

Marlena PIONTEK

TOKSYCZNY WPŁYW TRZECH ZWIĄZKÓW OŁOWIU NA
DAPHNIA MAGNA STRAUS I *DUGESIA TIGRINA GIRARD*

TOXIC EFFECT OF THREE LEAD COMPOUNDS ON *DAPHNIA*
MAGNA STRAUS AND *DUGESIA TIGRINA GIRARD*

Politechnika Zielonogórska; Zakład Odnowy Środowiska
Technical University of Zielona Góra; Department of Environment Restoration

Streszczenie

Przebadano wpływ trzech związków ołowiu (azotan ołowiawy, chlorek ołowiawy, octan ołowiawy) na dwa słodkowodne organizmy, *Daphnia magna Straus* i *Dugesia tigrina Girard*. Sprawdzono czułość dwóch metod toksykologicznych opracowanych dla środowiska wodnego na skażenia metalem ciężkim, Pb. Przy określaniu toksyczności ostrej nieorganicznych soli ołowiu 15 (azotan) i 12 (chlorek) razy czulszą metodą od testów z wyplawką okazały się badania oparte na testach przy użyciu rozwiłki (LC 50/48 0,16 mg dm⁻³ Pb(NO₃)₂, LC 50/48 0,28 mg dm⁻³ PbCl₂). Dla octanu ołowiawego (substancja organiczna) 1,5 raza czulszy od testów z rozwiłką był test na postęp regeneracji *D. tigrina* (osobniki krojone) LC 50/240 5,2 mg dm⁻³.

Summary

Experiments were done on two freshwater species, *Daphnia magna Straus* and *Dugesia tigrina Girard*. The toxic effects on 3 toxic compounds, lead nitrate, lead chloride (mineral substances) and lead acetate (organic compound) were used in the studies of acute intoxication. The sensitivity of two methods, test with cut planarians and test with *Daphnia magna* were compared. In the experiments with cut individuals, the tested chemical compounds influenced the regeneration process which lasted 10 days, this was the period of special sensitivity of planarians to the poisons. In two cases (mineral substances) the chemical compounds were more toxic to *D. magna*. The values of 48-h LC 50 were 0.16 mg dm⁻³ Pb(NO₃)₂ and 0.28 mg dm⁻³ PbCl₂. In one case (lead acetate) the chemical compound was more toxic to *D. tigrina* (240-h LC 50 5.20). Based on the classification of Liebmann (1962) the estimates were made of the degree of toxicity of poisons of the 3 tested chemical substances. Two chemical compounds (lead nitrate and lead chloride)

were classified within Group I of highly toxic compounds for *D. magna*. Lead acetate was classified within Group II of very potent poisons. In the studies with cut individuals of *D. tigrina* as test organism all of the tested chemical substances were classified within Group II of very potent poisons.

1. WSTĘP

Jakość wód powierzchniowych zależy od wielu czynników, w tym od ilości opadów deszczowych. Zanieczyszczenie powietrza i spływy powierzchniowe powodują wprowadzenie do odbiorników znacznych ładunków zanieczyszczeń. W przeciągu lat 1994-1997 opady atmosferyczne wniosły na obszar dorzecza środkowej Odry 4346,41 ton ołowiu [Twarowski i inni, 1998]. Według obowiązujących w Polsce norm dla śródlądowych wód powierzchniowych, wody opadowe nie odpowiadają normatywom dla poszczególnych klas czystości i stwarzają bezpośrednie zagrożenie dla jakości wód w dorzeczu Odry. Często przekraczają dopuszczalną zawartość ołowiu. Najwyższymi ładunkami ołowiu w okresie lat 1994-1997 zostały obciążone tereny woj. legnickiego i jeleniogórskiego [Twarowski i inni, 1998].

Wody opadowe i spływowe powodują też powstawanie niebezpiecznych odcieków wysypiskowych zawierających między innymi rozpuszczone frakcje mineralne. Najbardziej uciążliwy rodzaj zanieczyszczeń zawartych w odciekach wysypiskowych stanowią metale ciężkie. Ze względu na toksyczny charakter zakłócają równowagę biologiczną środowiska wodnego i hamują procesy samooczyszczania się wód. Metale ciężkie wykazują zdolność do biokumulacji w organizmach żywych wywołując poważne zmiany patologiczne. Zawartość ołowiu w odciekach wysypiskowych wynosi średnio $1,45 \text{ mg dm}^{-3}$ (min. 0,22, max. 4,15) [Szymański, 1997].

Biologicznej oceny skażenia środowiska wodnego, w tym metalami ciężkimi, dokonuje się przy użyciu biotestów. Celem przedstawionej pracy jest określenie wpływu wybranych dwóch nieorganicznych związków ołowiu (azotan ołowiu, chlorek ołowiu) i jednego organicznego (octan ołowiu) na dwa organizmy reprezentujące faunę słodkowodną, *Daphnia magna* Straus i *Dugesia tigrina* Girard oraz wykazanie przydatności dwóch metod biotoksykologicznych opracowanych dla środowiska wodnego z użyciem tych zwierząt do kontroli skażenia wody ołowiem.

2. MATERIAŁY

Hodowle organizmów testowych (rozwiłtki *Daphnia magna* i wyplwki *Dugesia tigrina*) prowadzono w Pracowni Biologii, Zakładu Odnowy Środowiska, Politechniki Zielonogórskiej.

2.1. Hodowle *Daphnia magna*

Rozwiłtki hodowano w akwariach o pojemności 10 dm^3 , w temperaturze pokojowej $18^{\circ}\text{-}22^{\circ} \text{ C}$, stosując oświetlenie jarzeniowe o natężeniu 4000 luksów

z zachowaniem rytmu dobowego dnia i nocy [Solski, 1977; Piontek, 1997]. Pokarm stanowiły suszone drożdże piekarnicze oraz glony: *Scenedesmus* i *Chlorella* [Solski, 1977; Piontek, 1997]. W celu uniknięcia przegęszczenia populacji skorupiaków, co 2-3 dni rozwielitki odławiano i używano do badań toksykologicznych oraz jako pokarm dla wyplawków.

2.2. Hodowle *Dugesia tigrina*

Hodowle *Dugesia tigrina* prowadzono w sposób opracowany przez [Piontek, 1983/84]. Populacja wyplawków pochodziła od jednego osobnika, co dawało pewność, że materiał użyty do doświadczeń był wyrównany pod względem cech genetycznych. Wyplawki hodowano w zlewkach o poj. 500 cm³ przykrytych szkiełkami zegarkowymi. W każdej zlewce umieszczonych było 100 osobników. Taka objętość wody jak i powierzchnia naczyń gwarantowały osobnikom swobodę poruszania się i łatwe zdobywanie pokarmu. Temperatura wody wahała się od 18° do 22° C, odczyn wody utrzymywał się w granicach 7.2-8.2 pH, zawartość tlenu powyżej 5.0 mg O₂ dm⁻³. Hodowle prowadzono przy świetle dziennym z zachowaniem rytmu dobowego dnia i nocy. Wyplawki karmiono *D. magna ad libitum*. Ilość rozwielitek podawana do karmienia była dwukrotnie większa od liczebności wyplawków. Osobniki namnażano przez krojenie [Piontek, 1983/84; Piontek, 1998]. Wyplawkom poddanym regeneracji pokarm podawano po zregenerowaniu brakujących części ciała, tj. po około 10 dniach [Piontek, 1998].

2.3. Substancje chemiczne użyte do badań toksykologicznych

Do badań nad toksycznością ostrą zastosowano dwa nieorganiczne związki ołowiu: azotan ołowiu $Pb(NO_3)_2$, chlorek ołowiu $PbCl_2$ i jeden organiczny: octan ołowiu $C_4H_6O_4Pb \cdot 3H_2O$. Stan fizjologiczny osobników użytych do doświadczeń sprawdzono, stosując test z $K_2Cr_2O_7$ (test kondycyjny) [ISO document, 1980; International Standard, 1984; Piontek, 1997; Piontek, 1999a].

3. METODY

3.1. Sporządzanie stężeń trucizn

Do rozcieńczeń badanych substancji stosowano wodę standardową, która została sporządzona wg przepisu ISO [ISO document, 1979, 1980; International Standard, 1984]. Skład jonowy tej wody wyrażony w ppm przedstawia się następująco : wapń 29, magnez 7.5, sód 56.5, węglany 100.0, chlorki 60.5, siarczany 56.0, azotany 3.5. Twardość tej wody wynosi 100 ppm (wyrażona w postaci CaCO₃). Stężenia robocze badanych substancji sporządzono stosując dzielniki 1,1 do 1,8. Uzyskany szereg geometryczny rozcieńczeń zawierał co najmniej 10 stężeń , w tym 5 – 7 stężeń powodujących śmierć organizmów testowych w granicach od powyżej 0 do poniżej 100 % [Piontek, 1997].

3.2. Sposób eksperymentowania

3.2.1. Test z *Daphnia magna*

Wpływ toksyczny badanych związków ołowiu : azotanu ołowiawego , chlorku ołowiawego oraz octanu ołowiawego na rozwielitkę oceniono na podstawie zapisu śmierci w doświadczeniach trwających 48 godz. Toksyczność tych trucizn wyrażono stężeniem LC 50/48.

Badania wykonywano w laboratorium o stałej temperaturze 20^o – 22^o C. Do probówek o pojemności 45 cm³ wlewano po 40 cm³ roztworów testowych. Jednocześnie przy użyciu wody standardowej przygotowywano próbę kontrolną. Do każdej probówki wprowadzano dziesięć trzydniowych rozwielitek. Oznaczenie zostało przeprowadzone w trzech równoległych szeregach stężeń [Piontek, 1997]. Do obliczeń wartości stężeń LC 50 zastosowano metodę interpretacji graficznej [Weber, 1972].

3.2.2. Test z *Dugesia tigrina*

Wypławki poddano toksycznemu wpływowi trzech związków ołowiu: azotanu ołowiawego, chlorku ołowiawego oraz octanu ołowiawego. Do badań używano osobniki krojone [Piontek, 1999a,b]. Jako kryterium oceny toksyczności trujących substancji na wypławki przyjęto śmierć organizmów testowych oraz postęp regeneracji (zachowanie lub utratę zdolności do regeneracji) w doświadczeniu trwającym 240 godzin. Toksyczność trucizn wyrażono w postaci LC 50/240.

Badania toksykologiczne wykonane zostały w pomieszczeniu laboratoryjnym, w temperaturze 20^o – 22^o C. Do zlewek o pojemności 50 cm³ wlewano roztwory testowe w objętości 40 cm³. Do każdej zlewki wprowadzano po 10 osobników krojonych, tzn. pięć wypławków (ok. 12 mm długości) dzielonych na dwie części powyżej gardzieli [Piontek, 1983/84]. Oznaczenia zostały przeprowadzone w trzech równoległych szeregach stężeń, z próbami kontrolnymi. Po upływie 240 godz. od wprowadzania zwierząt do roztworów, odczytywano śmiertelność wypławków [Piontek, 1999a]. Wyniki obserwacji po określonym czasie stanowiły podstawę do obliczenia stężenia letalnego LC 50/240. Do obliczeń wartości stężeń LC 50 zastosowano metodę graficznej interpretacji [Weber, 1972].

3.3. Kontrola stanu fizjologicznego organizmów testowych

Wypławki używane do badań posiadały długość ciała ok. 12 mm i wiek 20 dni. Rozwielitki użyte do badań były w wieku trzech dni, ich wielkość mieściła się w granicach 1,0 – 1,5 mm. Stan fizjologiczny (kondycję) organizmów testowych w okresie prowadzenia badań określano na podstawie testów kontrolnych z dwuchromianem potasu [Piontek, 1997,1998,1999a,b]. Doświadczenia z wypławkiem prowadzono na osobnikach całych. Jako kryterium oceny toksyczności przyjęto śmierć organizmów w badaniach trwających 96 godzin. Toksyczność dwuchromianu potasu wyrażono w postaci LC 50/96. Wpływ K₂Cr₂O₇ na *Daphnia magna* oceniono na podstawie zapisu śmierci po 48 godzinach i wyznaczeniu LC 50/48.

LC 50/96 K₂Cr₂O₇ dla *D. tigrina* wynosiło 26.1 mg dm⁻³ i było nieznacznie wyższe od przyjętego we wcześniejszych badaniach (22.5 ± 2.5) [Piontek, 1998]. Wartość LC

50/48 dla rozwielitki (*D. magna*) wynosiła $0.35 \text{ mg dm}^{-3} \text{ K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ i mieściła się we wcześniej przyjętych granicach ($0.33 - 0.37$) dla rozwielitek w wieku 3 dni [Piontek, 1997].

4. WYNIKI

Dla *D. magna* nieorganiczne sole ołowiu, azotan ołowiu i chlorek ołowiu okazały się wysoce szkodliwe: stężenia letalne LC 50/48 wynosiły odpowiednio 0.16 i 0.28 mg dm^{-3} (Tab. 1). Mniej szkodliwym związkiem był octan ołowiu, LC50/48 7.8 mg dm^{-3} . W porównaniu z azotanem i chlorkiem ołowiu jego toksyczność obniżyła się 49 i 28 razy.

TABELA 1

Toksyczny wpływ związków ołowiu na *D. magna* i *D.tigrina*

| Substancja | <i>Daphnia magna</i> 48-h LC 50 (mg dm^{-3}) | <i>Dugesia tigrina</i> 240-h LC 50 (mg dm^{-3}) |
|---|---|--|
| Azotan ołowiu $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ | 0.16 | 2.48 |
| Chlorek ołowiu PbCl_2 | 0.28 | 3.42 |
| Octan ołowiu $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ | 7.80 | 5.20 |

Dla *D. tigrina* spośród trzech badanych związków najbardziej trującym okazał się azotan ołowiu, LC 50/240 wynosiło 2.48 mg dm^{-3} (Tab. 1). Następne miejsce pod względem toksyczności zajął chlorek ołowiu, LC 50/240 3.42 mg dm^{-3} . Mniej szkodliwym ale także niebezpiecznym związkiem był octan ołowiu, którego stężenie letalne wynosiło 5.2 mg dm^{-3} .

5. DYSKUSJA

Mimo, iż ołów jest szeroko rozpowszechniony w przyrodzie naturalna zawartość tego pierwiastka w wodach jest niewielka. W niezanieczyszczonych wodach lądowych nie przekracza zwykle $3 \mu\text{g dm}^{-3}$. Wyższe stężenie ołowiu występuje w pobliżu dróg i miast w wyniku emisji spalin samochodowych oraz zależy od spływu zanieczyszczeń z powierzchni terenu. W Polsce, na podstawie wielu przeprowadzonych badań nad osadami dennymi rzek, wykryto zawartość ołowiu w stężeniach $350-1360 \text{ mg kg}^{-1}$ s.m. W większości jest on akumulowany przez glony i rośliny wyższe. Wskaźnikiem skażenia ołowiem środowiska wodnego jest wywłócznik kłosowy (*Myriophyllum spicatum* L.) [Dobicki i inni, 1994]. Ołów akumulowany jest również przez skorupiaki, małże, ślimaki i ryby [Królak, 1998]. Małże należą do zwierząt gromadzących najwyższe ilości metali ciężkich głównie w tkankach miękkich i muszlach. Wielokrotnie prowadzone badania wykazały największą zawartość ołowiu w tkance mięśniowej mięczaków ($5.51 - 43.61 \mu\text{g g}^{-1}$) [Hłyńczak i inni, 1997].

Przez to, że ołów jest wykorzystywany w wielu gałęziach przemysłowych (do produkcji akumulatorów, w hutnictwie, odlewnictwie metali kolorowych) następuje jego znaczna emisja nie tylko do wody ale do atmosfery skąd z opadami deszczowymi dostaje się do gleby, wody i organizmów żywych. Największe zanieczyszczenie środowiska ołowiem jest wywołane obecnie spalinami silników benzynowych. Do benzyny dodaje się tetraetylołów. Zawarty w $Pb(C_2H_5)_4$ ołów odkłada się w organizmie człowieka w wątrobie, w kościach, uszkadza nerki, powoduje dezaktywację enzymów (zaburzenia w syntezie hemoglobiny).

W celu sprawdzenia toksyczności ołowiu w środowisku wodnym, przeprowadzono 6 testów na toksyczność ostrą w warunkach laboratoryjnych na dwóch organizmach: skorupiak *Daphnia magna* i płazinieć *Dugesia tigrina*. Wiadomo, że nie ma wśród organizmów testowych (bioindykatorów) gatunku, który mógłby służyć jako uniwersalny organizm testowy najbardziej czuły na wszystkie związki toksyczne to jednak wyplawki i rozwielitki spełniają wymagania stawiane organizmom testowym [Piontek, 1999b]. Sprawdzono czułość dwóch metod toksykologicznych opracowanych dla środowiska wodnego na skażenia metalem ciężkim, Pb. Przy określaniu toksyczności ostrej nieorganicznych soli ołowiu i zastosowaniu tych organizmów czulszą metodą okazały się badania oparte na testach przy użyciu rozwielitki (LC 50/48 $0,16 \text{ mg dm}^{-3}$ $Pb(NO_3)_2$, LC 50/48 $0,28 \text{ mg dm}^{-3}$ $PbCl_2$). Dla octanu ołowiawego (substancja organiczna) czulszy był test na postęp regeneracji *D. tigrina* (osobniki krojone) LC 50/240 $5,2 \text{ mg dm}^{-3}$. Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze badania przy użyciu rozwielitek i wyplawków. Przy określaniu toksyczności metali ciężkich w związkach nieorganicznych czulszy był test z rozwielitką, natomiast przy określaniu toksyczności związków organicznych czulszy był test z wyplawką [Piontek 1999a,b]. Według tabeli stopnia toksyczności substancji trujących [Liebmann 1962] azotan ołowiawy i chlorek ołowiawy są dla *D. magna* substancjami wysoko trującymi (stężenie substancji $<1 \text{ mg dm}^{-3}$) a octan ołowiawy substancją mocno trującą (stężenie substancji $1-10 \text{ mg dm}^{-3}$). Dla *D. tigrina* azotan, chlorek i octan ołowiawy są substancjami mocno trującymi.

W bardzo miękkich wodach związki ołowiu działają na ryby silnie toksycznie. W wodach powierzchniowych o zawartości $0,1-0,4 \text{ mg dm}^{-3}$ Pb giną różanki, cierniki i pstrągi. W badaniach z błękitnoskrzelym okoniem (*Lepomis macrochirus*) zawarty w paliwach antystukowy czteroetylek ołowiu o stężeniu do $0,2 \text{ mg dm}^{-3}$ nie był szkodliwy. Stężenie śmiertelne wynosi $1,4 \text{ mg dm}^{-3}$ po 48 godzinach [Meinck i inni, 1975]. Badania prowadzone przez Jones'a [1964] dowiodły, że w wodach o twardości 14 mg dm^{-3} $CaCO_3$ cały ołów występował w roztworze, a przy twardości 53 mg dm^{-3} $CaCO_3$ większość tego pierwiastka podlegała wytrąceniu. Woda miękka zawierająca azotan ołowiawy była toksyczna dla pstrąga tęczowego przy stężeniu ołowiu 1 mg dm^{-3} . Moor [1984] podaje, że LC 50/96 w stosunku do ryb wynosiło $0,5$ do 10 mg dm^{-3} w wodach miękkich a w wodach o dużej twardości może sięgać 400 mg dm^{-3} . Według Liebmann [1962] toksyczność ostra dla ryb jest widoczna przy stężeniach $0,2$ do 10 mg dm^{-3} , według innych autorów $0,1$ do 15 mg dm^{-3} . Wyniki badań toksykologicznych prowadzone przy użyciu *D. magna* i azotanu ołowiawego wykazały 96-h TC $5,0 \text{ mg dm}^{-3}$ [FWPCA, 1968].

Sole ołowiowe dodawane do gleby w małych dawkach sprzyjają procesom nityfikacyjnym, hamują proces amonifikacji. Doświadczenia z kulturami wodnymi

pszenicy i ziemniaków wykazały, że azotan ołowiu o stężeniu 1.5 do 25 mg dm⁻³ działa na rośliny stymulująco, natomiast przy stężeniu powyżej 50 mg dm⁻³ wszystkie wyginęły w ciągu 8 dni. Na chlorek ołowiu rośliny były jeszcze bardziej wrażliwe. W doświadczalnych uprawach pszenicy, żyta, jęczmienia, owsa i kukurydzy na glebach piaszczystych, przy działaniu na te rośliny octanem ołowiu o stężeniach 10⁻¹⁰ do 100 mg dm⁻³, najmniej wrażliwa okazała się kukurydza. Bardzo odporne było również żyto. Jęczmień, owies a szczególnie pszenica wykazywały wyjątkowo dużą wrażliwość. Objawem był słaby wzrost a tym samym wyraźnie niższe plony [Meinck i inni, 1975].

Z uwagi na negatywny wpływ jaki metale ciężkie wywierają na środowisko i żyjące w nim organizmy jest w pełni uzasadnione ograniczenie emisji ołowiu do wód, atmosfery i gleby. Dopuszczalne stężenie ołowiu w wodzie pitnej [Dziennik Ustaw, 2000] wynosi 0.01 mg dm⁻³ a dopuszczalne średnioroczne stężenie tego metalu w powietrzu w opadzie pyłu Da = 100 mg m⁻² i w pyle zawieszonym Sa = 0.5 µg m⁻³ [Dyrektywy Unii Europejskiej]. W ostatnich latach zakłady rafineryjne przystąpiły do ograniczenia zawartości ołowiu w benzynach zgodnie z normami obowiązującymi w EWG. W Petrochemii Płock podniesiono liczbę oktanową benzyny bazowej Etyliny 94 w celu obniżenia poziomu etylizacji z 0.30 do 0.15 g Pb dm⁻³. Postępem w dziedzinie ochrony środowiska jest także produkcja farb bezołowiowych.

Istniejący problem zanieczyszczenia środowiska wodnego metalami ciężkimi, w tym ołowiem, można zmniejszyć przez ograniczenie źródeł zanieczyszczeń i stosowanie nowszych rozwiązań technicznych.

6. LITERATURA

- [1] DOBICKI, W., Szulkowska-Wojaczek E., Marek J., Polechoński R.: *Ocena kumulacji metali ciężkich w roślinach wodnych występujących na terenach wodonośnych miasta Wrocławia*. Polskie Towarzystwo Hydrobiologiczne Oddział we Wrocławiu, XVI Zjazd Hydrobiologów Polskich, 5-8 września 1994. Wrocław (1994)
- [2] *Dyrektywy Unii Europejskiej*. Dyr. 82/884/EEC.
- [3] *Dziennik Ustaw*: Dziennik Ustaw, nr 82 z dnia 4 września 2000 (2000)
- [4] *FWPCA*., Federal Water Pollution Control Administration. Report of the Committee on Water Quality Criteria. Section 3. Fish, other aquatic life and wildlife. Govt. Ptg. Off. Washington, D.C., 27-110 (1968)
- [5] HŁYŃCZAK A. J., Baranowska-Bosiacka I., Domagała J.: *Metale ciężkie w tkankach miękkich Anodonta anatina (Mollusca, Bivalvia)*. Polskie Towarzystwo Hydrobiologiczne Oddział w Poznaniu, XVII Zjazd Hydrobiologów Polskich, 8-11 września 1997. Poznań (1997)
- [6] *International Standard*.: Water quality – Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish *Brachydanio rerio* Hamilton – Buchanan (Teleostei, Cyprinidae) – Part 1: Static method. ISO 7346/1. – 1984(E) (1984)
- [7] *ISO document*.: *Second proposal for a standard method for screening chemicals and products for acute toxicity to freshwater fish using a semistatic procedure*. ISO/TC 147/SC 5/WG 3 N 28 (1979)

- [8] ISO document.: *Determination of acute lethal toxicity of substances to freshwater fish using a semi – static procedure*. ISO/TC 147/SC 5/GT 3 N 38 (1980)
- [9] JONES, J., R., E.: *Fish and River Pollution*. Butterworth, London (1964)
- [10] KRÓLAK, E.: *Concentration of heavy metals in the snails *Lymnaea (Radix) peregra* (O. F. Mull) and *Lymnaea stagnalis* (L) occurring in rivers near Siedlce town*. Pol. Arch. Hydrobiol., 45(4), 553-563 (1998)
- [11] LIEBMANN H.: *Handbuch der Frischwasser und Abwasserbiologie*. Bd. 1, 2, Jena, G. Fischer Verlag (1962)
- [12] MEINCK, F., Stooff, H., Kohlschütter, H.: *Ścieki przemysłowe*. Warszawa. Arkady (1975)
- [13] MOOR J.: *Heavy metals in natural waters*. Berlin, Springer Verlag (1984)
- [14] PIONTEK M.: *The regenerative ability of the planarian *Dugesia tigrina* (Girard) and the possibility of its use in reproduction of this species*. Acta Hydrobiol., 25/26, 81-88 (1983/1984)
- [15] PIONTEK M.: *Ocena stopnia toksyczności 28 chemicznych związków mineralnych i organicznych na podstawie testów z *Daphnia magna* Straus*. [Toxicity assesement of 28 mineral and organic chemical compounds on the basis of tests with *D. magna* Straus]. Zesz. Nauk. Politechn. Zielonogórskiej, 111, Inżynieria Środowiska, 5, 49-59 Zielona Góra (1997)
- [16] PIONTEK M.: *Application of *Dugesia tigrina* Girard in toxicological studies of aquatic environments*. Pol. Arch. Hydrobiol., 45 (4), 565-572 (1998)
- [17] PIONTEK M.: *Use of the planarian *Dugesia tigrina* Girard in studies of acute intoxication*. Pol. Arch. Hydrobiol., 46 (1), 41-48 (1999a.)
- [18] PIONTEK M.: *Use of a planarian *Dugesia tigrina* Girard in the studies of acute toxicity of organic substances*. Pol. Arch. Hydrobiol., 46 (3-4), 331-338 (1999b)
- [19] POLAŃSKI A.: *Podstawy geochemii*. Wydawnictwo Geologiczne. Warszawa (1988)
- [20] SOLSKI A.: *Metodyka badań biotoksykologicznych*. Inst. Meteorol. i Gosp. Wodnej. Wrocław (1977)
- [21] SZYMAŃSKI K.: *Wpływ wysypisk odpadów komunalnych na skład odcieków i wód podziemnych*. Woda-ścieki-odpady w środowisku. II. Materiały konferencyjne, 203-217 Politechnika Zielonogórska. Zielona Góra (1997)
- [22] TWAROWSKI R., Gendolla T., Liana E.: *Monitoring zanieczyszczeń wnoszonych z opadem atmosferycznym na obszar dorzecza środkowej Odry*. I. Międzynarodowa Konferencja „Ochrona i rekultywacja terenów dorzecza Odry - Sytuacja po powodzi 1997 roku”. Materiały konferencyjne, 375-389, Politechnika Zielonogórska. Zielona Góra (1998)
- [23] WEBER, E.: *Grundriss der biologischen Statistik für Naturwissenschaftler, Landwirte und Mediziner*. Jena, G.Fischer Verlag (1972)