). Można przypuszczać, że metale ciężkie mogą zaburzać transport magnezu przez zablokowanie kanałów w apikalnej części komórki lub zaburzenie gradientu elektrochemicznego poprzez dezaktywację transportu jonów w bazolateralnej części komórki. Przypuszczenie to potwierdza fakt blokowania kanałów wapniowych przez jony kadmu i miedzi (Roesijadi i Unger, 1993; Canesi i in., 2000). Jak dotąd nie ma informacji na temat interakcji metali ciężkich i kanałów TRP6 i TRP7. Wiadomo jednak, że transportery te mogą brać udział w przenoszeniu innych niż magnez dwuwartościowych jonów metali (Chubanov i in., 2005). Gradient elektrochemiczny napędzający transport magnezu może być zaburzony przez hamowanie aktywności pompy sodowo-potasowej przez kadm oraz miedź w bazolateralnej części komórek (Bianchini i in., 2004). Niektórzy badacze informują ponadto o występowaniu aktywnego transportu magnezu na zewnątrz komórki (Kehres i Maguire, 2002). Transport taki również może zostać zaburzony przez metale ciężkie. Wykazano bowiem, że kadm hamuje aktywność Mg-ATPazy w skrzelach małży (Pivovaro-va i Lagerspetz, 1996). Ponadto metale ciężkie wypierają atomy magnezu z różnych molekuł mających znaczenie strukturalne i regulacyjne (Kalay, 2006).

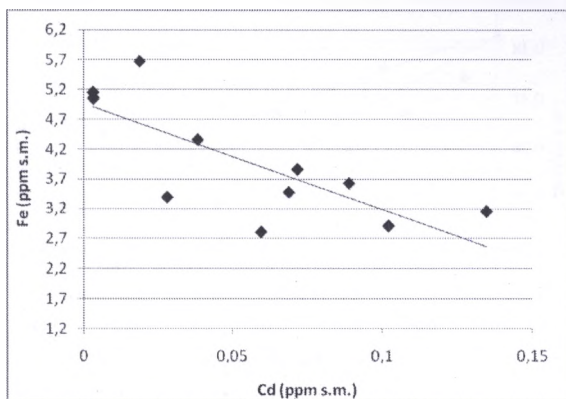
W związku z powyższym oddziaływanie metali ciężkich na poziom magnezu w tkankach zwierzęcych jest wypadkową wielu zjawisk, takich jak konkurencja o transportery błonowe, zaburzenia gradientu elektrochemicznego, zaburzenia transportu sodu i potasu oraz wypieranie atomów magnezu z licznych związków o znaczeniu biologicznym. Niektóre efekty mogą się wzajemnie wzmacniać, inne znosić. Z tego powodu można się spodziewać zróżnicowanej reakcji jonów magnezu na kationy innych metali w różnych tkankach i u różnych organizmów. Formicki i współpracownicy (2008a) wykazali, że promieniowanie UV i jony kadmu stosowane łącznie powodowało statystycznie istotne obniżenie zawartości magnezu w organizmie larw żaby trawnej (wykres 10). Ponieważ stwierdzone zostały ujemne i istotne korelacje między zawartością kadmu i magnezu u badanych larw, można sądzić, że bezpośrednią przyczyną obniżenia poziomu magnezu był antagonizm między tymi pierwiastkami.



**Wykres 10.** Zależność między stężeniem kadmu i magnezu (ppm s.m.) w organizmie larw żaby trawnej (*Rana temporaria*) ( $r = -0,88$ ;  $p = 0,02$ ) Formicki i in., 2008a

Ważną drogą przedostawania się metali ciężkich do organizmów zwierzęcych jest transporter metali dwuwartościowych DMT-1 związany z transportem żelaza. Spadek zawartości żelaza pod wpływem jonów kadmu został wykazany między innymi przez Formickiego i współpracowników (2008a) u larw żaby trawnej oraz u skótki zaostrożonej (Formicki i in., 2009) wykres 11. Mechanizm antagonistycznych interakcji między metalami ciężkimi i żelazem polega przede wszystkim na konkurencji o miejsca wiązania z transporterem DMT-1, pełniącym najważniejszą rolę w przenoszeniu żelaza przez

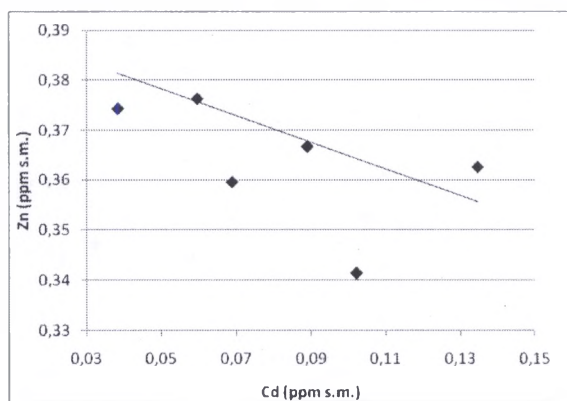
blony komórkowe (Knöpfel i in., 2005; Suzuki i in., 2008). Wiadomo bowiem, że większa ekspresja genów DMT-1 w istotny sposób nasila przenikanie żelaza do tkanek zwierzęcych, a obecność jonów  $Cd^{2+}$  oraz  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  upośledza transport jonów żelaza (Martelli i in., 2006). Transporter DMT-1 został również rozpoznany u mięczaków, między innymi w skrzelach małży. Potwierdzono również jego udział w przenoszeniu kadmu i żelaza, a także antagonizm między kadmem i żelazem u tej grupy zwierząt (Serra i in., 1995; Toyohara i in., 2005). Niektóre badania wykazują, że antagonizm między kadmem i żelazem obejmuje również konkurencję tych metali o połączenie z ferroportyną, białkiem biorącym udział w przenoszeniu żelaza z komórek nabłonkowych do krwi (Martelli i in., 2006). Spadek zawartości żelaza w tkankach może być także związany z dezorganizacją metabolizmu żelaza przez kadm. Wykazano na przykład, że jony kadmu wypierają żelazo z ferrytyny i apoferrytyny (Price and Joshi, 1983; Wardeska i in., 1986). W konsekwencji dochodzi do zaburzeń w transporcie i magazynowaniu żelaza oraz upośledzenia równowagi oksydacyjno-redukcyjnej (Waisberg i in., 2003).



**Wykres 11.** Zależność między stężeniem kadmu i żelaza (ppm s.m.) w skrzelach skóry zaostrzonej (*Unio tumidus*) ( $r = -0,78$ ;  $p = 0,003$ )  
Formicki i in., 2009

Dostępność biologiczna niektórych metali o charakterze ksenobiotyków zmniejsza się w obecności cynku. Interakcje między kadmem i cynkiem są związane z konkurencją o transportery błonowe oraz o miejsca wiązania w makromolekułach pełniących ważne funkcje biologiczne. Obydwa pierwiastki mogą być transportowane przez kanały wapniowe oraz transportery cynku ZIP (Roesijadi i Unger, 1993). Ponieważ transportery ZIP przenoszą

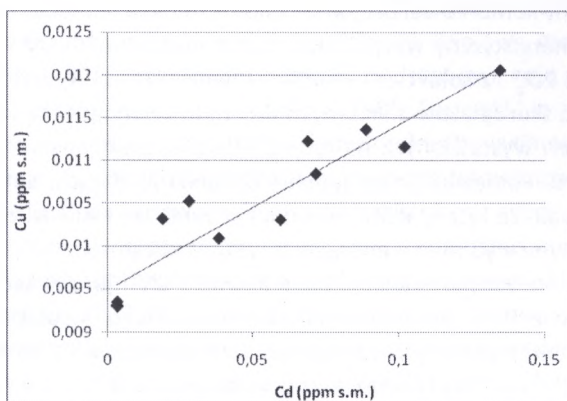
bardzo małe ilości kadmu, można się spodziewać, że główną rolę w antagonizmie między kadmem i cynkiem na etapie transportu do komórek odgrywają kanały wapniowe. Stwierdzono, że obecność kadmu hamuje wychwyt cynku przez kanały wapniowe ułożone w skrzelach małży. Zjawisku temu towarzyszyła kumulacja kadmu w gruczole trzustkowątrobowym oraz bardzo wyraźny wzrost zawartości cynku w hemolimfie. Był on najprawdopodobniej związany z wypieraniem cynku z metalotioneiny przez jony kadmu (Vercauteren i Blust, 1999). W badaniach prowadzonych na skójkę zaostrożonej stwierdzono ujemne korelacje między zawartością kadmu i cynku w nodze, płaszczu i skrzelach (wykres 12). Trend spadkowy cynku w stosunku do poziomemu kadmu odnotowany został również w gruczole trzustkowątrobowym. Badania te wykazały również, że zmiany poziomu cynku mogą pośrednio świadczyć o biologicznej dostępności kadmu dla skójkę zaostrożonej (Formicki i in., 2009). Podobnie u larw żaby trawnej odnotowany został spadek zawartości cynku pod wpływem ekspozycji na jony kadmu (Formicki i in., 2008a).



**Wykres 12.** Zależność między stężeniem kadmu i cynku (ppm s.m.) w skrzelach skójkę zaostrożonej (*Unio tumidus*) ( $r = -0,74$ ;  $p = 0,02$ ) Formicki i in., 2009

Szczególnym przykładem interakcji między kationami metali są zależności występujące między kadmem i miedzią. Ekspozycja larw żaby trawnej na jony kadmu była przyczyną wzrostu zawartości miedzi w ich organizmie. Co więcej stwierdzone zostały dodatnie korelacje między zawartością kadmu i miedzi u tych zwierząt (Formicki i in., 2008a). Podobne zależności między kadmem i miedzią zostały odnotowane u skójkę zaostrożonej. U zwierząt tych statystycznie istotne dodatnie korelacje między zawartością kadmu i miedzi

wystąpiły w skrzelach, płaszczu i gruczole trzustkowątrobowym (Formicki i in., 2009) – wykres 13. Dodatkowo zależności między poziomem kadmu i miedzi zostały również stwierdzone w wątrobie ssaków (Noël i in., 2004). Wzrost zawartości miedzi w tkankach ekspozowanych na kadm jest możliwy dzięki temu, że obydwa metale w zasadzie dostają się do organizmu przez odrębne systemy transportujące. Jedynie transportery typu DMT-1 mogą transportować zarówno miedź jak i kadm (Handy i in., 2002; Puig i Thiele, 2002; Tennant i in., 2002). Gromadzenie się miedzi w tkankach zwierząt zatrutych kadmem jest związane z syntezą metalotioneiny. Wykazano, że część cząsteczek metalotioneiny syntezowanych przy zatruciu kadmem wiąże się z jonami miedzi, co prowadzi do wzrostu zawartości Cu w tkankach (Chelomin i in., 1995). Zgromadzone jony miedzi mogą następnie pełnić rolę ochronną wobec zniszczeń generowanych przez kadm, np. poprzez udział w syntezie dysmutazy ponadtlenkowej.



**Wykres 13.** Zależność między stężeniem kadmu i miedzi (ppm s.m.) w skrzelach skóry zaostrej (*Unio tumidus*) ( $r=0,94$ ;  $p=0$ )  
Formicki i in., 2009

### 3.2.2. Czynniki fizyczne

Biologiczna dostępność metali ciężkich może być modyfikowana przez czynniki fizyczne. Temperatura wody wpływa na stabilność kompleksów metali ciężkich z ligandami chemicznymi. Martinez i in. (2003) wykazali, że wraz ze wzrostem temperatury rośnie tempo uwalniania się z kompleksów organicznych rozpuszczonych form metali. Wzrost temperatury otoczenia przyczynia

się także do wzrostu mikroorganizmów, które poprzez biodegradację różnych związków organicznych mogą uwalniać do środowiska biologicznie dostępne formy metali (Andersson i Nilsson, 2001). Proces ten może zwiększać wychwyty toksycznych metali ciężkich przez zwierzęta wodne, tym bardziej że tempo przemian metabolicznych u zwierząt zmiennocieplnych również wzrasta wraz ze wzrostem temperatury otoczenia. Wydaje się, że czynniki fizyczne mogą wpływać na gospodarkę jonową organizmów bezpośrednio poprzez oddziaływanie na struktury wyspecjalizowane w wymianie jonów z otoczeniem i zaangażowanych w utrzymywanie stałego ciśnienia osmotycznego płynów ciała. Możliwe jest także pośrednie oddziaływanie tych czynników na gospodarkę mineralną organizmów wodnych poprzez wpływ na chemiczną specjację metali w środowisku.

Niektóre dane wskazują na możliwość występowania interakcji między promieniowaniem UV i metalami ciężkimi w środowisku wodnym. Rai i in. (1998) wykazali, że u sinic promieniowanie ultrafioletowe zwiększa przepuszczalność błony komórkowej dla jonów miedzi i ołowiu. Ponadto miedź i ołów wykazują synergistyczny wpływ wraz z promieniowaniem UV na wychwyty jonów  $\text{NH}_4^+$  i  $\text{PO}_4^{3-}$ . Z kolei Lies i współpracownicy (2001) stwierdzili nasiloną śmiertelność skorupiaków zaliczanych do rzędu obunogów i gatunku *Paramoera walkeri* wystawionych na łączne działanie promieniowania UV oraz jonów miedzi. Ponieważ ginęły jedynie osobniki głodujące, autorzy badań wywnioskowali, że łączny wpływ promieniowania UV i miedzi związany był ze zwiększonymi wydatkami energetycznymi zwierząt.

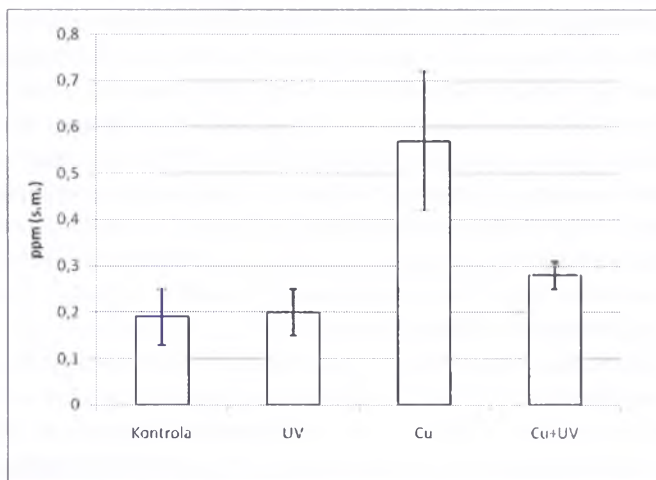
Wzajemne oddziaływanie promieniowania UV i jonów kadmu na larwy żaby trawnej było przedmiotem badań Formickiego i współpracowników (2008a). W badaniach tych zaobserwowano statystycznie istotny wzrost śmiertelności larw żaby trawnej eksponowanych na UV i Cd w porównaniu z larwami hodowanymi wyłącznie w obecności kadmu. Wyznaczona w tych badaniach toksyczność ostra kadmu w obecności promieniowania UV (96h-LC50=710 ppb) była prawie cztery razy wyższa niż toksyczność ostra kadmu stosowanego bez obecności ultrafioletu (96h-LC50=3155 ppb). Wielu autorów wskazuje na kilka możliwych źródeł interakcji między promieniowaniem UV i jonami kadmu. Niektóre skutki działania kadmu i promieniowania UV nakładają się na siebie, nasilając zapewne uszkodzenia powstające w ekspozycjach tkankach. Kadm i UV mają działanie mutagenne, zaburzają równowagę oksydacyjno-redukcyjną oraz hamują aktywność wielu enzymów (Linetsky i in., 1996; Waisberg i in., 2003; Formicki i Stawarz, 2006). Istnieje także szereg specyficznych mechanizmów, poprzez które kadm i promienio-

wanie UV wzajemnie nasilają swoje właściwości cytotoksyczne. Wykazano, że metalotioneina pełni ochronną rolę przed oksydacyjnymi uszkodzeniami komórek indukowanymi przez promieniowanie ultrafioletowe (Hanada, 2000). Można byłoby zatem przypuszczać, że jony kadmu poprzez indukcję syntezy metalotioneiny mogą zwiększać rezystencję tkanek na promieniowanie UV. Nie znajduje to jednak potwierdzenia w wynikach innych badań. Cai i Cherian (2003) wykazali bowiem, że metalotioneina cynkowa jest znacznie bardziej efektywna w ochronie komórek przed wolnymi rodnikami oraz uszkodzeniami DNA generowanymi przez promieniowanie jonizujące niż metalotioneina kadmowa. Wynika z tego, że kadm pomimo indukcji metalotioneiny może zmniejszać jej udział w zmiataniu wolnych rodników. Ponadto kadm hamuje wycinanie dimerów pirymidynowych generowanych w cząsteczkach DNA przez promieniowanie UV (Asmuss i in., 2000).

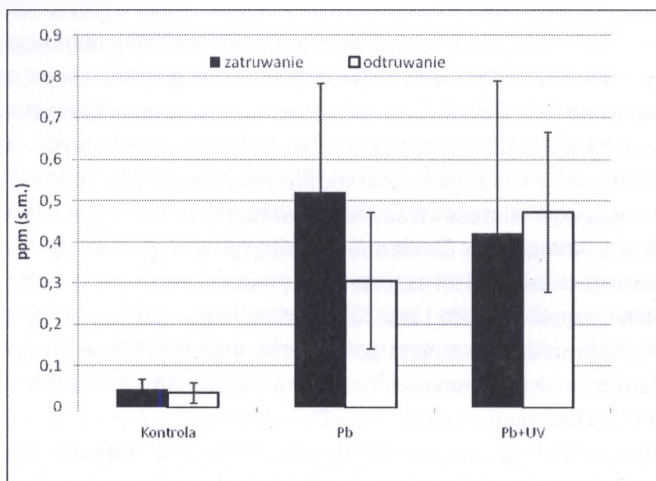
Krytycznym miejscem działania kadmu i promieniowania UV był z pewnością naskórek larw. Komórki naskórka absorbują największą ilość energii promieniowania UV, a równocześnie, z racji pełnionych funkcji w wymianie jonów ze środowiskiem, są pierwszym miejscem działania metali ciężkich (Boutilier i in., 1992). Skóra pełni ponadto podstawową rolę w wymianie gazowej larw płazów (Seymour i Bradford, 1995; Formicki i in., 2003). Wielu naukowców wskazuje upośledzenie funkcji oddechowych oraz wymiany jonów ze środowiskiem jako podstawową przyczynę toksyczności ostrej metali ciężkich dla organizmów wodnych (Kleinzeller i in., 1990; Grosell i in., 2004). Przy czym największe znaczenie ma prawdopodobnie inhibicja pompy sodowo-potasowej będąca przyczyną upośledzenia gospodarki jonami  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  i  $\text{Cl}^-$  (Bianchini i in., 2004). Zmiana aktywności pompy sodowo-potasowej upośledza gradient elektrochemiczny w komórkach nabłonkowych, co z kolei zaburza transport wielu jonów do krwi (Bijvelds i in., 1997). Ponadto metale ciężkie hamują wymianę jonów  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  zachodzącą w skrzelach ryb i małży oraz w skórze larw płazów. Dochodzi w takiej sytuacji do zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej organizmu, co również może się przyczyniać do obumierania tkanek (Jensen i in., 2003; Grosell i in., 2004). Wykazano również, że funkcje oddechowe oraz gospodarka mineralna larw płazów mogą być zakłócane przez promieniowanie UV oraz łączne działanie promieniowania UV i jonów kadmu (Formicki i in., 2003, 2009).

Istotną przyczyną wyższej wrażliwości larw żaby trawnej na metale ciężkie w obecności promieniowania UV może być rozregulowanie funkcji naskórka związanych z transportem jonów. Badania przeprowadzone przez Formickiego i współpracowników (2008b) wykazały niższy poziom kumulacji

jonów miedzi u larw eksponowanych na  $\text{Cu}^{2+}$  i UV niż u larw hodowanych wyłącznie w obecności jonów miedzi (wykres 14).



**Wykres 14.** Zawartość miedzi (ppm s.m.) u larw żaby trawnej (*Rana temporaria*) eksponowanych na jony miedzi (0,2 ppm) i promieniowanie UV (UV-A = 0,24 kJ·m<sup>-2</sup>; UV-B = 2,71 kJ·m<sup>-2</sup>) Formicki i in., 2008b

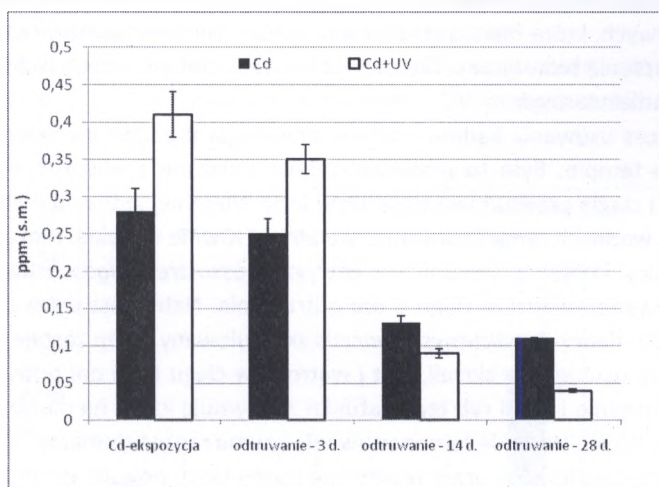


**Wykres 15.** Zawartość ołowiu (ppm s.m.) u larw żaby trawnej (*Rana temporaria*) eksponowanych na jony ołowiu (1 ppm) i promieniowanie UV (UV-A = 0,24 kJ·m<sup>-2</sup>; UV-B = 2,71 kJ·m<sup>-2</sup>) Formicki i in., 2006



W warunkach eksperymentalnych przy nadmiarze jonów miedzi w środowisku promieniowanie UV może zatem działać ochronnie na organizmy larw, hamując wychwyt miedzi przez komórki naskórka. Wydaje się jednak, że w warunkach naturalnych, kiedy stężenie jonów miedzi nie przekracza możliwości regulacji fizjologicznych organizmu, promieniowanie UV może prowadzić do upośledzenia pobierania miedzi przez skórę larw.

Promieniowanie UV nie miało istotnego wpływu na pobieranie jonów  $Pb^{2+}$  u larw żaby trawnej (wykres 15). Natomiast w okresie odtruwania promieniowanie UV było przyczyną niższego tempa usuwania ołowiu z organizmu naświetlanych larw (Formicki i in., 2006) – wykres 15. Z kolei jony kadmu kumulowały się w większej ilości u larw ekspozycyjnych na promieniowanie ultrafioletowe oraz były szybciej usuwane w obecności UV (Formicki i in., 2008a) – wykres 16.



**Wykres 16.** Zmiany zawartości kadmu (ppm s.m.) u larw żaby trawnej (*Rana temporaria*) w czasie ekspozycji na jony Cd (1 ppm) i w okresie odtruwania. Larwy były dodatkowo naświetlane promieniowaniem UV (UV-A = 0,24 kJ·m<sup>-2</sup>; UV-B = 2,71 kJ·m<sup>-2</sup>) Formicki i in., 2008a

Trudno jest wskazać jeden mechanizm, który powoduje, że promieniowanie UV nasila kumulację kadmu, zmniejsza kumulację miedzi i nie ma istotnego wpływu na wychwyt ołowiu u larw żaby trawnej. Różnice te są z pewnością wypadkową wielu zmian w systemach transportujących metale ciężkie obejmujących adsorpcję jonów na powierzchni komórek, transport

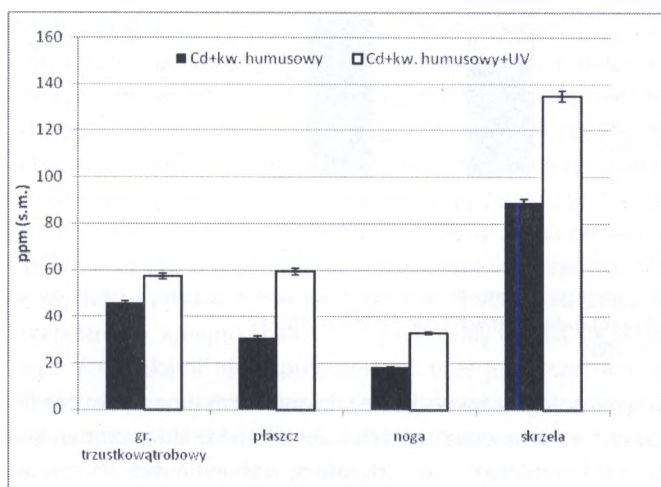
do ich wnętrza, transport wewnątrzkomórkowy i przeniesienie do krwi. Odnotowane różnice mogą być związane z odmiennym sposobem funkcjonowania transporterów miedzi Ctr w porównaniu z mechanizmem funkcjonowania transporterów innych metali. Jony miedzi  $\text{Cu}^{2+}$  zostają najpierw zredukowane do formy  $\text{Cu}^+$  przez specyficzne reduktazy ulokowane na powierzchni komórek. Dopiero forma  $\text{Cu}^+$  może zostać przeniesiona przez kanały Ctr (Balamurugan i Schaffner, 2006). Redukcja jonów miedzi teoretycznie może zostać zaburzona przez promieniowanie UV. Wiadomo, że promieniowanie to generuje w środowisku wodnym reaktywne formy tlenu, w tym nadtlenek wodoru (Kieber i in., 2001). Nadtlenek wodoru może natomiast prowadzić do utlenienia jonów miedzi  $\text{Cu}^+$  do  $\text{Cu}^{2+}$  w reakcji Fentona, z jednoczesnym wytworzeniem rodników hydroksylowych. Tak więc UV może obniżyć dostępność jonów miedzi dla transporterów Ctr. Co więcej, zjawisku temu może towarzyszyć powstawanie niezwykle niebezpiecznych rodników hydroksylowych, które niszczą struktury nabłonka. Niemniej jednak są to tylko przypuszczenia teoretyczne, nie znajdując na razie potwierdzenia w wynikach badań molekularnych.

Proces usuwania kadmu i ołowiu przebiegał u badanych larw w dość wysokim tempie. Było to prawdopodobnie związane z wysokim tempem rozwoju i ciągłą przebudową organizmu larw. Niemniej jednak u niektórych zwierząt wodnych tempo usuwania metali jest również wysokie. Han i współpracownicy (1993) stwierdzili, że ostryga *Crassostrea gigas* usuwa 91% skumulowanej miedzi w ciągu 6 dni odtruwania. Natomiast u juvenilnych osobników flądry *Paralichthys olivaceus* skumulowany kadm zostaje prawie całkowicie usunięty ze skrzeli, jelit i wątroby w ciągu kilku dni odtruwania. Jedynie mięśnie i nerki ryb tego gatunku zatrzymują kadm na dłuższy okres (Kim i in., 2004). Wysokie tempo usuwania kadmu można tłumaczyć indukcją syntezy metalotioneiny przez reaktywne formy tlenu powstające pod wpływem promieniowania UV, która z kolei przyspiesza proces detoksykacji (Cai i in., 1999). Ponadto wiadomo, że różne czynniki mogą przyspieszać tempo rozwoju larwalnego płazów (Burggren i Just, 1992). Ankley i współpracownicy (1998) zaobserwowali przyspieszenie rozwoju u larw *Rana pipiens* naświetlanych promieniowaniem UV. Inne badania wykazały, że światło słoneczne nasila oddziaływanie tyroksyny na metabolizm i przebudowę ciała kijanek *Rana pipiens* (Wright i in., 1986). Możliwe, że wskutek stresu wywołowanego przez UV i związanych z nim nasileniem przemian metabolicznych i rozwojowych doszło do szybszego usuwania kadmu z organizmu larw. Jednoznaczna interpretacja wpływu UV na usuwanie metali z organizmu larw utrudnia

fakt nieistotnych zmian w zawartości ołowiu u tych zwierząt po 3 dniach odtruwania. Warto jednak zaznaczyć, że poziom kadmu u larw naświetlanych UV był wyższy niż u osobników nienaświetlanych po 3 dniach odtruwania. Wyraźne przyspieszenie usuwania kadmu u larw naświetlanych promieniowaniem UV zostało zaobserwowane dopiero po 14 i 28 dniach. Wydaje się zatem, że trzydniowy okres odtruwania jest zbyt krótki, aby zaobserwować wpływ UV na usuwanie jonów ołowiu u larw żaby trawnej.

Niektóre czynniki fizyczne mogą pośrednio oddziaływać na kumulację metali ciężkich u organizmów żywych poprzez wpływ na specjację jonów w środowisku wodnym. Jednym z takich czynników jest promieniowanie UV. Wiadomo bowiem, że promieniowanie to powoduje częściowy rozkład substancji organicznych znajdujących się w wodzie (Dahlen i in., 1996). Ponieważ materiał organiczny pełni ważną rolę w wiązaniu kationów metali, można się spodziewać, że promieniowanie UV może być przyczyną wzrostu biologicznej dostępności metali w środowisku wodnym.

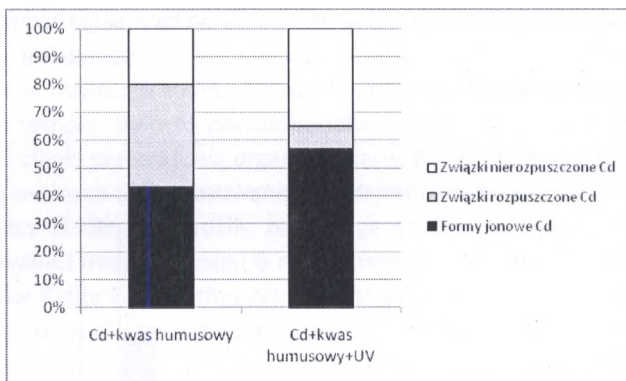
Badania nad wpływem promieniowania UV na kumulację kadmu u skójki zaostrej w obecności promieniowania UV przeprowadzili Formicki i współpracownicy (2009).



**Wykres 17.** Zawartość kadmu (ppm s.m.) w narządach skójki zaostrej (*Unio tumidus*) hodowanej w roztworach kadmu (1 ppm) i kwasu humusowego (OWO=28,8 ppm) oraz w roztworach kadmu i kwasu humusowego naświetlanych promieniowaniem UV (UV-A=1,73·10<sup>-6</sup> W·cm<sup>-2</sup>; UV-B=1,50·10<sup>-5</sup> W·cm<sup>-2</sup>)

Formicki i in., 2009

Wyniki tych badań wykazały, że najwięcej kadmu kumulowały małże hodowane w roztworach chlorku kadmu i kwasu humusowego naświetlanych promieniowaniem UV. Zaobserwowane różnice między osobnikami hodowanymi w roztworach zawierających wyłącznie jony Cd a małżami hodowanymi w roztworach naświetlanych promieniowaniem UV i zawierających jony Cd i kwas humusowy były statystycznie istotne ( $p < 0,0001$ ). Różnice te wystąpiły we wszystkich badanych narządach (wykres 17). Wykazano również, że wyższa kumulacja kadmu u zwierząt pochodzących z roztworów naświetlanych promieniowaniem UV była związana ze zmianą ich właściwości fizykochemicznych. W roztworach tych doszło do spadku stężenia ogólnego węgla organicznego z  $28,8 \pm 0,39$  do  $25,9 \pm 0,32$  ppm ( $p < 0,05$ ), wzrostu stosunku gęstości optycznej E4/E6 z 0,92 do 1,36; obniżenia pH z 7,55–7,64 do 7,35 oraz wzrostu przewodności właściwej z 423,5 do 465,3  $\mu\text{S}$ . Ponadto wystąpiły wyraźne zmiany specjacji kadmu (wykres 18).



**Wykres 18.** Specjacja kadmu w roztworach jonów Cd (1 ppm) i kwasu humusowego (OWO=28,8 ppm) naświetlanych promieniowaniem UV Formicki i in., 2009

Zmiany te polegały na wzroście stężenia form jonowych oraz form nierozpuszczonych kadmu w roztworach naświetlanych UV w porównaniu z roztworami nienaświetlanymi. W roztworach naświetlanych UV doszło natomiast do spadku stężenia związków rozpuszczonych kadmu.

Badania Kożuch i Pempkowiaka (1996) przeprowadzone na omulku jadalnym wykazały, że dostępność biologiczna kadmu związanego z cząsteczkami kwasu humusowego była zdeterminowana przez masę cząsteczkową substancji humusowych. Przy czym tempo kumulacji kadmu wzrastało wraz

ze zmniejszaniem się masy cząsteczkowej HA. Wyniki te wskazują, że częściowy rozkład substancji humusowych przez promieniowanie UV może prowadzić do wzrostu stężenia w roztworach cząstek o niskiej masie, które zwiększają dostępność kadmu dla badanych gatunków. Fakt degradacji substancji humusowych poddawanych ekspozycji na promieniowanie ultrafioletowe jest dobrze znany (Dahlen i in., 1996). W wyniku tego procesu w roztworach wodnych kwasu humusowego dochodzi do wzrostu stężenia dwutlenku węgla, tlenku węgla i kwasów karboksylowych o niskiej masie cząsteczkowej, które mają wysokie powinowactwo do jonów metali ciężkich (Salonen i Vähätalo, 1994; Conrad and Seiler, 1980, Dahlen i in., 1996). W kontekście wyników badań Kozuch i Pempkowiaka (1996) wiązanie się jonów kadmu i miedzi z kwasami karboksylowymi w roztworach eksponowanych na UV mogło być jedną z przyczyn ich zwiększonej dostępności dla błotniarki stawowej i skójkii zaostrowanej. Tym bardziej że niektóre produkty degradacji kwasu humusowego powodują obniżenie pH roztworu, co z kolei ułatwia mobilizację jonów Cu i Cd (Carvalho i in., 2008). Z drugiej jednak strony badania Formickiego i in. (2009) wykazały spadek stężenia rozpuszczonych związków kwasu humusowego i kadmu. Może to świadczyć, że rozpuszczone formy organiczne kadmu łatwo ulegają degradacji pod wpływem UV, co z kolei prowadzi do wzrostu stężenia wolnych jonów Cd w roztworze.

Wyniki analizy roztworów wodnych stosowanych w niniejszych badaniach wydają się potwierdzać te spekulacje. Właściwości optyczne roztworów, w szczególności wyższa wartość stosunku gęstości optycznej E4/E6, wskazują na wzrost stężenia związków o niskiej masie cząsteczkowej w roztworach kwasu humusowego naświetlanych UV w porównaniu z roztworami nienaświetlanymi (Lguirati i in., 2005). Odnotowany został ponadto spadek wartości pH w roztworach jonów metali i kwasu humusowego naświetlanych UV w porównaniu z pozostałymi roztworami, co świadczy o degradacji materiału organicznego. Kolejne analizy wody wykazały wzrost stężenia kadmu połączonego z cząstkami nierozpuszczonymi przy jednoczesnym wzroście przewodności właściwej w roztworach metali i kwasu humusowego naświetlanych promieniowaniem UV. Zwiększona przewodność świadczy o pojawieniu się w roztworach cząstek niosących ładunek elektryczny, na przykład wolnych jonów metali. Wzrost stężenia wolnych jonów i przewodności właściwej oraz większa ilość jonów związanych z materiałem nierozpuszczonym w roztworach eksponowanych na UV są prawdopodobnie tylko pozornie sprzeczne. Można bowiem przypuszczać, że absorpcja energii promieniowania UV przez związki humusowe o dużej masie cząsteczkowej prowadziła do

ich rozpadu na mniejsze. Doprowadziło to prawdopodobnie do uwolnienia wielu jonów kadmu. Nadal jednak wiele cząstek kwasu humusowego mogło mieć średnicę przekraczającą  $0,45 \mu\text{m}$  (średnica porów w mikromembranie pozwalającej oddzielić materiał rozpuszczony od zawieszonego w wodzie).

Uzyskane wyniki wydają się świadczyć o tym, że w wyniku rozpadu naświetlanego materiału doszło do zwiększenia sumarycznej powierzchni cząstek nierozpuszczonych oraz wzrostu ilości miejsc wykazujących powinowactwo do jonów kadmu. Najprawdopodobniej najbardziej wzrosła liczba oddziaływań elektrostatycznych między cząstkami nierozpuszczanymi i jonami Cd. Wydaje się zatem, że formy jonowe oraz formy kadmu związane materiałem nierozpuszczonym stanowiły główne źródło tego metalu dla badanego gatunku małża. Niektóre badania wykazują, że metale ciężkie związane na powierzchni molekuł tworzących zawiesinę są łatwiej pobierane przez skrzelą ryb niż formy jonowe (Tao i in., 2000). Podobne zjawisko zaobserwowano u małży. Formicki i współpracownicy (2009) wykazali statystycznie istotną korelację między stężeniem jonów kadmu związanych z materiałem nierozpuszczonym a kumulacją kadmu w skrzelach skójkii zaostrowanej. Mechanizm tego zjawiska został przedstawiony przez Tao i współpracowników (1999a, 1999b). Według niego duże cząstki zawieszone w wodzie mocniej przylegają do śluzu pokrywającego skrzelą. Daje to więcej czasu na desorpcję jonów metali. Natomiast sam mechanizm desorpcji związany jest z nieco niższym pH panującym w mikrośrodowisku skrzelii w porównaniu z pH środowiska wodnego. W środowisku o  $\text{pH}=7,2$  odczyn wody znajdującej się między blaszkami skrzelowymi wynosi ok. 6,9, co związane jest w wydzielaniem  $\text{CO}_2$  i  $\text{HCO}_3^-$ . Ponadto duże cząstki wiążące na swojej powierzchni jony metali mogą być fagocytowane przez komórki nabłonka (Tao i in., 2000). Mechanizm ten może również tłumaczyć zwiększoną kumulację kadmu przez skójkę zaostrowaną (Formicki i in., 2009) w obecności form rozpuszczonych i nierozpuszczonych substancji humusowych, jonów metali oraz promieniowania UV.

## 4. Wnioski

1. Metale ciężkie występują w środowisku wodnym głównie w postaci form nierozpuszczonych. Największe stężenia metali ciężkich zostały stwierdzone w osadach zalegających przy dnie zbiorników wodnych. Badane zbiorniki różniły się pod względem całkowitej zawartości oraz stężenia form rozpuszczonych i nierozpuszczonych metali w wodzie i osadach dennych. Największe zróżnicowanie dotyczyło stężenia badanych frakcji miedzi w wodzie i osadach dennych oraz ołowiu w osadach dennych. Na szczególną uwagę zasługuje silne skażenie ołowiem występujące w stawie hodowlanym ryb w Słupowie, powiat miechowski.
2. Kumulacja metali ciężkich u badanych zwierząt była zależna od stężenia metali w środowisku. Najwyższa zawartość ołowiu stwierdzona została u leszcza ze stawu hodowlanego w Słupowie. W osadzie zebrany z dna tego zbiornika stwierdzono najwyższe skażenie tym pierwiastkiem. Uzyskane wyniki wydają się również świadczyć o tym, iż kumulacja metali ciężkich u skóry zaostrej jest głównie związana z zawartością metali ciężkich w osadzie dna zbiorników wodnych.
3. Zwierzęta środowiska wodnego wykazują zróżnicowanie gatunkowe pod względem kumulacji metali ciężkich. Osobniki błotniarki stawowej odłowione w starorzeczu Nidy kumulowały więcej kadmu niż osobniki skóry zaostrej z tego samego zbiornika wodnego. Na szczególną uwagę zasługuje kumulacja metali w mięśniach ryb. Spośród badanych gatunków ryb bytujących w tym samym zbiorniku wodnym najwięcej miedzi i cynku stwierdzono w mięśniach karasia, natomiast największe stężenie toksycznych metali (Cd, Pb) w mięśniach jazia. U jazia zaobserwowano również najwyższą zawartość ołowiu i kadmu w skrzelach, które odgrywają najważniejszą rolę w pobieraniu metali ciężkich ze środowiska.

4. Zawartość cynku w skrzelach karasia przewyższała stężenie tego pierwiastka spotykane w tkankach ssaków i wielu gatunków ryb. Ryba ta dorównuje pod tym względem kilku innym gatunkom, jak np. pstrąg potokowy, sieja pospolita czy karp.
5. Kumulacja metali ciężkich u zwierząt wodnych wykazuje różnicowanie międzynarządowe. Błotniarka stawowa z reguły kumuluje największe ilości metali w gruczole trzustkowątrobowym. Rozkład zawartości metali w narządach skórki zaostromej był różny u osobników pochodzących z różnych zbiorników wodnych. Z reguły jednak największe stężenie metali występowało w skrzelach, które odgrywają najważniejszą rolę w procesie kumulacji metali ciężkich u zwierząt skrzelodysznych. Ryby z reguły wykazują najwyższą zawartość metali w skrzelach, wątrobie i kościach. W znacznie niższych stężeniach pierwiastki te występują w mięśniach i skórze.
6. Biologiczna dostępność metali ciężkich dla zwierząt wodnych może być modyfikowana przez różne czynniki fizyczne i chemiczne. Świadczą o tym następujące obserwacje:
  - obecność kwasu humusowego w hodowlach eksperymentalnych powodowała wzrost dostępności biologicznej kadmu dla skórki zaostromej i jej spadek dla błotniarki stawowej;
  - w skrzelach skórki zaostromej stwierdzone zostały istotne zależności między stężeniem kadmu, wapnia, żelaza, cynku i miedzi;
  - promieniowanie UV zwiększa śmiertelność larw żaby trawnej hodowanych w obecności jonów kadmu. Ważną przyczyną wzrostu śmiertelności była wyższa kumulacja kadmu u osobników naświetlanych promieniowaniem UV. Larwy eksponowane na promieniowanie ultrafioletowe i jony kadmu kumulowały kadm w większej ilości oraz szybciej usuwały go z organizmu niż larwy nienaświetlane. Natomiast naświetlanie ultrafioletem hamowało proces kumulacji miedzi u larw żaby trawnej oraz nie miało istotnego wpływu na kumulację ołowiu. Promieniowanie ultrafioletowe może mieć zatem odmienny wpływ na kumulację i metabolizm różnych kationów w zależności od ich właściwości toksycznych oraz roli pełnionej w organizmach zwierząt;
  - promieniowanie ultrafioletowe zwiększa dostępność jonów kadmu w środowisku wodnym poprzez modyfikację oddziaływań zachodzących między jonami metali i substancjami humusowymi. Przeprowadzone ba-



Badania wykazały, że w roztworach kadmu i kwasu humusowego naświetlanych promieniowaniem UV dochodzi do stopniowej degradacji materiału organicznego, co jest przyczyną niewielkiego obniżenia pH wody i uwolnienia części jonów Cd. Jednocześnie dochodzi do obniżenia stężenia jonów kadmu związanych z materiałem rozpuszczonym i wzrostu stężenia jonów związanych z cząstkami zawieszonymi w wodzie. Wzrost stężenia frakcji kadmu związanego słabymi oddziaływaniami elektrostatycznymi z dużymi cząstkami zawieszonymi w wodzie oraz wzrost stężenia wolnych jonów Cd były prawdopodobnie główną przyczyną wzrostu dostępności tego metalu w roztworach kwasu humusowego naświetlanych UV. Niektórzy autorzy sugerują, że duże cząstki mocniej przylegają do śluzu pokrywającego skrzela i skórę zwierząt wodnych, co wydłuża czas potrzebny na desorpcję jonów metali ciężkich. Ponadto można przypuszczać, że zmiana specjacji kadmu (głównie wiązanie z dużymi cząstkami organicznymi) w wodzie naświetlanej UV zwiększa znaczenie drogi pokarmowej w pobieraniu tych metali ze środowiska.



## Summary

The research investigated the content of heavy metals: Cd, Cu, Pb, Zn, Fe, in organs of the swollen river mussel (*Unio tumidus*), the great pond snail (*Lymnaea stagnalis*), the ide (*Leuciscus idus*), the European perch (*Perca fluviatilis*), the crucian carp (*Carassius carassius*) and the bream (*Abramis brama*), found in several locations in southern Poland in the Malopolskie voivodeship: the Wisła river (Nowe Brzesko), the old river bed of the Wisła river (Wawrzeńczyce), a fish breeding pond (Słupów), Lake Rożnowskie; as well as in the Świętokrzyskie voivodeship (the old river bed of the Nida river, Lake Pińczów). In the examined reservoirs, total concentration of Cd, Cu, Pb, Fe was tested, as well as the concentration of the metals' dissolved and not dissolved forms in reservoir water and bottom sediments. The second stage of the research concerned the influence of organic substances in aquatic environment and of the UV radiation on bioavailability of heavy metals such as Cd, Cu, and Pb to the swollen river mussel (*Unio tumidus*), the great pond snail (*Lymnaea stagnalis*) and the larvae of the common frog (*Rana temporaria*).

The collected samples of bottom sediments contained the most of iron ( $72,98 \pm 15,53$  -  $97,54 \pm 22,06$  ppm d.m.). The lowest concentration was that of cadmium ( $0,48 \pm 0,09$  -  $0,76 \pm 0,14$  ppm d.m.). In water, the not dissolved metal forms were the prevailing ones. In the examined samples of water the greatest concentration was that of iron ( $2,37 \pm 0,47$  -  $1,61 \pm 0,19$  ppm). The lowest concentration was that of cadmium ( $0,09 \pm 0,03$  -  $0,06 \pm 0,03$  ppm). Heavy metals accumulation in animal organisms was dependent on the metals concentration in the environment. In the examined species of fish, the metals in the highest concentration were zinc and iron. A particularly high concentration of zinc was observed in the gills of the crucian carp ( $339,32 \pm 54,62$  ppm d.m.). Iron in the highest concentration was found in the liver of the bream ( $147,34 \pm 54,25$  -  $624,48 \pm 148,10$  ppm d.m.). Among the xenobiotic metals, the one in the highest concentration was lead. High concentration of this metal was discovered in organs of the bream from the fish pond in Słupów ( $3,13 \pm 0,59$  ppm d.m. - muscles;  $29,77 \pm 10,36$  ppm d.m.

– bones), which was connected with the highest lead pollution of this reservoir. The examined animals showed species diversification with regard to the content of particular metals. Taking into consideration the contamination of muscles, it was discovered that the greatest content of toxic metals (Pb –  $4,44 \pm 1,43$ ; Cd –  $0,42 \pm 0,16$  ppm d.m.) was in the organs of the ide. Among the examined molluscs, the great pond snail accumulated in its digestive gland more cadmium ( $6,40 \pm 2,40$  ppm d.m.) than the swollen river mussel ( $3,39 \pm 0,18$  ppm d.m.). The examined metals showed a characteristic distribution in organs. The great pond snail accumulated most metals in its digestive gland, while in the swollen river mussel the highest concentration of metals was usually in the gills. In fish, the highest metal concentration was found in gills, bones and liver. Research into the bioavailability of heavy metals showed that humic acid lowers bioavailability of cadmium to the great pond snail and increases its bioavailability to the swollen river mussel. UV radiation increases the uptake and accelerates elimination of cadmium, lowers the uptake of copper, and is neutral in the accumulation of lead in the larvae of the common frog. UV radiation also increases the availability of cadmium to the swollen river mussel bred in the presence of the humic acid. This phenomenon is connected with the change of cadmium chemical speciation in water subjected to UV radiation.

The conducted research shows that heavy metals are present in aquatic environment mainly in insoluble forms. The greatest concentration of metals is found in bottom sediments. Accumulation of metals in animal tissues is connected with their content in the environment. Aquatic animals show species diversification with regard to metal content in particular organs. Chemical (e.g. humic acid) and physical (UV radiation) factors significantly influence bioavailability of heavy metals in aquatic environment.

**Key words:**

Cd, Cu, Pb, Zn, Fe, *Unio tumidus*, *Lymnaea stagnalis*, *Leuciscus idus*, *Perca fluviatilis*, *Carassius carassius*, *Abramis brama*, *Rana temporaria*, metal speciation, accumulation, bioavailability, humic acid, UV radiation.

## Literatura

- Adman E.T. 1991. "Structure and function of copper-containing proteins". *Current Opinion in Structural Biology*, 1, 895–904.
- Andersson S., Nilsson S.I. 2001. "Influence of pH and temperature on microbial activity, substrate availability of soil-solution bacteria and leaching of dissolved organic carbon in a mor humus". *Soil Biology & Biochemistry*, 33, 1181–1191.
- Ankley G. T., Tietge J. E., DeFoe D. L., Jensen K. M., Holcombe G. W., Durhan E. J., Diamond S. A. 1998. "Effects of ultraviolet light and methoprene on survival and development of *Rana pipiens*". *Environmental Toxicology & Chemistry*, 17, 2530–2542.
- Appelblad P.K., Baxter D.C., Thunberg J.O. 1999. "Determination of metal-humic complexes, free metal ions and total concentrations in natural waters". *Journal of Environmental Monitoring*, 1, 211–217.
- Asmuss M., Mullenders L.H., Eker A., Hartwig A. 2000. "Differential effects of toxic metal compounds on the activities of Fpg and XPA, two zinc finger proteins involved in DNA repair". *Carcinogenesis*, 21, 2097–2104.
- Balamurugan K., Schaffner W. 2006. "Copper homeostasis in eukaryotes: teetering on a tightrope". *Biochimica et Biophysica Acta*, 1763, 737–746.
- Balasubramanian S., Pappathi R., Raj S.P. 1995. "Bioconcentration of zinc, lead and chromium in serially connected sewage fed fish ponds". *Bioresources technology*, 5, 193–197.
- Baldisserotto M.J., Chowdhury Wood M.C. 2005. "Effects of dietary calcium and cadmium on cadmium accumulation, calcium and cadmium uptake from the water, and their interactions in juvenile rainbow trout". *Aquatic Toxicology*, 72, 99–117.
- Benedetti M.C., Milue C.J., Kimiburgh D.G., van Riemsdijk W.H., Koopal L.K. 1995. "Metal ion binding to humic substances: Application of the non-ideal competitive adsorption model". *Environmental Science and Technology*, 29, 446–457.
- Bertinato J., L'Abbe M.R. 2004. "Maintaining copper homeostasis: regulation of copper-trafficking proteins in response to copper efficiency or overload". *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15, 316–322.
- Bervoets L., Voets J., Covaci A., Chu S., Qadah D., Smolders R., Schepens P., Blust R. 2005. "Use of transplanted zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) to assess the bioavailability of microcontaminants in Flemish surface waters". *Environmental Science and Technology*, 39, 1492–1505.
- Bianchini A., Martins S.E.G., Baraccolli I.F. 2004. "Mechanism of acute copper toxicity in euryhaline crustaceans: implications for Biotic Ligand Model". *International Congress Series*, 1275, 189–194.

- Bijvelds M.J.C., Flik G., Wendelaar Bonga S.E. 1997. "Mineral balance in *Oreochromis mossambicus*: dependence on magnesium in diet and water". *Fish Physiology and Biochemistry*, 16, 323–331.
- Bijvelds M.J.C., Kolar Z.I., Wendelaar Bonga S.E., Flik G. 1996. "Magnesium transport across the basolateral plasma membrane of the fish enterocyte". *Journal of Membrane Biology*, 154, 217–225.
- Birge W.J., Black J.A. 1979. "Effects of copper on embryonic and juvenile stages of aquatic animals". In: J.O.Nriagu. *Copper in the Environment*, J.Wiley and Sons, NY p.: 373–399.
- Birge, W.J., Just, J.J., Westerman, A.G., Black, J.S., Roberts, O.W. 1975. *Sensitivity of vertebrate embryos to heavy metals as a criterion of water quality. Phase II. Bioassay Procedures Using Developmental Stages as Test Organisms. Research Report, No.84*, Water Resources Research Institute, University of Kentucky, Lexington, KY: 36.
- Bjerregaard P., Andersen O. 2007. "Ecotoxicology of metals – sources, transport, and effects in the ecosystem." In: Nordberg G.F., Fowler B.A., Nordberg M., Friberg L.T. *Handbook on the toxicology of metals*. Elsevier, Amsterdam–Tokyo, 251–280.
- Bopp S.K., Abicht H.K., Knauer K. 2008. "Copper-induced oxidative stress in rainbow trout gill cells". *Aquatic Toxicology*, 86, 197–204.
- Boujelben M., Ghorbel F., Vincent C., Makni-Ayadi F., Guermazi F., Croute F., El-Feki A. 2006. "Lipid peroxidation and HSP72/73 expression in rat following cadmium chloride administration: Interactions of magnesium supplementation". *Experimental and Toxicologic Pathology*, 57, 437–443.
- Bouskill N. J., Handy R.D., Ford T.E., Galloway T.S. 2006. "Differentiating copper and arsenic toxicity using biochemical biomarkers in *Asellus aquaticus* and *Dreissena polymorpha*". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65, 342–349.
- Boutilier R.G., Stiffler D.F., Toews D.P. 1992. "Exchange of respiratory gases, ions and water in amphibious and aquatic amphibians". In: Feder M. E., Burggren W. W. *Environmental physiology of the Amphibia*. The University of Chicago Press: Chicago and London, 81–124.
- Burggren W.W., Just J.J. 1992. "Developmental changes in physiological systems". In: Feder M.E., Burggren W.W. *Environmental Physiology of the Amphibians*. The University of Chicago Press: Chicago and London, 467–530.
- Cai L., Cherian M.G. 2003. "Zinc-metlothionein protects from DNA damage induced by radiation better than glutathione and copper- or cadmium-metlothioneins". *Toxicology Letters*, 136, 193–198.
- Cai L., Satoh M., Tohyama C., Cherian G. 1999. "Metlothionein in radiation exposure: its induction and protective role". *Toxicology*, 132, 85–98.
- Canesi L., Ciacci C., Gallo G. 2000. "Hg<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> interfere with agonist-mediated Ca<sup>2+</sup> signaling in isolated *Mytilus* digestive gland cells". *Aquatic Toxicology*, 49, 1–11.
- Carvalho S.I.M., Otero M., Duarte A.C., Santos E.B.H. 2008. "Effects of solar radiation on the fluorescence properties and molecular weight of fulvic acids from pulp mill effluents". *Chemosphere*, 71, 1539–1546.

- Casalino E., Calzeretti G., Sblano C., Landriscina C. 2002. "Molecular inhibitory mechanism of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium". *Toxicology*, 179, 37–50.
- Chelomin V.P., Bobkova E.A., Lukyanova O.N., Chekmasova N.M. 1995. "Cadmium-induced alterations in essential trace element homeostasis in the tissues of scallop *Mizuhopecten yessoensis*". *Comparative Biochemistry and Physiology – Part C: Toxicology, Pharmacology, Endocrinology*, 110, 329–335.
- Cherian M.G., Howell S.B., Imura N., Klaassen C.D., Koropatnick J., Lazo J.S., Waalkes M.P. 1994. "Contemporary Issues in Toxicology: Role of Metallothionein in Carcinogenesis". *Toxicology and Applied Pharmacology*, 126, 1–5.
- Chubanov V., Gudermann T., Schlingmann K.P. 2005. "Essential role for TRPM6 in epithelial magnesium transport and body magnesium homeostasis". *European Journal of Physiology*, 451, 228–234.
- Coeurdassier M., De Vaufléury A., Badot P.M. 2003. "Bioconcentration of cadmium and toxic effects on life-history traits of pond snail (*Lymnaea palustris* and *Lymnaea stagnalis*) in laboratory bioassay". *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45, 102–109.
- Conrad R., Seiler W. 1980. "Photooxidative production and microbial consumption of carbon monoxide in seawater". *FEMS Microbiology Letters*, 9, 61–64.
- Cornelis R., Nordberg M. 2007. "General chemistry, sampling, analytical methods, and speciation". In: Nordberg G.F., Fowler B.A., Nordberg M., Friberg L.T. *Handbook on the toxicology of metals*. Elsevier, Amsterdam–Tokyo, 11–64.
- Dahlen J., Bertillon S., Pettersson C. 1996. "Effects of UV-A irradiation on dissolved organic matter in humic surface waters". *Environment International*, 22, 501–506.
- Das S., Jana B.B. 1992. "Dose-dependent uptake and Eichhornia-induced elimination of cadmium in various organs of the freshwater mussel, *Lamellidens marginalis* (Linn.)". *Ecological Engineering*, 12, 207–229.
- Demuyne S., Grumiaux F., Mottier V., Schikorski D., Lemière S., Leprêtre A. 2007. "Cd/Zn exposure interactions on metallothionein response in *Eisenia fetida* (Annelida, Oligochaeta)". *Comparative Biochemistry and Physiology – Part C: Toxicology & Pharmacology*, 145, 658–668.
- Desouky M.M., Powell J.J., Jugdaohsingh R., White V., McCrohan C.R. 2002. "Influence of oligomeric silicic and humic acids on aluminum accumulation in a freshwater grazing invertebrate". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53, 382–387.
- Dobranskyte A., Jugdaohsingh R., McCrohan C.R., Stuchlik E., Powell J.J., White K.N. 2006. "Effect of humic acid on water chemistry, bioavailability and toxicity of aluminium in the freshwater snail, *Lymnaea stagnalis*, at neutral pH". *Environmental Pollution*, 140, 340–347.
- Dojlido, J.R. 1987. *Chemia wody*. Arkady, Warszawa.
- Džugan M. 2008. "The effect of cadmium on N-acetyl-β-D-hexosaminidase activity in chick fetuses organs", *Slovak Journal of Animal Science*, 41,4: 198.

- Dżugan M., 2009. "Cadmium as an environmental carcinogen". In: Cipora E. *Environmental determinants of cancer. Care, treatment and prevention. 5<sup>th</sup> International Conference of Oncology*, Sanok (in print).
- Dżugan M., Juszczyk M. 2006. "Carcinogenic substances in cigarette smoke". *Zdrowie Publiczne*, 116, 4, 627–630.
- Eisler R. 1971. "Cadmium Poisoning in *Fundulus heteroclitus* (Pisces: Cyprinodontidae) and Other Marine Organisms". *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 28(9):1225–1234.
- Ferrari L., Saliban A., Muino C.V. 1993. "Selective protection of temperature against cadmium acute toxicity to *Bufo arenarum* tadpoles". *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 50, 212–218.
- Ferrari L., Saliban A., Muino C.V. 1993. "Selective protection of temperature against cadmium acute toxicity to *Bufo arenarum* tadpoles". *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 50, 212–218.
- Formicki G., Stawarz R. 2006. "Kumulacja kadmu u błotniarki stawowej (*Lymnaea stagnalis*) zasiedlającej sztuczne stawy ogrodowe w Pleśnej w województwie małopolskim". *XXII Krajowe Seminarium Malakologiczne*, Huta Szklana – Kielce – Św. Krzyż, 26–28 kwietnia, p. 14.
- Formicki G., Stawarz R. 2010. "Cadmium deposition in water, sediments and tissues of aquatic animals". In: Formicki G., Stawarz R. *Toxicity of heavy metals to biological systems*. Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Pedagogicznego, Kraków.
- Formicki G., Stawarz R., Formicka A., Jancova A. 2007. "The influence of ultraviolet radiation on cadmium availability to great pond snail (*Lymnaea stagnalis*) in the presence of high level of dissolved organic carbon". *Proceedings of SECOTOX Conference and the International Conference on Environmental Management Engineering, Planning and Economics*. Skiathos, June 24–28, 2007, pp. 259–263.
- Formicki G., Stawarz R., Kłyżczek A. 2008b. "Ultraviolet radiation influence on copper ions accumulation and depuration in common frog larvae (*Rana temporaria* L.)". *Ecological Chemistry and Engineering*, 15, 327–330.
- Formicki G., Stawarz R., Lukač N., Putała A., Kuczkowska A. 2008a. "Combined effect of cadmium and ultraviolet radiation on mortality and mineral content in common frog (*Rana temporaria*) larvae". *Journal of Environmental Science and Health Part A, Toxic/Hazardous Substances and the Environmental Engineering*, 43, 1174–1183.
- Formicki G., Stawarz R., Massanyi P., Guzik M., Łaciak T., Goc Z., Kilian K. 2009. "Cadmium availability to freshwater mussel (*Unio tumidus*) in the presence of organic matter and UV radiation". *Journal of Environmental Science and Health Part A, Toxic/Hazardous Substances and the Environmental Engineering*, 44, 808–819.
- Formicki G., Stawarz R., Zamachowski W. 2006. "Combined effects of lead ions and UV radiation on general metabolism in common frog *Rana temporaria* Linnaeus, 1758 larvae". *Ecological Chemistry and Engineering*, 13, 23–27.



- Formicki G., Zamachowski W., Stawarz R. 2003. "Effects of UV-A (320–400 nm) and UV-B (280–320 nm) on oxygen consumption in common toad *Bufo bufo* (L.) tadpoles". *Journal of Zoology* (London), 259, 317–326.
- Fox P.L., Mukhopadhyay C., Ehrenwald E. 1995. "Structure, oxidant activity, and cardiovascular mechanisms of human ceruloplasmin". *Life Sciences*, 56, 1749–1758.
- Gaetke L.M., Chow C.K. 2003. "Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients". *Toxicology*, 189, 147–163.
- George S.G., Coombs T.L. 1977. "The effects of chelating agents on the uptake and accumulation of cadmium by *Mytilus edulis*". *Marine Biology*, 39, 261–268.
- Giulivi C., Cadenas E. 1998. "The role of mitochondrial glutathione in DNA base oxidation". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 1366, 265–274.
- Gondar D., Lopez R., Fiol S., Antelo J.M., Arce F. 2006. "Cadmium, lead and copper binding to humic acid and fulvic acid extracted from an ombrotrophic peat bog". *Geoderma*, 135, 196–203.
- Grosell M., McDonald M.D., Wood C.M., Walsh P.J. 2004. "Effects of prolonged copper exposure in the marine gulf toad (*Opsanus beta*) I. Hydromineral balance and plasma nitrogenous waste products". *Aquatic Toxicology*, 68, 249–262.
- Hambidge K.M., Casey C.E., Krebs N.F. 1986. "Zinc" In: Mertz W. *Trace elements in human and animal nutrition*, fifth edition. Orlando, FL: Academic Press, pp. 3–28.
- Han B.C., Jeng W.L., Tsai Y.N., Jeng M.S. 1993. "Depuration of copper and zinc by green oysters and blue mussel of Taiwan". *Environmental Pollution*, 82, 93–97.
- Hanada K. 2000. "Photoprotective role of metallothionein in UV-injury – metallothionein-null mouse exhibit reduced tolerance against ultraviolet B". *Journal of Dermatological Science*, Supplement 1, 23, 51–56.
- Handy R.D., Eddy F.B., Baines H. 2002. "Sodium-dependent copper uptake across epithelia: a review of rationale with experimental evidence from gill and intestine". *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, 1566, 104–115.
- Hartwig A. 2001. "Zinc finger proteins as potential targets for toxic metal ions: differential effects on structure and function". *Antioxidants & Redox Signaling*, 3, 625–634.
- Heeseon J., Choi Jungyoun J.i., Kyung H.O., Chung In-Young A.H.N. 2007. "Cadmium bioaccumulation and detoxification in the gill and digestive gland of the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*". *Comparative Biochemistry and Physiology – Part C: Toxicology & Pharmacology*, 145, 227–235.
- Jeng S.S., Wang J.T., Sun L.T. 1999. "Zinc and zinc binding substances in the tissues of common carp". *Comparative Biochemistry and Physiology*, B, 122, 461–468.
- Jensen L.J., Willumsen N.J., Amstrup J., Larsen E.H. 2003. "Proton pump-driven cutaneous chloride uptake in anuran amphibian". *Biochimica et Biophysica Acta*, 1618, 120–132.
- Jing G., Li Y., Xie L., Zhang R. 2007. "Different effects of Pb<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> on immune and antioxidant enzyme activities in the mantle of *Pinctada fucata*". *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24, 122–128.

- Kagawa, T.F., Geierstangesr, B.H., Wang, A.H.J., Shing Ho, P. (1991), "Covalent modification of guanine bases in double-stranded DNA". *The Journal of Biological Chemistry*, 266, 20175–20184.
- Kalay M. 2006. "The effects of cadmium on the level of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, and Mg<sup>2+</sup> in serum of *Tilapia nilotica* (Linnaeus, 1758)". *Ekoloji*, 15, 1–7.
- Karbach U., Rummel W. 1990. "Cellular and paracellular magnesium transport across the terminal ileum of the rat and its interaction with the calcium transport". *Gastroenterology*, 98, 985–992.
- Katsev S., Tsandev I., L'Heureux I., Rancourt D.G. 2006. "Factors controlling long-term phosphorus efflux from lake sediments: Exploratory reactive-transport modeling". *Chemical Geology*, 234, 127–147.
- Kehres D.G., Maguire M.E. 2002. "Structure, properties and regulation of magnesium transport proteins". *Biometals*, 15, 261–270.
- Kerr R.A. 1993. "Ozone takes a nose dive after the eruption of Mt. Pinatubo". *Science*, 60, 490–491.
- Kieber R.J., Peake B., Willey J.D., Jacobs B. 2001. "Iron speciation and hydrogen peroxide concentrations in New Zealand rainwater". *Atmospheric Environment*, 35, 6041–6048.
- Kim S.G., Jee J.H., Kang J.C. 2004. "Cadmium accumulation and elimination in tissues of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* after sub-chronic cadmium exposure". *Environmental Pollution*, 127, 117–123.
- Kleinzeller A., Booz G.W., Mills J.W., Ziyadeh F.N. 1990. "pCMBS-induced swelling of dogfish (*Squalus acanthias*) rectal gland cells: role of the Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase and the cytoskeleton". *Biochimica et Biophysica Acta. Biomembranes*, 1025, 21–31.
- Knöpfel M., Smith C., Solioz M. 2005. "ATP-driven copper transport across the intestinal brush border membrane". *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 330, 645–652.
- Kolesarova A., Slamecka J., Jurcik R., Tataruch F., Lukac N., Kovacik J., Capcarova M., Valent M., Massanyi P. 2008. "Environmental levels of cadmium, lead and mercury in brown hares and their relation to blood metabolic parameters". *Journal of Environmental Science and Health A Toxic/Hazardous Substances and the Environmental Engineering*, 43, 653–657.
- Kozuch J., Pempkowiak J. 1996. "Molecular weight of humic acid as a major property of the substances influencing the accumulation rate of cadmium by a blue mussel (*Mytilus edulis*)". *Environment International*, 22, 585–589.
- Krumschnabel G., Manzl C., Berger C., Hofer B. 2005. "Oxidative stress, mitochondrial permeability transition, and cell death in Cu-exposed trout hepatocytes". *Toxicology and Applied Pharmacology*, 209, 62–73.
- Kuczowska-Kuźniar A., Ciągło A., Formicki G., Stawarz R., Goc Z., Kilian K., Guzik M. 2009. "Cadmium availability to *Piscicola geometra* in the presence of humic acid". *5th Biological Days, Nitra 8–9*, 10, 162–166.

- Kuimr A., Kaur I., Mathur R.P. 1996. "Speciation profile of cadmium and its bioconcentration in an aquatic system". *Environmental Technology*, 17, 629–635.
- Lee J-M., Gardner R.C. 2006. "Residues of the yeast ALR1 protein that are critical for magnesium uptake". *Current Genetics*, 49, 7–20.
- Lguirati A., Ait Baddi G., El Mousadik A., Gilard V., Revel J.C., Kafidi M. 2005. "Analysis of humic acids from aerated and non-aerated urban landfill composts". *International Biodeterioration Biodegradation*, 56, 8–16.
- Liess M., Champeau O., Riddle M., Schultz R., Duquesne S. 2001. "Combined effects of ultraviolet-B radiation and food shortage on the sensitivity of the Antarctic amphipod *Paramoera walkeri* to copper". *Environmental Toxicology & Chemistry*, 20, 2088–2092.
- Linetsky M., James H.L., Ortwerth B.J. 1996. "The generation of superoxide anion by the UVA irradiation of human lens proteins". *Experimental Eye Research*, 63, 67–74.
- Lodge J.K., Traber M.G., Packer L. 1998. "Thiol chelation of Cu<sup>2+</sup> by dihydrolipoic acid prevents human low density lipoprotein peroxidation". *Free Radical Biology and Medicine*, 25, 287–297.
- Loumbourdis N.S., Kyriakopoulou-Sklavounou P., Zachariadis G. 1999. "Effects of cadmium exposure on bioaccumulation and larval growth in the frog *Rana ridibunda*". *Environmental Pollution*, 104, 429–433.
- Lukač N., Massanyi P., Krockova J., Nad P., Slamecka J., Ondruska L., Formicki G., Trandzik J. 2009. "Relationship between trace element concentrations and spermatozoa quality in Rabbit semen". *Slovak Journal of Animal Science*, 42, Supplement 1, 46–50.
- Mackenzie N.C., Brito M., Reyes A.E., Allende M.L. 2004. "Cloning, expression pattern and essentiality of high-affinity copper transporter 1 (ctr1) gene in zebrafish." *Gene*, 328, 113–120.
- Martelli A., Rousselet E., Dycke C., Bouron A., Moulis J.M. 2006. "Cadmium toxicity in animal cells by interference with essential metals". *Biochimie*, 88, 1807–1814.
- Martinez C.E., Jacobson A.R., McBride M.B. 2003. "Aging and temperature effects on DOC and elemental release from a metal contaminated soil". *Environmental Pollution*, 122, 135–143.
- Massanyi P., Lukac N., Kovacic J., Trandzik J., Nad P., Skalicka M., Toman R., Krockova J., Stawarz R., Kolesarova A., Formicki G. 2007. "Environmental contaminants in animal semen and spermatozoa quality". In: Wang Yajun, Li Shengcai, Huang Ping, Yang Yuzhong, An Ying, Sun Xiuyun. *Progress in Environmental Science and Technology*. Science Press USA Inc. 165–171.
- Milne D.B., Davis C.D., Nielsen F.H. 2001. "Low dietary zinc alters indices of copper function and status in postmenopausal women". *Nutrition*, 17, 701.
- Moiseenko T.I., Kudryavtseva L., Rodyushkin I., Dauvalter V., Lukin A., Kashulin N. 1995. "Airborne contaminants by heavy metals and aluminium in the freshwater ecosystems of the Kola subarctic region, Russia". *Science of the Total Environment*, 160/161, 725–727.

- Moiseenko T.I., Kudryavtseva L.P. 2001. "Trace metal accumulation and fish pathologies in areas affected by mining and metallurgical enterprises in the Kola Region, Russia". *Environmental Pollution*, 114, 285–297.
- Müller S.R., Wehrli B., Wüest A., Xue H., Sigg L. 1997. "The fate of trace pollutants in natural waters – lakes as real-world test tubes". *Chimia*, 51, 935–940.
- Nascimento S.F., Kurzwiel H., Wruss W., Fenzl N. 2006. "Cadmium in the Amazonian Guajara Estuary: distribution and remobilization". *Environmental Pollution*, 140, 29–42.
- Niyogi S., Wood C.N. 2004. "Biotic ligand model, a flexible tool for developing site-specific water quality guidelines for metals". *Environmental Science & Technology*, 38, 6177–6192.
- Noël L., Guérin T., Kolf-Clauw M. 2004. "Subchronic dietary exposure of rats to cadmium alters the metabolism of metals essential to bone health". *Food and Chemical Toxicology*, 42, 1203–1210.
- O'Halloran T.V., Culotta V.C. 2000. "Metallochaperones, an intracellular shuttle service for metal ions". *The Journal of Biological Chemistry*, 275:25057–25060.
- Ouyang Y. 2003. "Simulating dynamic load of naturally occurring TOC from watershed into a river". *Water Research*, 37, 823–832.
- Pattubala A.N., Reddy M.N., Chakravarty A.R. 2002. "Synthesis, crystal structures and properties of ternary copper(II) complexes having 2,2'-bipyridine and  $\alpha$ -amino acid salicylaldehydes as models for the type-2 sites in copper oxidases". *Inorganica Chimica Acta*, 337, 450–458.
- Pempkowiak J., Sikora A., Biernacka E. 1999. "Speciation of heavy metals in marine sediments vs their bioaccumulation by mussels". *Chemosphere*, 39, 313–321.
- Pesticideinfo. [www.pesticideinfo.org](http://www.pesticideinfo.org), (accessed – February 2005, February 2010).
- Pivovarova N.B., Lagerspetz K.Y.H. 1996. "Effect of cadmium on the ATPase activity in gills of *Anodonta cygnea* at different assay temperatures". *Journal of Thermal Biology*, 21, 77–84.
- Playle R.C., Wood C.M. 1989. "Water pH and aluminium chemistry in the micro-environment of rainbow trout during acid and aluminium exposures". *Journal of Comparative Physiology, B: Biochemical, Systemic & Environmental Physiology*, 159, 539–550.
- Potts R.J., Watkin R.D., Hart B.A. 2003. "Cadmium exposure down-regulates 8-oxoguanine glycosylase expression in rat lung and alveolar epithelial cells". *Toxicology*, 184, 189–202.
- Price D.J., Joshi J.G. 1983. "Ferritin binding of beryllium and other divalent metal ions". *The Journal of Biological Chemistry*, 258, 10873–10880.
- Prozialeck W.C., Lamar P.C., Lynch S.M. 2003. "Cadmium alters the localization of N-cadherin, E-cadherin, and  $\beta$ -cadherin in the proximal tubule epithelium". *Toxicology and Applied Pharmacology*, 189, 180–195.
- Puig S., Thiele D. 2002. "Molecular mechanisms of copper uptake and distribution". *Current Opinion in Chemical Biology*, 6, 171–180.

- Rai L.C., Tyagi B., Rai P.K., Mallick M. 1998. "Interactive effects of heavy metals (Cu and Pb) on nitrogen and phosphorus metabolism of a N<sub>2</sub>-fixing cyanobacterium *Anabaena doliolum*". *Environmental and Experimental Botany*, 39, 221–231.
- Ramírez-Cárdenas L., Brunoro Costa N.M., Pinheiro Reis F. 2005. "Copper-iron metabolism interaction in rats". *Nutrition Research*, 25, 79–92.
- Raveh O., Pinchuk I., Schnitzer E., Fainaru M., Schaffer Z., Lichtenberg D. 2000. "Kinetic analysis of copper-induced peroxidation of HDL, autoaccelerated and tocopherol-mediated peroxidation". *Free Radical Biology and Medicine*, 29, 131–146.
- Roesijadi G., Unger M.E. 1993. "Cadmium uptake in gills of the mollusc *Crassostrea virginica* and inhibition by calcium channel blockers". *Aquatic Toxicology*, 24, 195–206.
- Salonen K., Vähätalo A. 1994. "Photochemical mineralization of organic matter in lake Skjervatjern." *Environment International*, 20, 307–312.
- Serra R., Carpenė E., Marcantonio A.C., Isani G. 1995. "Cadmium accumulation and Cd-binding proteins in the bivalve *Scapharca inaequivalvis*". *Comparative Biochemistry and Physiology – Part C: Toxicology & Pharmacology*, 111, 165–174.
- Seymour R. S., Bradford D. F. 1995. "Respiration of Amphibian Eggs". *Physiological Zoology*, 68, 1–25.
- Skulski I.A., Lapin A.V. 1992. "Highly selective blockade of the frog skin sodium channels by monovalent copper cations". *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, 1112, 27–28.
- Škvarla J. 1998. "A study on the trace metal speciation in the Ružin reservoir sediment". *Acta Montanistica Slovaca*, 2, 177–182.
- Spry D., Wiener G. 1991. "Metal bioavailability and toxicity to fish in low-alkalinity lakes: a critical review". *Environmental Pollution*, 71, 243–304.
- Stawarz R. 2009. *Trace elements and heavy metals in animals and humans. Selected aspects of their content and distribution*. Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Pedagogicznego, Kraków.
- Stawarz R., Formicki G., Zakrzewski M., Ryś J., Rozmus M. 2008. "Distribution of heavy metals and trace elements in human breast cancer tissues and in adjacent normal tissues of women in Poland". *Fresenius Environmental Bulletin*, 18, 182–188.
- Suzuki T., Momoi K., Hosoyamada M., Kimura M., Shibasaki T. 2008. "Normal cadmium uptake in microcytic anemia mk/mk mice suggests that DMT1 is not the only cadmium transporter in vivo." *Toxicology and Applied Pharmacology*, 227, 462–467.
- Gbem T.T., Balogun J.K., Lawal F.A., Annune P.A. 2001. "Trace metal accumulation in *Clarias gariepinus* (Teugels) exposed to sublethal levels of tannery effluent". *The Science of the Total Environment*, 271, 1–9.
- Tack F.M., Verloo M.G. 1995. "Chemical speciation and fractionation in soil and sediment heavy metal analysis: a review". *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 59, 225–238.
- Tao S., Liang T., Liu C.F., Xu S.P. 1999a. "Uptake of copper by neon tetras (*Paracheirodon innesi*) in the presence and absence of particulate and humic matter". *Ecotoxicology*, 8, 269–275.

- Tao S., Liu C., Dawson R., Long A., Xu F. 2000. "Uptake of cadmium adsorbed on particulate by gills of goldfish (*Carassius auratus*)". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47, 306–313.
- Tao S., Liu C.F., Dawson R., Cao J., Li, B.G. 1999b. "Uptake of particulate lead via the gills of fish (*Carassius auratus*)". *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37, 352–357.
- Tennant J., Stansfield M., Yamaji S., Srari S.K., Sharp P. 2002. "Effects of copper on the expression of metal transporters in human intestinal Caco-2 cells." *FEBS Letters*, 527, 239–244.
- Theophanides T., Anastassopoulou J. 2002. "Copper and carcinogenesis." *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 42, 57–64.
- Thornton I. 1992. "Sources and pathways of cadmium in the environment". *IARC Science Publications*, 118, 149–162.
- Toyohara H., Yamamoto S., Hosoi M., Takagi M., Hayashi I., Nakao K., Kaneko S. 2005. "Scallop DMT functions as a Ca<sup>2+</sup> transporter". *FEBS Letters*, 579, 2727–2730
- Van der Velden J.A., Groot J.A., Flik G., Polak P., Kolar Z.I. 1990. "Magnesium transport in fish intestine". *Journal of Experimental Biology*, 152, 587–592.
- Vercauteren K., Blust R. 1999. "Uptake of cadmium and zinc by mussels *Mytilus edulis* and inhibition by calcium channel and metabolic blockers". *Marine Biology*, 135, 615–626.
- Voets J., Bervoets L., Blust R. 2004. "Cadmium bioavailability and accumulation in the presence of humic acid to zebra mussel, *Dreissena polymorpha*". *Environmental Science and Technology*, 38, 1003–1004.
- Waalkes M.P. 2003. "Cadmium carcinogenesis". *Mutation Research*, 533, 107–120.
- Waisberg M., Joseph P., Hale B., Beyersmann D. 2003. "Molecular and cellular mechanism of cadmium carcinogenesis". *Toxicology*, 192, 95–117.
- Walsh K., Dunstan R.H., Murdoch R.N. 1995. "Differential bioaccumulation of heavy metals and organopollutants in the soft tissue and shell of the marine gastropod, *Austrocochlea constricta*". *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 28, 35–39.
- Wardeska J.G., Viglione B., Chasteen N.D. 1986. "Metal ion complexes of apoferritin: evidence for initial binding in the hydrophilic channels". *The Journal of Biological Chemistry*, 261, 6677–6683.
- Williamson C. E. 1996. "Effects of UV radiation on freshwater ecosystems". *International Journal of Environmental Studies*, 51, 245–256.
- WIOŚ. 2000. *Stan środowiska w województwie świętokrzyskim w 2000 roku*. [www.kielce.pios.gov.pl](http://www.kielce.pios.gov.pl) (accessed in December 2008).
- WIOŚ. 2004. *Raport o stanie środowiska w województwie małopolskim w 2004 roku*. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Krakowie. [www.krakow.pios.gov.pl](http://www.krakow.pios.gov.pl) (accessed in December 2008).

- WIOŚ. 2007. *Raport o stanie środowiska w województwie małopolskim w 2007 roku*. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Krakowie. [www.krakow.pios.gov.pl](http://www.krakow.pios.gov.pl) (accessed in February 2010).
- Wolek J. 2006. *Wprowadzenie do statystyki dla biologów*. Wydawnictwo Naukowe Akademii Pedagogicznej, Kraków.
- Wright M.L., Frim E.K., Bonak V.A., Barii C. 1986. "Metamorphic rate in *Rana pipiens* larvae treated with thyroxine or prolactin at different times in the light/dark cycle". *General and Comparative Endocrinology*, 63, 51–61.
- Yamaguchi M. 1993. "Regulatory effects of zinc and copper on the calcium transport system in rat liver nuclei: Relation to SH groups in the releasing mechanism". *Biochemical Pharmacology*, 45, 943–948.
- Young S.P., Fahmy M., Golding S. 1997. "Ceruloplasmin, transferrin and apotransferrin facilitate iron release from human liver cells". *FEBS Letters*, 411, 93–96.
- Zamachowski W., Zyšk A. 1997. *Strunowce Chordata. Podręcznik dla studentów biologii*. Wydawnictwo Naukowe WSP, Kraków.





## Spis treści

Streszczenie	7
1. Wstęp	9
1.1. Chemiczne właściwości metali ciężkich	9
1.2. Biologiczne właściwości metali ciężkich	10
1.3. Toksyczne właściwości metali ciężkich	11
1.4. Metale w środowisku wodnym	16
1.5. Uzasadnienie i cel badań	18
2. Materiał i metodyka badań	21
2.1. Zwierzęta	21
2.2. Pomiary zawartości metali	23
2.3. Analiza statystyczna	24
3. Wyniki i dyskusja	25
3.1. Kumulacja metali ciężkich u zwierząt w środowisku wodnym	25
3.1.1. Kumulacja metali u wybranych bezkręgowców	25
3.1.2. Kumulacja metali u wybranych kręgowców	31
3.2. Czynniki fizyczne i chemiczne wpływające na kumulację metali ciężkich u zwierząt środowiska wodnego	41
3.2.1. Czynniki chemiczne	42
3.2.2. Czynniki fizyczne	51
4. Wnioski	61
Summary	65
Literatura	67





