
Marija Gajić i Milica Marković

Bioakumulacija teških metala u lobanjama *Apodemus agrarius* (Muridae, Rodentia) pri uslovima različite zagađenosti životne sredine

Povećana koncentracija teških metala prateća je pojava industrijskog zagađenja životne sredine. U cilju ispitivanja prisutva i trenda bioakumulacije osam teških metala (Zn, Ni, Co, Mn, Cu, Cd, Pb, Fe) u široko rasprostranjenoj vrsti poljski miš (Apodemus agrarius) analizirani su uzorci lobanja ove vrste sa dva staništa različite zagađenosti. Praćeni su efekat pola i starosti jedinki na koncentraciju metala u koštanom tkivu. Efekat zagađenja (veća koncentracija u koštanom tkivu) bio je uočljiv za većinu ispitivanih metala. Razlike među polovima jasno su uočljive u koncentracijama gvožđa i bakra u uzorcima iz zagađene sredine, kao i u koncentracijama svih ispitivanih metala, izuzev cinka, kod prve uzrasne kategorije za uzorke iz nezagađene sredine. Na osnovu trenda promene koncentracije metala u starosnim grupama i polu, definisana su tri scenarija akumulacije metala.

Uvod

Konstantni porast prisutva teških metala u neposrednoj životnoj sredini uzrokovan je brzim razvojem industrije i motorizacije, kao i velikom upotrebom hemijskih produkata u agrikulturi. Među najvažnije polutante teškim metalima ubrajamo industriju uglja (Topolska *et al.* 2004) i izduvne gasove prevoznih sredstava.

Prašina koja se oslobađa iz fabrika sadrži cink (Zn), bakar (Cu), olovo (Pb) i kadmijum (Cd), što utiče na porast koncentracije teških metala u tkivima

glodara. Oni ih u svoje organizme unose hranom, naseljavajući zagađene prostore (Ieradi *et al.* 2003). Metali mogu imati određenu metaboličku i fiziološku ulogu u organizmu glodara – Cu, Zn, gvožđe (Fe) i magnezijum (Mg) imaju važnu ulogu u kontrolisanju unosa drugih metala u organizam. Metali kao što su Cd (koji štetno deluje na imuni sistem glodara) i Pb nisu esencijalni za organizam, već su ksenobiotici (Johnson *et al.* 1978). Olovo se uglavnom akumulira u kostima, naročito u koštanoj srži. Nепrestana izloženost olovu izaziva prestanak rada bubrega (Nolan i Shaikh 1992), oštećenje jetre (Bolognani Fantin *et al.* 1992), prouzrokuje neplodnost mužjaka i izaziva spontane pobačaje kod ženki (Friberg *et al.* 1986).

Poljski miš (*Apodemus agrarius*) je vrsta glodara široke geografske rasprostranjenosti (od centralne Evrope do južne Kine i Koreje), a od staništa preferira šume, travnate površine i pirinčana polja (Qumsiyeh 1996). Reprodukcijska se odvija tokom cele godine. Pare se 6 puta godišnje, u proseku ima 6 mladunaca u leglu. Lako se adaptiraju na raznovrsnu ishranu. Jedu korenje, semenke, bobice, insekte i žitarice. Hrana, vazduh i voda glavni su izvori različitih toksičnih materija, naročito teških metala (Topolska *et al.* 2004). Odnosi između teških metala kao i njihovo prisustvo u biljkama utiču na dalje usvajanje metala u organizam, kao i na njihovu koncentraciju u samom organizmu. Očekuje se veća koncentracija ovih metala u starijim jedinkama nego u mlađim zbog dužeg izlaganja zagađenju (Topolska *et al.* 2004).

Kako vrsta *A. agrarius* ima r-selekcioni režim (V. Jovanović, usmeno saopštenje), životna istorija joj se odlikuje velikim stepenom produktivnosti, ranim polnim sazrevanjem, kratkim životnim vekom, smanjenom brigom o potomstvu, mogućnošću stalnog menjanja staništa i prilagođavanja novim životnim uslovima. Usled navedenih karakteristika poljski miševi se mogu smatrati bioindikatorima kvaliteta životne sredine.

Marija Gajić (1990), Beograd, Braće Jerković 141, učenica 3. razreda Treće beogradske gimnazije

Milica Marković (1990), Maksima Gorkog 107, Beograd, učenica 3. razreda Treće beogradske gimnazije

MENTOR: dr Jelena Blagojević, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“ Beograd

Cilj ovog rada bio je da se ispita razlika u koncentracijama teških metala u lobanjama jedinki poljskog miša različitog pola i starosti, sa dva lokaliteta različitog stepena zagađenosti. Razlikom u koncentracijama teških metala među starosnim kategorijama bili bi definisani trendovi njihove bioakumulacije. Ova vrsta je uzeta kao indikator stanja staništa sa kojih su uzorci prikupljeni (Veličković 2004).

Materijal i metode

Izlavljanje poljskih miševa vršeno je na lokalitetu Ada u Lešnici (Mačvanski okrug, zapadna Srbija), u kojoj je životna sredina ocenjena kao nezagađena, i u zagađenoj sredini Pančeva, pored puta (lokalitet Pančevo 1) i na području između Azotare i Petrohemije (lokalitet Pančevo 2). U Pančevu jedinke su prikupljane u dva perioda, pre i posle bombardovanja 1999. godine. Prikupljeni uzorci su ubijani etrom, radi hromozomskih analiza. Njihova starost je određivana na osnovu standardnih krivi masa očnih sočiva (J. Blagojević, usmeno saopštenje). Sa jedinki je uklonjeno kožno tkivo, a ostaci tela su stavljeni u sud sa insektima (Dermestidae), koji se hrane vezivnim tkivima i time "čiste" kosti.

Jedinke su grupisane prema polu i u 3 starosne kategorije:

- životinje starosti do 4 meseca
- od 5 do 8 meseci
- od 9 do 12 meseci.

Svi uzorci lobanja su podvrgnuti standardnom postupku mokre digestije – rastvoreni su u čašama sa smešom HNO_3 i HClO_4 u odnosu 2 : 1 (Pantović 1989). Nakon toga, heterogenoj smeši je određena koncentracija metala (Fe, Mn, Co, Cd, Zn, Ni, Pb i Cu) metodom atomske apsorpcione spektrometrije (AAS).

Rezultati i diskusija

Prilikom analize koncentracije teških metala u lobanjama *A. agrarius* utvrđeno je za većinu istraženih metala da je u uzorcima prikupljenim sa zagađenih staništa (Pančevo 1 i Pančevo 2) prisutna veća koncentracija nego kod uzoraka prikupljenih u nezagađenom staništu (tabela 1). Kod pojedinih metala utvrđena je i razlika u koncentraciji među starosnim kategorijama.

Kod uzoraka mužjaka u nezagađenoj sredini primetna je visoka koncentracija istraženih metala, izuzev cinka, u prvoj uzrasnoj kategoriji (novorođenčad). Ovaj obrazac može ukazivati na najveću bioakumulaciju teških metala u mužjacima tokom prenatalnog dela života i u prvim mesecima, kada se hrane majčinim mlekom. Uočene razlike među polovima mogu značiti veće ulaganje majke u svoje muško potomstvo tokom gestacijskog perioda i/ili veću kompeticionu sposobnost muških potomaka, u odnosu na ženske, da sebi obezbede mleko.

Što se trenda bioakumulacije teških metala tokom životnog veka nekog organizma tiče, opšte uzev moguća su tri scenarija (obrasca):

1. tokom života vrši se konstantan unos određenog metala, veći nego što se može uravnotežiti rastom tkiva, te se koncentracija metala u tkivima povećava sa starošću organizma (slika 1);
2. ne postoji konstantan neto unos teškog metala, te se njegova početna koncentracija u tkivima smanjuje usled povećanja mase tkiva sa rastom i starenjem (slika 2);
3. koncentracija teškog metala u tkivu je ujednačena u svim uzrastima organizma, što bi upućivalo na konstantno prisustvo unosa metala u ograničenim količinama, koje se proporcionalno raspoređuju tokom rasta tkiva (slika 3).

Među istraženim metalima u koštanom tkivu lobanja poljskog miša uočena su sva tri scenarija. Metali Ni i Cd u oba tipa sredine kao i Mn u zagađenoj sredini, pokazali su trend povećanja koncentracije tokom života organizama (scenario 1, slika 1) u oba pola i u oba tipa sredine (zagađena i nezagađena). Mangan je pritom bio prisutan u višim koncentracijama u prvoj starosnoj kategoriji, tj. mladuncima, što može ukazivati na to da se veliki deo ovog metala, potrebnog za funkcionisanje pojedinih koenzima, prenese iz majke u tela mladunaca.

Kadmijum, kao ksenobiotik i po imunitet glodara štetan metal (Johnson *et al.* 1978), poseduje i efekat smanjivanja mogućnosti apsorpcije jona Ca^{2+} i Zn^{2+} u biljkama (Miano & Senesi 1992). Stoga njegovu konstantnu akumulaciju u organizmima poljskog miša prati umanjena akumulacija ovih metala (ujednačenost koncentracija Zn, tabela 1).

Trend smanjenja koncentracije metala u tkivu (scenario 2) primećen je za metale Cu i Fe u nezagađenoj sredini (slika 2). Oba metala igraju važne

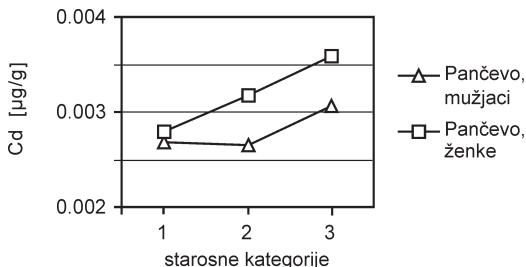
Tabela1. Pregled masa uzoračkih grupa lobanja (u miligramima) i koncentracija metala u njima ($\mu\text{g/g}$).

Grupa	Broj	Masa	Fe	Mn	Co	Cd	Zn	Ni	Pb	Cu
AM1	5	577	0.085	0.018	0.018	0.004	0.279	0.105	0.106	0.531
AM2	5	1056	0.066	0.015	0.016	0.003	0.284	0.064	0.092	0.224
AM3	5	1213	0.059	0.014	0.016	0.003	0.293	0.063	0.094	0.167
AŽ1	5	852	0.072	0.015	0.015	0.002	0.256	0.090	0.112	0.162
AŽ2	5	1062	0.069	0.014	0.016	0.002	0.238	0.077	0.090	0.156
AŽ3	5	1085	0.062	0.014	0.016	0.003	0.301	0.079	0.089	0.127
P1M1	5	873	0.077	0.016	0.016	0.003	0.234	0.114	0.097	0.143
P1M2	4	981	0.079	0.015	0.016	0.003	0.251	0.083	0.090	0.133
P1M3	5	587	0.102	0.018	0.018	0.003	0.327	0.123	0.117	0.046
P1Ž1	4	789	0.082	0.017	0.016	0.003	0.273	0.096	0.109	0.246
P1Ž2	2	679	0.090	0.018	0.016	0.003	0.291	0.113	0.101	0.244
P1Ž3	3	489	0.106	0.019	0.016	0.004	0.286	0.143	0.101	0.307
P2M1	5	536	0.091	0.019	0.017	0.004	0.275	0.138	0.109	0.238
P2M2	2	1066	0.068	0.015	0.015	0.003	0.254	0.080	0.081	0.090
P2M3	2	714	0.086	0.018	0.016	0.004	0.301	0.119	0.094	0.102
P2Ž2	5	1065	0.069	0.016	0.016	0.003	0.247	0.079	0.084	0.090
P2Ž3	3	488	0.113	0.020	0.016	0.005	0.327	0.152	0.085	0.216

uloge u metabolizmu organizma, a kako se nezagađena sredina može smatrati kontrolnom (referentnom), obrazac smanjenja koncentracije je ostvariv na dva načina. Tokom života može se potpuno ograničiti unos ili se unositi mala količina ovih metala, koja je onda prikrivena rastom organizma, te je koncentracija metala u konstantnom opadanju. Na usvajanje i translokaciju gvožđa u biljkama, te time i na dostupnost i količinu unosa gvožđa u organizam poljskog miša, dodatno nepovoljno utiču ksenobiotici poput

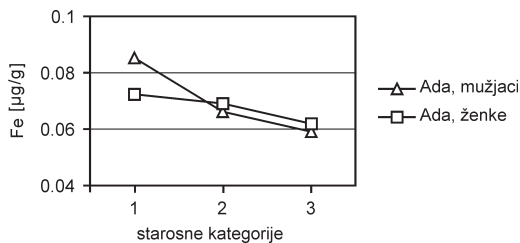
olova (Loneragan *et al.* 1979). Drugi način smanjenja koncentracije bi se dešavao uz konstantan unos metala (prisutni u biljnoj hrani poljskog miša), njihovu upotrebu u metabolizmu i uvećanu eliminaciju iz tela sa produktima razlaganja pojedinih metabolita (npr. hemoglobin).

Koncentracija bakra u zagađenoj sredini bila je veća u tkivima ženki u odnosu na tkiva mužjaka. Primećuje se da je prelaz iz druge u treću starosnu kategoriju praćen značajno većim koncentrisanjem



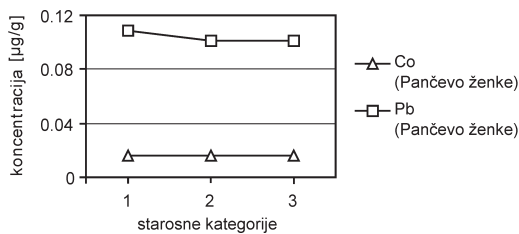
Slika 1. Trend rasta koncentracije kadmijuma u tkivu

Figure 1. Concentration of cadmium in tissue (triangle – male, square – female)



Slika 2. Trend opadanja koncentracije gvožđa u tkivu

Figure 2. Concentration of iron in tissue (triangle – male, square – female)



Slika 3.
Ujednačena koncentracija kobalta i olova u tkivu

Figure 3.
Invariable concentration of Cobalt and Lead in tissue
(triangle - male, square - female)

(uzrokovanim većom akumulacijom) bakra i gvožđa u lobanjama ženki: P2Ž2 ÷ P2Ž3 naspram muških: P2M2 ÷ P2M3 (tabela 1). Može se pretpostaviti da su ove razlike uslovljene različitim pripremanjima polova za period reprodukcije, kao i pripremanjem ženki za gestaciju i laktaciju.

Kod metala Co, Zn i Pb konstatovane su ujednačene koncentracije u većini uzoraka – nije postojao efekat zagađenosti sredine, pola niti uzrasne kategorije (slika 3). Ovaj obrazac je iznenađujuć u slučaju olova, jer je očekivano da će bioakumulacija biti veća u zagađenoj sredini (izabranoj upravo zbog veće emisije olova od strane zagađivača).

Zaključak

U cilju ustanovljavanja razlika među polovima i različitim starosnim kategorijama u akumulaciji teških metala, istraživana je koncentracija teških metala u lobanjama poljskog miša (*Apodemus agrarius*). Uzorci su se, sem razlika u polu i starosti razlikovali i po stepenu zagađenosti sredine. Razlike među polovima uočljive su u koncentracijama gvožđa i bakra, takođe u uzorku iz zagađene sredine. Ova dva metala pokazala su obrazac veće akumulacije u ženskim organizmima starijim od 8 meseci, verovatno uzrokovan pripremanjima za reprodukciju, gestaciju i laktaciju.

Teški metali akumulirani u organizmima ženki mogu se putem ishrane ploda tokom gestacije i laktacije preneti na potomke, što objašnjava visoku koncentraciju metala u tkivu prve uzrasne kategorije u nezagađenoj (referentnoj) sredini. Na osnovu obrasca veličine koncentracije po starosnim kategori-

jama, definisana su tri moguća scenarija, sva tri prisutna u istraženim populacijama za ispitivane metale.

Trend povećanja koncentracije tokom života organizama (scenario 1) prisutan je za oba pola i u oba tipa sredine (zagađena i nezagađena) za metale mangan i kadmijum. Trend konstantnog smanjenja koncentracije uočen je za metale gvožđe i bakar u populaciji iz nezagađene životne sredine. Trend ujednačene koncentracije primećen je za metale kobalt i cink, kao i za olovo, za koje je očekivan bio scenario 1. Dalja istraživanja, naročito *ex situ* laboratorijska istraživanja, potrebna su radi potvrde ovih obrazaca i njihovog potpunijeg opisa.

Literatura

- Bolognani Fantin A., Franchini A., Trevison P., Pederzoli A. 1992. Histomorphological and cytochemical changes induced in the liver of goldfish *Carassius carassius* var. *auratus* by short-term exposure to lead. *Acta histochemica*, **92** (2): 228.
- Friberg L., Nordberg G.F., Vouk V.B. 1986. *Handbook on the toxicology of metals* (vol. 1, General aspects). Elsevier
- Ieradi L. A., Zima J., Allegra F., Kotlanova E., Campanella L., Grossi R., Cristaldi M. 2003. Evaluation of genotoxic damage in wild rodents from a polluted area in the Czech Republic. *Folia Zool.*, **52** (1): 57.
- Johnson M.S., Roberts R.D., Hutton M. & Inskip M.J. 1978. Distribution of lead, zinc and cadmium in small mammals from polluted environments. *Oikos*, **30**: 153.
- Loneragan J. F., Grove T. S., Robson A. D., Snowball K. 1979. Phosphorus Toxicity as a Factor in Zinc-Phosphorus Interactions in Plants. *Soil Science Society of America*, **43**: 966.
- Miano T. M., Senesi N. 1992. Synchronous excitation fluorescence spectroscopy applied to soil humic substances chemistry. *Science of the total environment*, 117-118: 41.
- Nolan C. V., Shaikh Z. A. 1992. Lead nephrotoxicity and associated disorders: Biochemical mechanisms. *Toxicology*, **73**: 127.
- Pantović M., Petrović M., Džamić R., Jakovljević M. 1989. *Praktikum iz agrohemije*. Naučna knjiga: Beograd.
- Qumsiyeh M. B. 1996. *Mammals of the holy land*. Texas Tech University Press.

Topolska K., Sawicka-Kapusta K., Cieslik K. 2004. The effect of contamination of the Krakow region on heavy metals content in the organs of bank voles (*Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780). *Polish Journal of Environmental Studies*, **13** (1): 103.

Šumbera R., Baruš V., Tenora F. 2003. Heavy metals in the silver mole-rat, *Heliophobius argenteocinereus* (Bathyergidae, Rodentia) from Malawi. *Folia Zool.*, **52** (2): 149.

Veličkovič M. 2004. Chromosomal aberrancy and the level of fluctuating asymmetry in black-striped mouse (*Apodemus agrarius*): effects of disturbed environment. *Hereditas*, **140** (2): 112.

Marija Gajić and Milica Marković

Bioaccumulation of Heavy Metals in Skulls of *Apodemus agrarius* (Muridae, Rodentia) in Environments with Different Levels of Pollution

One of the consequences of environmental pollution is higher concentration of heavy metals in animal habitats. In order to define the trend of bioaccumulation of eight metals (Zn, Ni, Co, Mn, Cu, Cd, Pb, Fe) in bone tissues, skulls of striped field mouse (*Apodemus agrarius*) were collected from polluted and unpolluted sites. The effect of pollution, being higher concentration of metals in skulls from the polluted site, was seen for most metals. The differences between sexes were clearly present in different concentrations of Fe and Cu in polluted site, as well as in higher concentrations of all metals, except for Zn, in male youngsters in the unpolluted site. Three distinct patterns in bioaccumulating heavy metals were defined, based upon the age-associated concentrations.

