

Marko Broma*, Małgorzata Rajfur**, Andrzej Kłos**, Katarzyna Duczmal* i Maria Waclawek**

* Publiczne Liceum Ogólnokształcące Nr II z Oddziałami Dwujęzycznymi im. Marii Konopnickiej
ul. K. Pułaskiego 3, 45-048 Opole
tel. 77 454 22 86
email: marko132005@wp.pl

** Zakład Badań Fizykochemicznych
Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej
Uniwersytet Opolski
ul. kard. B. Kominka 4, 45-032 Opole
tel. 77 401 60 42
email: mrajfur@o2.pl, aklos@uni.opole.pl

WYKORZYSTANIE DŹDŹOWNIC DO OCENY ZANIECZYSZCZENIA GLEB METALAMI CIĘŻKIMI

USE OF EARTHWORMS TO ASSESS SOIL CONTAMINATION WITH HEAVY METALS

Abstrakt: Celem przeprowadzonych przez nas badań była ocena możliwości wykorzystania dżdżownic do badania zanieczyszczenia gleb. Do badań wykorzystano dżdżownice *Dendrobaena veneta* pochodzące z Hodowli Dżdżownic „Ekagro Sp. z o.o.” ze Słupska oraz naturalnie występujące w środowisku dżdżownice ziemne *Lumbricus terrestris*. Zbadano sorpcję metali ciężkich przez badany gatunek dżdżownic, a także wpływ czasu ekspozycji na stężenie Cd, Pb i Zn w ich organizmach. Przeprowadzono również wstępne badania biomonitoringowe okolic Chmielowic k. Opola z wykorzystaniem naturalnie występującego na badanym obszarze gatunku dżdżownic. W dżdżownicach metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS) oznaczano stężenia: Cd, Cu, Mn, Ni, Pb i Zn.

Słowa kluczowe: dżdżownice, metale ciężkie, zanieczyszczenie gleb, absorpcyjna spektrometria atomowa (AAS)

Abstract: The aim of our investigations was assessment of earthworms usefulness in investigations of soil contamination. In our researches the earthworms *Dendrobaena veneta* (from Earthworms Farm „Ekagro Sp. z o.o.”, Słupsk, PL) and naturally occurring in environment earthworms *Lumbricus terrestris* were tested. The heavy metal type and exposition time influences on Cd, Pb and Zn concentrations in earthworms organism were investigated. The preliminary biomonitoring researches were conducted in the region of Chmielowice (Opole voivodship, south-western Poland). The concentrations of: Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn were determined in earthworms with atomic absorption spectrometry (AAS).

Keywords: earthworms, heavy metals, soil contamination, atomic absorption spectrometry (AAS)

W badaniach monitoringowych, także ekosystemów glebowych, coraz częściej wykorzystywane są bioindykatory i biomonitoring; organizmy, które wskazują na mierzalne zmiany morfologiczne, anatomiczne i fizjologiczne zachodzące wskutek fizykochemicznych zmian w ekosystemie, w którym żyją. Cennych informacji dostarczają badania pierwiastków, głównie metali ciężkich, zakumulowanych w ich strukturze.

Procesy zachodzące w glebie, życiodajnym podłożu wszystkich ekosystemów lądowych, mają zasadnicze znaczenie dla ich trwałości i funkcjonowania [1]. Metale ciężkie, przenikając do gleb, mogą wpływać szkodliwie na florę, zwierzęta glebowe i człowieka, będącego niejednokrotnie ostatnim ogniwem detrytusowych łańcuchów troficznych [2, 3].

Translokacja metali ciężkich z gleby do organizmów żywych jest uwarunkowana wieloma czynnikami, m.in. wilgotnością i pH gleby, obecnością i formą, w jakiej występują inne metale, zawartością materii organicznej w glebie [4]. Dla przykładu metale ciężkie, zwłaszcza kadm, wykazują dużą mobilność w glebach o odczynie kwaśnym [5].

Dżdżownice (*Lumbricus*), ze względu na powszechne występowanie w środowisku ściółkowo-glebowym, całoroczną dostępność oraz względnie dużą tolerancję w stosunku do badanych metali ciężkich, mogą być dobrymi biomonitorami gleb.

Należą one do typu pierścienic (*Annelida*) - charakterystycznych bezkręgowych organizmów robakowatych, których ciało zbudowane jest z segmentów -

pierścieni. Pierścienice liczą około 9000 gatunków. Wyróżnia się wśród nich gromady: wieloszczety (*Polychaeta*), skąposzczety (*Oligochaeta*) i pijawki (*Hirudinea*) [6, 7]. Dżdżownice należą do gromady skąposzczetów (*Oligochaeta*), rodziny dżdżownicowatych (*Lumbricidae*). Zasadniają najczęściej gleby gliniaste i żyzne (zawierające dużą ilość materii organicznej). Odżywiają się wyłącznie materią organiczną pochodzenia roślinnego i zwierzęcego [8].

Ich obecność wpływa na jakość gleby. Pozostawiając po sobie korytarze wewnątrz ziemi, umożliwiają jej przewietrzanie, mieszają warstwy gleby, np. wciągając pokarm z wyższych warstw ziemi, wzbogacają w substancje organiczne, a także o kilkadziesiąt procent zwiększają zdolność chłoną gleby. Mają także wpływ na odczyn pH gleby i kumulację w niej witaminy B₁₂ [6, 9]. Wykazują bardzo dużą tolerancję pokarmową, a także wytrzymałość głodową. Jako pokarm najczęściej wybierane są szczątki roślin, w których zachodzą już procesy gnilne, przyspieszając i powiększając tym samym zawartość humusu (próchnicy) [10].

Wraz z pokarmem mogą zjadać różne rozwijające się w glebie patogeny, np. bakterie i grzyby. W przewodzie pokarmowym dżdżownicy istnieją dogodne warunki do rozwoju mikroorganizmów, które pozytywnie wpływają na sposób trawienia pokarmu, a tym samym wywierają korzystny wpływ na żyzność gleby [8].

Dżdżownice ziemne (zwłaszcza odmiana *Eisenia fetida*) są wykorzystywane do tzw. wermikompostowania komunalnych odpadów organicznych. Ten typ kompostowania jest popularny m.in. we Francji oraz w Kanadzie. Ważną cechą wermikompostu wyprodukowanego przez dżdżownice jest mniejsza zawartość metali ciężkich: Pb, Cd i Zn w stosunku do stężenia tych metali zawartych w osadach poddanych kompostowaniu. Ustalono, że dżdżownice są swoistymi sorbentami metali ciężkich. Stwierdzono także, że utylizacja odpadów ściekowych tą metodą jest korzystna dla środowiska [11, 12].

W Chinach prowadzono badania z wykorzystaniem dżdżownic *Eisenia fetida*. Badano ich wpływ na poprawę żyzności i zawartości metali ciężkich (Cu i Cd) w osadach ściekowych, a także na jakość plonu roślin hodowanych w glebie z dodatkiem osadu. W osadzie ściekowym przetwarzanym przez dżdżownice stwierdzono zmniejszoną zawartość materii organicznej, azotu całkowitego i metali ciężkich oraz zwiększoną zawartość fosforu i potasu całkowitego, a także biodostępnych form azotu, fosforu i potasu. Rośliny rosnące na takim osadzie charakteryzowały się zwiększoną biomasą. Zawierały także mniej metali ciężkich [13].

Suthar i współprac. [14] poszukiwali korelacji pomiędzy stężeniem metali ciężkich (Zn, Cu, Pb, Cd i Mn) w glebie i w bytujących w niej dżdżownicach. Dżdżownice pobierano z terenów o różnym stopniu zanieczyszczenia gleb metalami ciężkimi. Autorzy stwierdzili, że dżdżownice są bardzo dobrymi bioakumulatorami metali ciężkich, a zawartość analitów w tkankach dżdżownic zależy od ich stężenia

w glebie, dlatego dżdżownice mogą być dobrymi biomonitorami zanieczyszczenia gleb metalami ciężkimi.

W Polsce pierwsze hodowle dżdżownic założono na początku lat 90. [11]. Obecnie dżdżownice namnożone w tych hodowlach wykorzystuje się m.in. do zwiększenia żyzności gleb, produkcji paszy dla zwierząt, a także do sorbowania metali ciężkich w skażonych glebach (bioremediacja) [9].

W 2003 roku prowadzono badania wpływu kadmu na proces rozmnażania się dżdżownic z gatunku *Dendrobaena veneta*. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że dżdżownice mogą akumulować duże ilości tego metalu ($265,4 \pm 1,6$ mg/kg s.m.). Stwierdzono również, że kadm wpływał na degradację struktury jajników, kumulował się również w zwojach nerwowych. Oceniono, że dżdżownice są zdolne do przetrwania w glebach o znacznym stężeniu kadmu (50 mg/kg s.m.), jednak skutkuje to zmniejszeniem liczby składanych jaj [5].

Piotrkowski i Jackowska [15] prowadzili badania mające na celu ocenę akumulacji metali ciężkich, zawartych w osadach pościekowych wprowadzonych do gleby, przez hodowane w nich dżdżownice *Eisenia fetida*. Stwierdzono, że wraz ze zwiększeniem się zawartości badanych metali ciężkich w środowisku hodowli zwiększała się zawartość tych analitów w organizmach dżdżownic. Był to ponad 7-krotny wzrost zawartości kobaltu, 14-krotny kadmu i 23-krotny chromu w dżdżownicach hodowanych w samym osadzie, w porównaniu do dżdżownic hodowanych w glebie. Autorzy stwierdzili, że niezależnie od zawartości metali ciężkich w środowisku glebowym dżdżownice *Eisenia fetida* akumulują je w następującym szeregu: Cu < Mn < Cd < Zn < Fe [15].

Celem przeprowadzonych przez nas badań laboratoryjnych była ocena właściwości sorpcyjnych organizmu dżdżownicy *Dendrobaena veneta*. Zbadano wpływ stężenia Cd, Pb i Zn w glebie na akumulację tych metali w dżdżownicach. Określono również wpływ czasu ekspozycji dżdżownic na stężenie tych analitów w ich organizmach.

Wykorzystując wyniki badań laboratoryjnych, dokonano oceny zanieczyszczenia gleb formami biodostępnymi metali ciężkich (Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb i Zn) terenów w okolicach Chmielowic (woj. opolskie). W badaniach biomonitoringowych wykorzystano występujące tam dżdżownice ziemne *Lumbricus terrestris*.

Badania prowadzono w Zakładzie Badań Fizykochemicznych Katedry Biotechnologii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Opolskiego.

Sposób preparowania próbek i prowadzenia analiz

Badania laboratoryjne

W celu oceny wpływu zanieczyszczenia gleb metalami ciężkimi na poziom ich akumulacji w dżdżownicach *Dendrobaena veneta* założono hodowle laboratoryjne tego gatunku w 0,5 kg próbkach gleby (uniwersalna ziemia kwiatowa o pH = 5,5÷6,5) sztucznie zanieczyszczonej metalami ciężkimi (Cd, Pb i Zn). Dżdżownice hodowane

były (po 5 sztuk w jednym pojemniku) przez 14 dni w glebie sztucznie zanieczyszczonej odpowiednio: Cd (w zakresie stężeń 0,5÷8 mg Cd/kg gleby s.m.), Pb (20÷130 mg Pb/kg gleby s.m.) i Zn (20÷200 mg Zn/kg gleby s.m.).

Równolegle prowadzona była hodowla kontrolna dżdżownic na glebie niezanieczyszczonej w laboratorium zawierającej odpowiednio: Cd - 2,1; Pb - 65 i Zn - 95 mg/kg s.m.

Aby dokonać oceny wpływu czasu ekspozycji dżdżownic na stężenie metali ciężkich: Cd, Pb i Zn, w ich organizmach założono nowe hodowle laboratoryjne. W tym celu umieszczono po 25 osobników *Dendrobaena veneta* w trzech pojemnikach polietylenowych wypełnionych uniwersalną ziemią kwiatową o pH = 5,5÷6,5 o masie 2,5 kg. Do gleby wprowadzono metale ciężkie w następujących stężeniach: I pojemnik - 4,1 mg Cd/kg gleby s.m., II pojemnik - 135 mg Pb/kg gleby s.m. i III pojemnik - 195 mg Zn/kg gleby s.m. Próbkę do badań (po 5 dżdżownic) pobierano w równych odstępach czasu, co 8 (Cd) i 10 (Zn i Pb) dni.

Przez cały czas w hodowlach utrzymywano stałą wilgotność środowiska, uzupełniając straty wilgoci wodą dejonizowaną. Po okresie ekspozycji badane osobniki były pobierane z hodowli, przechowywane przez 2 dni w ciemnym miejscu w celu wypróżnienia się (w polietylenowych pojemnikach z wilgotną gazą), oczyszczane z zanieczyszczeń mechanicznych (płukane w wodzie dejonizowanej), uśpione za pomocą eteru dietylowego i suszone w temperaturze 323 K.

Badania biomonitoringowe

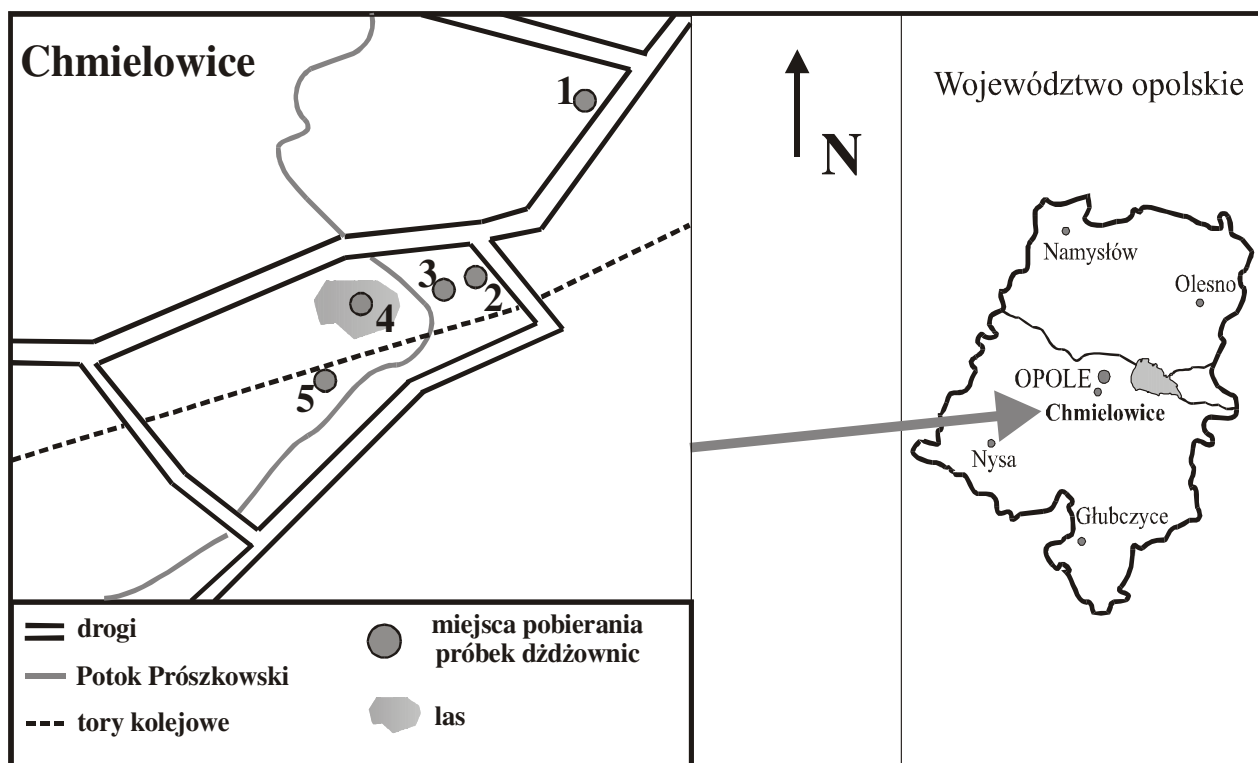
Badania biomonitoringowe z wykorzystaniem dżdżownicy ziemnej *Lumbricus terrestris* prowadzono na obszarze Chmielowic (miejscowość w gminie Komprachcice, powiat opolski). Próbkę dżdżownic do badań pobierano w lipcu 2009 roku. Miejsca, z których pobierano próbki *Lumbricus terrestris*, zaznaczono na mapie (rys. 1).

Jednorazowo z 30 cm warstwy gleby pobierano od 5 do 7 osobników dżdżownicy ziemnej (*Lumbricus terrestris*). Po pobraniu z ziemi bezkręgowce były wstępnie myte wodą dejonizowaną, a następnie umieszczane w pojemnikach polietylenowych wyłożonych gazą nasączoną wodą dejonizowaną. Następnie próbki zostały przewiezione do laboratorium, gdzie były przechowywane przez 2 dni w ciemnym miejscu. Dżdżownice oczyszczone z zanieczyszczeń mechanicznych (płukane w wodzie dejonizowanej), uśpione za pomocą eteru dietylowego, suszono w temperaturze 323 K.

Pomiary metodą AAS

Próbki dżdżownic przeznaczone do analizy metodą atomowej absorpcyjnej spektrometrii (AAS) były mineralizowane w mieszaninie kwasu azotowego(V) i kwasu chlorowego(VII) metodą na mokro [16].

Do analizy stężeń metali ciężkich w roztworach po mineralizacji wykorzystano absorpcyjny spektrometr atomowy SOLAAR 969 firmy UNICAM. W tabeli 1 podano progi wykrywalności oraz granice oznaczalności metali ciężkich, charakteryzujące spektrometr AAS [17].



Rys. 1. Miejsca pobierania próbek dżdżownicy ziemnej *Lumbricus terrestris* na obszarze Chmielowic

Fig. 1. Locations of the earthworms *Dendrobaena veneta* samples uptake on the Chmielowice area

Tabela 1. Granice wykrywalności oraz granice oznaczalności charakterystyczne dla absorpcyjnego spektrometru atomowego SOLAAR 969 firmy UNICAM [17]

Table 1. The limits of detection and the limits of determination of the atomic absorption spectrometer SOLAAR 969 produced by UNICAM [17]

Symbol pierwiastka	Granica wykrywalności [mg/dm ³]	Granica oznaczalności [mg/dm ³]
Cd	0,0028	0,032
Cu	0,0045	0,041
Mn	0,0016	0,029
Ni	0,008	0,063
Pb	0,013	0,10
Zn	0,0033	0,013

Do kalibrowania wykorzystano wzorce firmy ANALYTIKA Ltd. (CZ).

Zawartość wybranych analitów w próbkach dżdżownicy *Dendrobaena veneta*

W celu oceny wpływu zanieczyszczenia gleby metalami ciężkimi na poziom ich akumulacji w dżdżownicach badane osobniki wprowadzono do gleby zawierającej metale ciężkie w stężeniach mniejszych niż graniczne wartości dla gleb zawierających zanieczyszczenia pochodzenia antropogennego. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska [18], dotyczącym standardów jakości gleby i jakości ziemi, gleba uznana jest za zanieczyszczoną, gdy stężenie co najmniej jednej substancji przekracza wartość dopuszczalną (wartości dopuszczalne stężeń metali ciężkich w wierzchnich poziomach terenów przemysłowo-komunikacyjnych (grupa C) wynoszą odpowiednio: Cd - 15; Pb - 600 i Zn - 1000 mg/kg s.m.).

Wyniki pomiarów stężeń metali ciężkich Cd, Pb i Zn w dżdżownicach *Dendrobaena veneta* pobranych z hodowli laboratoryjnych w celu oceny wpływu zanieczyszczenia gleb

metalami ciężkimi na poziom ich akumulacji w ich organizmach przedstawiono w tabeli 2 i na wykresach na rysunkach 2-4. W próbie kontrolnej, którą stanowiły dżdżownice hodowane w glebie niezanieczyszczonej w sposób sztuczny metalami ciężkimi, oznaczono Cd - 3,0; Pb - 6,7 i Zn - 57,71 mg/kg s.m.

Tabela 2. Zawartość metali ciężkich w dżdżownicach *Dendrobaena veneta*

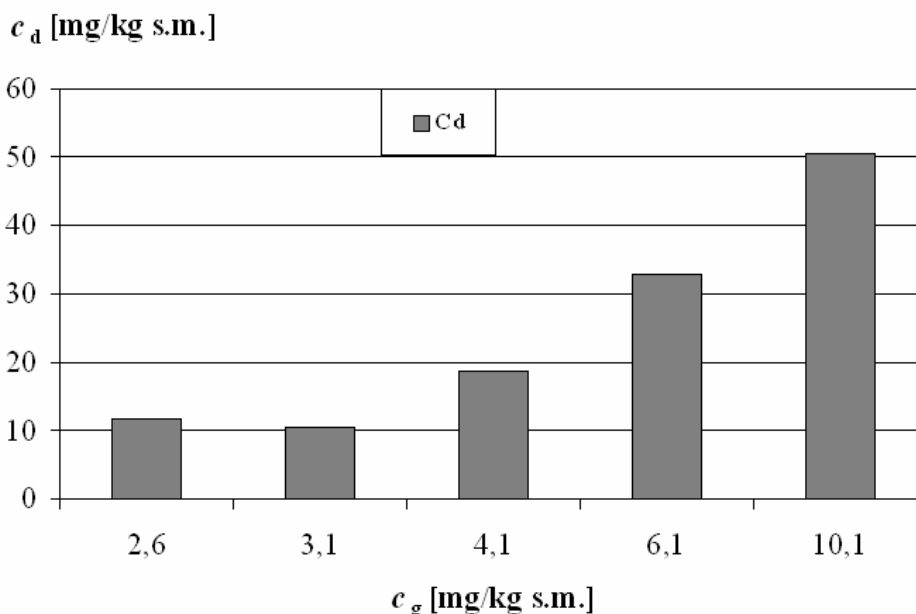
Table 2. Concentrations of heavy metals in earthworms *Dendrobaena veneta*

Stężenie Cd [mg/kg s.m.]		Stężenie Pb [mg/kg s.m.]		Stężenie Zn [mg/kg s.m.]	
gleba <i>c_g</i>	dżdżownice <i>c_d</i>	gleba <i>c_g</i>	dżdżownice <i>c_d</i>	gleba <i>c_g</i>	dżdżownice <i>c_d</i>
2,6	11,7	85	6,6	115	76,4
3,1	10,6	115	7,0	145	97,3
4,1	18,7	135	12,2	195	85,3
6,1	32,8	165	17,7	245	100,0
10,1	50,5	195	34,3	295	112,7

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że dżdżownice *Dendrobaena veneta* sorbują metale ciężkie zakumulowane w glebie. Wraz ze wzrostem stężenia metali ciężkich w środowisku bytowania wzrasta stężenie tych analitów w organizmie dżdżownic.

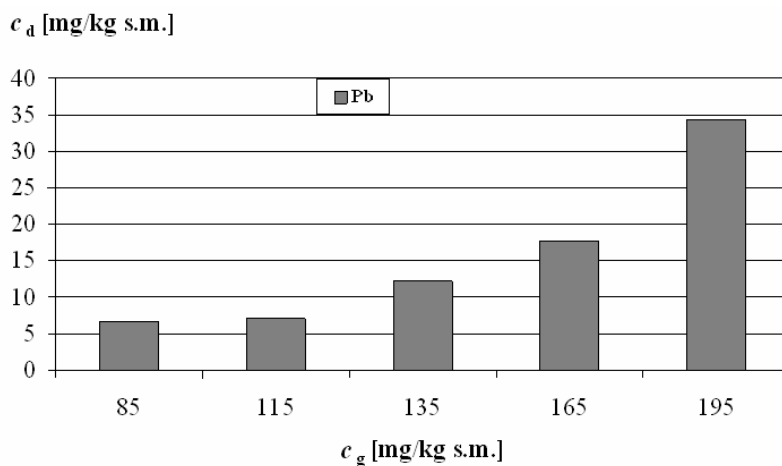
Na wykresach na rysunkach 5-7 przedstawiono wyniki badań wpływu czasu ekspozycji dżdżownic na stężenie metali ciężkich: Cd, Pb i Zn w ich organizmach.

Z wykresów wynika, że wydłużenie czasu ekspozycji dżdżownic powoduje zwiększenie stężenia metali ciężkich w tkankach badanych osobników.



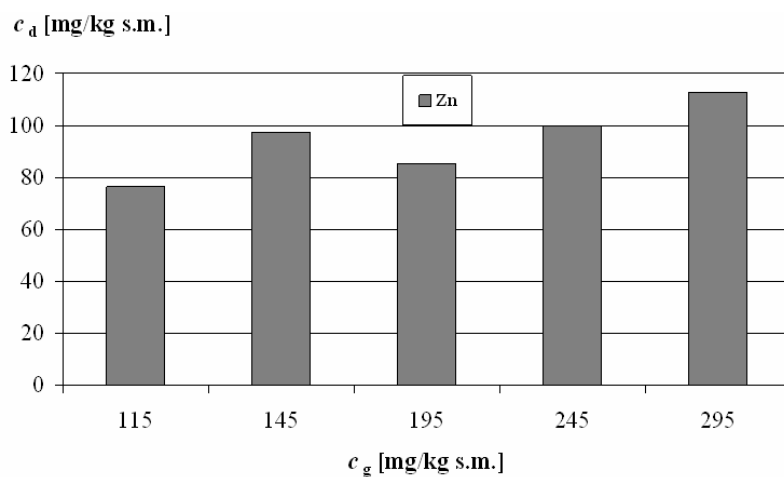
Rys. 2. Sorpcja kadmu z gleby przez dżdżownice *Dendrobaena veneta*

Fig. 2. Sorption of cadmium from the soil by earthworms *Dendrobaena veneta*



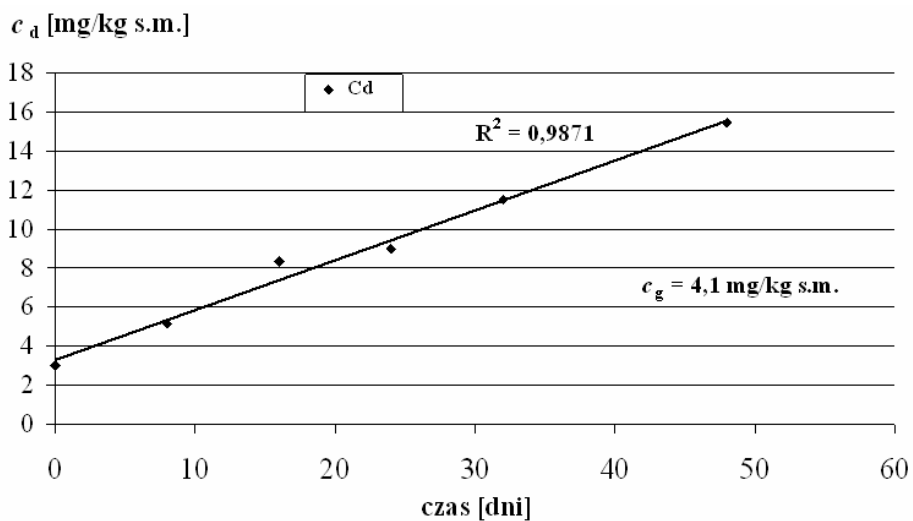
Rys. 3. Sorpcja ołowiu z gleby przez dżdżownicę *Dendrobaena veneta*

Fig. 3. Sorption of lead from the soil by earthworms *Dendrobaena veneta*



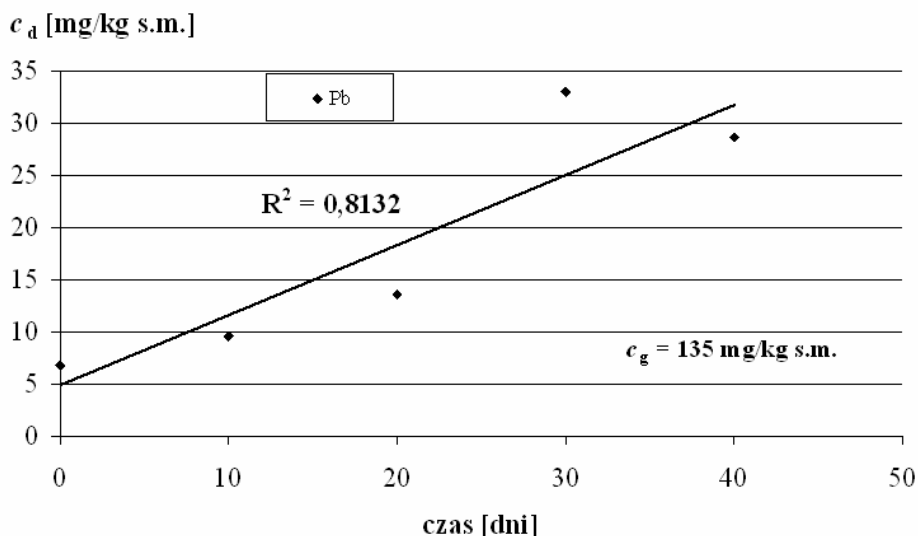
Rys. 4. Sorpcja cynku z gleby przez dżdżownicę *Dendrobaena veneta*

Fig. 4. Sorption of zinc from the soil by earthworms *Dendrobaena veneta*



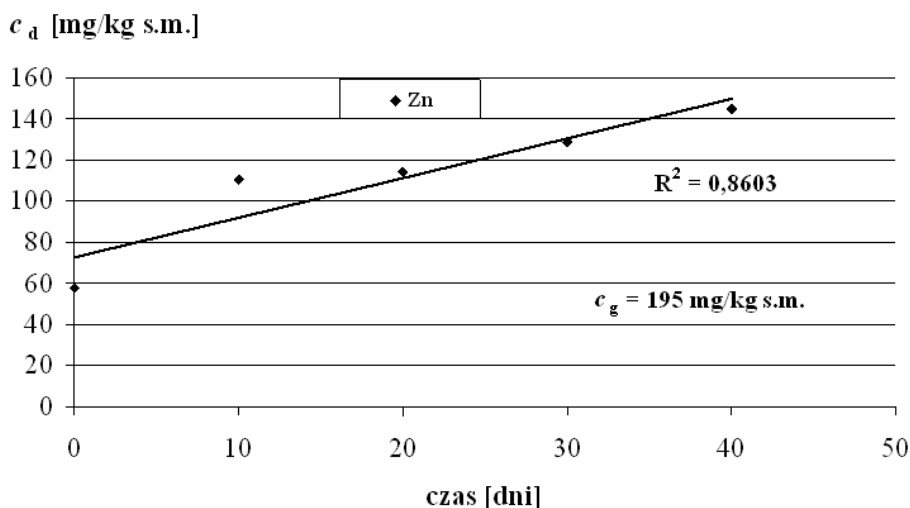
Rys. 5. Wpływ czasu ekspozycji dżdżownic na stężenie kadmu w ich organizmach

Fig. 5. Influence of earthworms exposure time on cadmium concentration in their bodies



Rys. 6. Wpływ czasu ekspozycji dżdżownic na stężenie ołowiu w ich organizmach

Fig. 6. Influence of earthworms exposure time on lead concentration in their bodies



Rys. 7. Wpływ czasu ekspozycji dżdżownic na stężenie cynku w ich organizmach

Fig. 7. Influence of earthworms exposure time on zinc concentration in their bodies

Badania biomonitoringowe z wykorzystaniem dżdżownicy ziemnej *Lumbricus terrestris*

W pięciu próbkach dżdżownicy ziemnej *Lumbricus terrestris* pobranych z miejsc pomiarowych, które zaznaczono na mapie (rys. 1), oznaczono metale ciężkie: Cd, Cu, Mn, Ni, Pb i Zn. Przeprowadzone badania pozwoliły na wstępną ocenę zanieczyszczenia obszaru Chmielowic tymi analitami. Wyniki z przeprowadzonych badań przedstawiono w tabeli 3 i na wykresach (rys. 8 i 9).

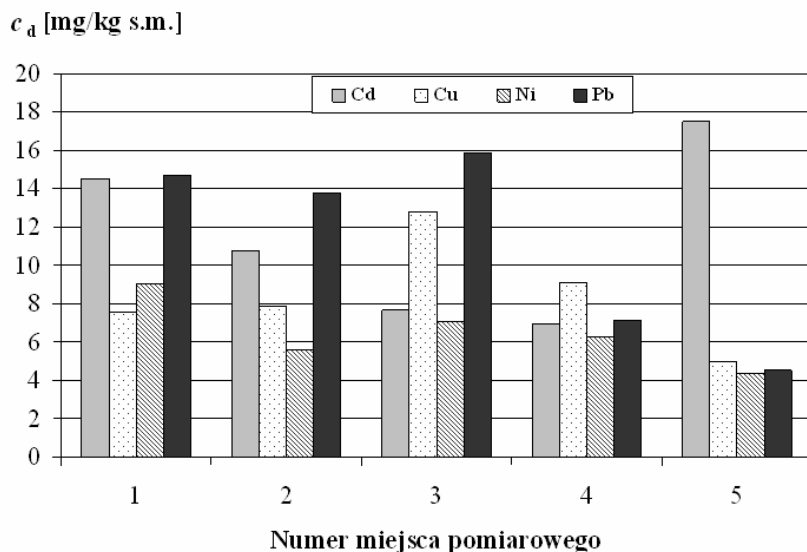
Wstępne badania biomonitoringowe obszaru Chmielowic z wykorzystaniem dżdżownic *Lumbricus terrestris* wskazują na zróżnicowane zanieczyszczenie gleby na badanym obszarze.

W dżdżownicach pobranych na obszarze zabudowanym (miejsca 1-3) odnotowano porównywalnie duże stężenia ołowiu, miedzi i kadmu, przy czym najwięcej kadmu

zakumulowało się w organizmach dżdżownic pobranych przy torach, w miejscu oznaczonym numerem 5 (17,5 mg/kg s.m.). We wszystkich miejscach odnotowano porównywalne stężenia cynku, niklu i manganu, przy czym w miejscu oznaczonym numerem 3 stężenie manganu było prawie trzykrotnie większe od średniej z pozostałych miejsc.

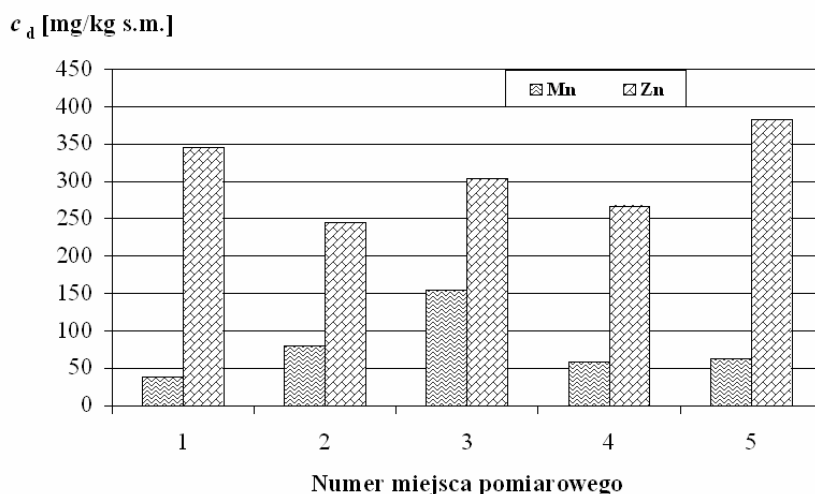
Tabela 3. Zawartość metali ciężkich w próbkach dżdżownicy ziemnej *Lumbricus terrestris*Table 3. Concentrations of heavy metals in samples of earthworms *Lumbricus terrestris*

Nr miejsca pomiarowego	Stężenie metali ciężkich w dżdżownicach [mg/kg s.m.]					
	Cd	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
1	14,5	7,55	37,8	9,02	14,7	345
2	10,8	7,85	80,7	5,59	13,8	245
3	7,7	12,79	154,5	7,05	15,9	303
4	6,9	9,08	58,3	6,28	7,1	267
5	17,5	4,95	62,1	4,38	4,5	382



Rys. 8. Stężenie Cd, Cu, Ni i Pb w dżdżownicach ziemnych *Lumbricus terrestris*

Fig. 8. Concentration of Cd, Cu, Ni and Pb in earthworms *Lumbricus terrestris*



Rys. 9. Stężenie Mn i Zn w dżdżownicach ziemnych *Lumbricus terrestris*

Fig. 9. Concentration of Mn and Zn in earthworms *Lumbricus terrestris*

Podsumowanie i wnioski

Metody biomonitoringowe stają się coraz bardziej popularnym sposobem oceny zanieczyszczenia środowiska: aerozolu atmosferycznego, wód oraz środowiska glebowego. Do oceny zanieczyszczenia gleby wykorzystywane są m.in. organizmy należące do pedofauny, których przedstawicielem są dżdżownice. Ich właściwości bioakumulacyjne, poprzez sorpcję metali ciężkich, polepszają jakość wermikompostu. Nieliczne jeszcze badania wykazały, że dżdżownice akumulują metale ciężkie proporcjonalnie do ich stężenia w środowisku glebowym.

Zaprezentowane wyniki badań dotyczyły oceny właściwości sorpcyjnych organizmu dżdżownicy *Dendrobaena veneta* oraz wstępnych badań biomonitoringowych z wykorzystaniem dżdżownicy ziemnej *Lumbricus terrestris*.

Wyniki badań wskazują, że:

- w warunkach laboratoryjnych dżdżownice akumulują metale ciężkie proporcjonalnie do ich stężenia w glebie (rys. rys. 2-4),
- na podstawie badania kinetyki sorpcji prowadzonej przez 40 dni (rys. rys. 5-7) można stwierdzić, że długotrwały i postępujący proces akumulacji nie określa ich pojemności sorpcyjnej, przy czym należy się spodziewać, że zbyt długa ekspozycja może prowadzić do obumarcia organizmów testowych.
- wstępne badania biomonitoringowe wskazują na ważne różnice w stężeniach badanych metali ciężkich w organizmie dżdżownic, szczególnie Cu, Cd i Pb, zaobserwowane na obszarze zabudowanym, w porównaniu z terenami leśnymi i nieużytkami (rys. rys. 8 i 9).

Literatura

- [1] Sławska M.: *Możliwości wykorzystania fauny glebowej w monitoringu ekosystemów leśnych*. Studia i Materiały Centrum Edukacji Przyrodniczo Leśnej, Rogów 2006, **8**(4), 184-192.
- [2] Chrzan A., Marko-Worłowska M. i Łaciak T.: *Metale ciężkie w glebie i organizmach bezkręgowców glebowych*. Proc. ECOpole, 2008, **2**(1), 59-62.
- [3] Dziadek K. i Waclawek W.: *Metale w środowisku, Cz. I. Metale ciężkie (Zn, Cu, Ni, Pb, Cd) w środowisku glebowym*. Chem. Dyakt. Ekol. Metrol., 2005, **10**(1-2), 33-44.
- [4] Chrzan A. i Marko-Worłowska M.: *Wpływ metali ciężkich zanieczyszczających glebę na zagęszczenie i różnorodność fauny glebowej*. Proc. ECOpole, 2008, **2**(2), 429-431.
- [5] Siekierska E.: *Mechanizmy działania kadmu na strukturę jajnika i przebieg oogenezy u dżdżownicy *Dendrobaena reneta**. Wyd. Uniw. Śląskiego, Katowice 2003.
- [6] Jura C.: *Bezkręgowce. Podstawy morfologii funkcjonalnej, systematyki i filogenezy*. WN PWN, Warszawa 2002.
- [7] Bukala B.: *Biologia. Bezkręgowce*. Wyd. Szkol. Omega, Kraków 2007.
- [8] Hempel-Zawitkowska J.: *Zoologia dla uczelni rolniczych*. WN PWN, Warszawa 2004.
- [9] Kostecka J.: *Poradnik hodowcy dżdżownic*. Akademia Rolnicza w Krakowie, Filia w Rzeszowie, Rzeszów 1993.
- [10] Plisko J.: *Annelida, Oligochaeta, Lumbricidae: dżdżownice*. Wyd. Polskiej Akademii Nauk, Warszawa 1973, 37-49.
- [11] Petryszak A. i Rościszewska M.: *Wykorzystanie dżdżownic do utylizacji odpadów komunalnych*. Aura, 1998, (3), 18-19.
- [12] Kotowska J. i Kotowski J.F.: *Chemiczna ocena wykorzystania dżdżownic (*Lumbricidae-Eisenia Fetida*) do rolniczego uzdatniania osadów z oczyszczalni ścieków*. Chem. Inż. Ekol., 1998, **5**(3), 179-184.
- [13] Liu X., Hu Ch. i Zhang S.: *Effects of earthworm activity on fertility and heavy metal bioavailability in sewage sludge*. Environ. Int., 2005, **31**, 874-879.
- [14] Suthar S., Singh S. i Dhawan S.: *Earthworms as bioindicator of metals (Zn, Fe, Mn, Cu, Pb and Cd) in soils: Is metal bioaccumulation affected by their ecological category?* Ecol. Eng., 2008, **32**, 99-107.
- [15] Piotrkowski J. i Jackowska I.: *Metale ciężkie ze środowisk skażonych w ekosystemach*. Zesz. Prob. Post. Nauk Rol., 1996, **434**, 931-935.
- [16] Matusiewicz H.: *Metody rozkładu próbek na mokro w analizie śladowej*. Chem. Inż. Ekol., 2004, **11**(S4), 463-498.
- [17] Instrukcja obsługi aparatu AAS SOLAR 969 firmy UNICAM. Spectr-Lab, Warszawa 1997.
- [18] Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleb oraz standardów jakości ziemi. DzU 2002, Nr 165, poz. 1359.