

Celem badania jest poznanie toksyczności i toksykokinetyki nanocząstek cynku u bezkręgowców glebowych, reprezentowanych tu przez modelowy organizm, jakim jest dżdżownica *Eisenia andrei*. Toksyczność nanocząstek metali, których produkcja i zużycie gwałtownie wzrosło w ciągu ostatnich mniej więcej 10 lat, jest wciąż bardzo słabo poznana w porównaniu do bardziej tradycyjnych zanieczyszczeń środowiskowych, jakimi są np. metale w formie jonowej. Toksykokinetyka nanocząstek metali, czyli tempo ich pobierania ze środowiska i wydalania przez organizmy, jest praktycznie zupełnie nieznaną. Nie wiadomo także, czy i do jakiego stopnia nanocząstki metali wpływają na budowę energetyczną organizmów – czy powodują zwiększone zużycie energii w związku z ponoszeniem kosztów detoksykacji, czy też spowalniają procesy metaboliczne przez toksyczne działanie na mechanizmy związane z procesami redox. Specyfika nanocząstek i ich zachowanie się w środowisku pozwala sądzić, że wszystkie te zjawiska i procesy mogą się zasadniczo różnić w przypadku nanocząstek metali w porównaniu do znacznie lepiej poznanych pod tym względem jonów metali.

Proponowane badania będą polegały na porównaniu toksyczności, toksykokinetyki i wpływu nanocząstek tlenku cynku (nano-ZnO) na procesy energetyczne zachodzące w organizmie dżdżownicy z oddziaływaniem na te procesy cynku w formie jonowej (ZnCl<sub>2</sub>). U zwierząt eksponowanych na obie formy cynku poprzez odpowiednio skażoną glebę, mierzone będzie stężenie cynku w organizmie i zawartość materiałów energetycznych (cukry, tłuszcze i białka). Okresowo będzie też mierzone tempo respiracji, co pozwoli określić wpływ każdego z form cynku na ogólny budżet energetyczny organizmu.

Projekt doskonale wpisuje się w obecne trendy w ekotoksykologii, rozumianej jako jedna z gałęzi nauk podstawowych, zmierzająca bowiem do wyjaśnienia pewnych ogólnych mechanizmów, szeroko dyskutowanych w środowisku naukowym od wielu lat, równocześnie nie koncentrując się na problemie bardzo wymyślnym – rosnącym narażeniu organizmów na nanocząstki. Losy substancji toksycznych w organizmie, tempo ich akumulacji i eliminacji (tj. toksykokinetyka) oraz wyjaśnienie mechanizmów gospodarowania zasobami energetycznymi w obecności czynnika stresowego wciąż należą do problemów intensywnie badanych w kontekście coraz to nowych czynników stresowych pojawiających się w środowisku. Do takich nowych czynników należą nie nanocząstki metali, których rosnąca obecność w środowisku jest wynikiem coraz powszechniejszego ich stosowania w różnych gałęziach przemysłu. Szacuje się, że produkcja najbardziej popularnych nanomateriałów to ok. 300 tysięcy ton rocznie, a na światowym rynku istnieje ponad 1300 produktów zawierających w swoim składzie nanocząstki. Po uwolnieniu do środowiska, nanocząstki mogą oddziaływać z poszczególnymi jego elementami, a o charakterze tych interakcji decydują zarówno właściwości samych nanocząstek (np. rozpuszczalność w wodzie, stabilność koloidalna, reaktywność), jak i właściwości środowiska (temperatura, pH, zawartość materii organicznej w glebie). Dotychczasowe badania wykazały, że nano-ZnO mogą być w pewnych warunkach toksyczne dla różnych organizmów, a o ich toksyczności decydują takie cechy, jak rozmiar, kształt, rozpuszczalność czy podatność na agregację. Jeśli nanocząstki metalu nie ulegają rozpuszczeniu, to mogą być akumulowane wewnątrz organizmu, a proces ich akumulacji może odbywać się w zupełnie inny sposób niż w przypadku form jonowych tego samego metalu. Jeśli natomiast nanocząstki ulegają rozpuszczeniu, będzie to w roztworze glebowym, będzie w przewodzie pokarmowym organizmu, to ich toksykokinetyka powinna być porównywalna do toksykokinetyki form jonowych. Dlatego w niniejszych badaniach losy nanocząstek w skażonej glebie i w organizmie zwierząt będą porównane z tymi procesami dla jonowej formy cynku.

Zostaną przeprowadzone dwa duże eksperymenty, w których dżdżownice będą eksponowane na glebę skażoną nano-ZnO lub ZnCl<sub>2</sub>. Sam przebieg do wiadczenia będzie miał charakter typowego eksperymentu toksykokinetycznego z 42-dniowym okresem narażenia na skażoną glebę (faza kontaminacji) i następującą po nim fazę dekontaminacji, w której dżdżownice wcześniej narażone na skażoną glebę zostaną przedstawione na glebę czystą. W pierwszym eksperymencie czysty pobór dżdżownic do analizy stężenia Zn pozwoli na wychwycenie dynamicznych zmian stężenia tego metalu, najprawdopodobniej różnic w zależności od formy Zn obecnej w glebie (nano-ZnO vs jony Zn). Człowiek osobników przeznaczona zostanie do identyfikacji nanocząstek wewnątrz organizmu z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej. Dżdżownice z drugiego eksperymentu zostaną przeznaczone do pomiarów tempa respiracji na poziomie organizmu oraz do analiz biochemicznych komórkowego budżetu energetycznego. Zmierzone zostaną rezerwy energetyczne (Er) jako ilość białka, tłuszczu i węgla oraz tempo respiracji na poziomie komórkowym (Ec). Różnica pomiędzy Er a Ec reprezentuje budżet energetyczny netto komórki, wyrażony jako CEA (ang. *Cellular Energy Allocation*) badanego organizmu.

Zespół Ekotoksykologii i Ekologii Stresu w Instytucie Nauk o Środowisku UJ, w którym wykonywany będzie projekt prowadzący badania nad toksykokinetyką metali u bezkręgowców oraz kosztami życia w skażonym środowisku i związanymi z tym różnymi mechanizmami detoksykacji od wielu lat, a opiekun naukowy posiada znaczny publikowany dorobek w tym zakresie. Zespół jest doskonale wyposażony do przeprowadzenia proponowanych prac laboratoryjnych, a wykonawca ma już do wiadczenia zarówno w pracy eksperymentalnej, jak i analizach statystycznych danych toksykokinetycznych, zdobyte w trakcie wykonywania pracy magisterskiej, która była częścią projektu pt. „Toksykokinetyka metali u bezkręgowców: modele i fizjologia” (NCN 0384/B/P01/2011/40; kierownik projektu prof. Ryszard Laskowski), jak również obecnemu zaangażowaniu w projekcie pt. „Effect of metal bioavailability on toxicokinetics and compartmentalization of metals in carabids” (HOMING PLUS/2013-8/1; kierownik projektu dr Agnieszka Bednarska).

Nowatorstwo niniejszego projektu polega przede wszystkim na porównaniu toksykokinetyki Zn po narażeniu organizmu na dwie różne formy Zn w glebie oraz powiązanie zmian w toksykokinetyce ze zmianami w komórkowym budżecie energetycznym dżdżownic. Będzie to znaczny krok w kierunku wyjaśnienia mechanizmów rządzących toksykokinetyką nanocząstek metali u zwierząt bezkręgowych. Takie dane dla nanocząstek obecnie nie istnieją, a są one kluczowe dla możliwości przewidywania skutków długotrwałego narażenia na subletalne stężenia substancji toksycznych. Chociaż projekt nie ma na celu rozwiązywania problemów praktycznych, to w dalszej perspektywie może stanowić przyczynek do zastosowania w ocenie ryzyka ekologicznego (ang. *Ecological Risk Assessment*), szczególnie będzie przeprowadzony na gatunku standardowo używanym w testach ekotoksykologicznych. Proponowane badania będą najprawdopodobniej pierwszymi tego typu, które ze względu na nowatorstwo

proponowanego tematu mają szansę na opublikowanie w najlepszych międzynarodowych czasopiśmie i by dobrze cytowanymi w przyszłości. Wyniki zostaną oczywiście zaprezentowane także na najważniejszych w dziedzinie międzynarodowych konferencjach.