
TEZĂ DE DOCTORAT

Efectele combinate ale factorilor de mediu și alimentației asupra bioacumulării metalelor grele la cabaline și evaluarea riscului pentru sănătate

(REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT)

Doctorand **Maria Popescu**

Conducător de doctorat **Prof. univ. dr. Radu Lăcătuș**



INTRODUCERE

Contaminarea mediului cu metale grele reprezintă una dintre cele mai grave forme de poluare de lungă durată, cu impact major asupra ecosistemelor și sănătății organismelor vii. Datorită stabilității chimice și capacității ridicate de bioacumulare, aceste elemente rămân mult timp în sol, apă și organisme vii, generând efecte toxice chiar și la concentrații scăzute (Järup, 2003; Tchounwou și colab., 2012; Jaishankar și colab., 2014). Activitățile industriale și miniere constituie surse antropice importante de eliberare a metalelor grele, determinând contaminarea aerului, apelor și solurilor (Kabata-Pendias și Mukherjee, 2007).

Zonele miniere post-închidere continuă să afecteze mediul, deoarece haldele de steril și iazurile de decantare eliberează metale prin procese de oxidare și drenaj acid (Ashraf și colab., 2012). Aceste procese favorizează transferul metalelor din mediul abiotic către lanțurile trofice, generând un risc ecotoxicologic complex (Hu și colab., 2019), care se extinde de la sol și apă către plante, animale și om.

Metale precum plumbul, cadmiul, mercurul și arsenul sunt recunoscute pentru toxicitatea lor sistemică, fiind implicate în stres oxidativ, dereglări enzimatice și afectări neurologice (Jomova și Valko, 2011; Koyama și colab., 2024). Expunerea cronică, chiar la niveluri subclinice, produce efecte cumulative asupra sănătății și performanțelor biologice (Järup, 2003; Kincaid, 2000).

Biomonitorizarea permite evaluarea expunerii reale la contaminanți, integrând expunerea pe perioade îndelungate și efectele biologice ale contaminării (Budnik și Baur, 2009; Lionetto și colab., 2019). Probele biologice neinvazive, precum părul, copita și sângele, sunt utilizate frecvent pentru evaluarea expunerii cronice și recente la metale grele (Combs și colab., 1982; Chojnacka și colab., 2006).

Animalele domestice sunt modele biologice relevante în ecotoxicologie, fiind expuse similar cu omul la apă, hrană și sol (Roggeman și colab., 2013). Cabalinele prezintă un interes deosebit datorită longevității, contactului direct cu solul și posibilității de prelevare repetată de probe biologice (Dunnett și Lees, 2003; Giannetto și colab., 2022), fiind considerate o specie sentinelă pentru monitorizarea contaminării.

Părul și copita reflectă expunerea cronică, iar sângele și serul expunerea recentă și biodisponibilitatea metalelor (Asano și colab., 2002; Fazio și colab., 2020).

În România, mai ales în nord-vest, zonele cu istoric minier prezintă contaminări semnificative cu metale grele, cu impact asupra solurilor și agroecosistemelor (Bora și colab., 2023). Deși există numeroase date despre sol și plante, informațiile despre acumularea metalelor la animale sunt încă limitate.

Abordarea integrată mediu-organism permite urmărirea traseului metalelor de la sursă până la organism și diferențierea dintre expunerea cronică și cea recentă

(Kabata-Pendias și Mukherjee, 2007). Aceasta se înscrie în conceptul One Health, care evidențiază legătura dintre sănătatea mediului, a animalelor și a omului (Doğan și colab., 2024).

În acest context, teza își propune să evalueze impactul activităților miniere istorice asupra mediului și asupra cabalinelor din zone ecologic expuse, corelând parametrii de mediu cu nivelul de bioacumulare a metalelor grele și cu răspunsul biologic al organismelor.

STRUCTURA LUCRĂRII

Teza este structurată în nouă capitole, fiecare capitol având o tematică bine delimitată și contribuind progresiv la atingerea obiectivelor cercetării.

Capitolul 1 – Sursele de contaminare cu metale grele în agroecosisteme și impactul ecotoxicologic asupra animalelor prezintă rolul activităților antropice (exploatare miniere, industrie, agricultură intensivă) în încărcarea solurilor cu metale grele, cu exemple din zone miniere din România precum Maramureș, Apuseni sau Baia Mare (Bora și colab., 2023). Sunt evidențiate mecanismele prin care solul devine rezervor de contaminare, influența pH-ului asupra mobilității metalelor (Ashraf și colab., 2012) și transferul acestora către plantele furajere. Capitolul arată că furajele și apa contaminată reprezintă principalele căi de expunere ale animalelor, metale precum plumb (Pb), cadmiu (Cd), mercur (Hg) și arsen (As) fiind toxice chiar la niveluri scăzute (Tchounwou și colab., 2012), justificând necesitatea biomonitorizării în agroecosisteme.

Capitolul 2 – Mecanisme de bioacumulare și efectele toxicologice ale metalelor grele asupra animalelor descrie toxicocinetica și toxicodinamica metalelor grele la animale, de la căile de expunere și absorbție până la transportul plasmatic, distribuția tisulară și retenția de lungă durată (Kabata-Pendias și Mukherjee, 2007; Jaishankar și colab., 2014). Sunt diferențiate metalele esențiale (zinc (Zn), cupru (Cu), cobalt (Co)), care pot deveni toxice în exces, de cele neesențiale (Pb, Cd, Hg, As), cu efecte sistemice importante (Tchounwou și colab., 2012). Capitolul evidențiază tropismul tisular (Pb – os, Cd – ficat și rinichi, Hg – sistem nervos) și justifică utilizarea părului și copitei ca biomarkeri ai expunerii cronice (Dunnett și Lees, 2003). Sunt prezentate mecanismele principale ale toxicității (stres oxidativ, inhibiție enzimatică, genotoxicitate, dereglări endocrine/imune) și manifestările clinice și subclinice, subliniind necesitatea biomonitorizării pentru identificarea precoce a expunerii (Jomova și Valko, 2011; Budnik și Baur, 2009).

Capitolul 3 – Rolul cabalinelor ca specii sentinelă în biomonitorizarea ecotoxicologică argumentează utilizarea cabalinelor ca modele biologice pentru evaluarea contaminării cu metale grele, datorită expunerii multimodale, longevității și

regimului alimentar constant (Budnik și Baur, 2009; Tchounwou și colab., 2012). Sunt prezentate matricile biologice utilizate în biomonitorizare – părul și copita ca indicatori ai expunerii cronice (Dunnett și Lees, 2003; Asano și colab., 2002) și sângele/serul ca indicatori ai expunerii recente (Fazio și colab., 2020) – precum și avantajele abordării multi-matrice. Capitolul evidențiază rolul cabalinelor în evaluarea riscurilor ecotoxicologice și în cadrul conceptului One Health (Lionetto și colab., 2019).

Capitolul 4 – Ipoteza de lucru și obiectivele cercetării formulează ipoteza generală conform căreia activitățile miniere din nord-vestul României au modificat durabil calitatea solurilor și apelor, favorizând mobilitatea metalelor grele, transferul lor în lanțul trofic și bioacumularea la cabaline, cu apariția unor răspunsuri biologice detectabile. Capitolul definește trei studii complementare: evaluarea hidrogeochimică a apelor, caracterizarea fizico-chimică a solurilor și analiza bioacumulării și a răspunsului hematologic la cabaline, în vederea validării acestora ca specie sentinelă.

Capitolul 5 - Studiul I : Evaluarea hidrogeochimică a apelor din zone miniere post-închidere din nord-vestul României analizează impactul pe termen lung al activităților miniere istorice asupra calității apelor din nord-vestul României, prin compararea a trei zone selectate în funcție de gradul de influență antropică: zone din vecinătatea iazurilor de decantare, zone cu foste exploatare miniere și o zonă martor neafectată de minerit. Rezultatele arată că în zonele afectate reacția apei este ușor acidă, cu valori medii de 6,1–6,5 unități pH, față de 7,4–7,6 unități pH în zona martor. Conductivitatea electrică este ridicată în zonele miniere, de aproximativ 840–980 $\mu\text{S}/\text{cm}$, comparativ cu circa 390 $\mu\text{S}/\text{cm}$ în zona martor, iar solidele dizolvate totale ating 530–650 mg/l față de aproximativ 270 mg/l , indicând o mineralizare de peste două ori mai mare. Turbiditatea este mult mai mare în zonele miniere, cu valori de 12–17 NTU, față de aproximativ 2 NTU în zona martor, reflectând aportul de particule fine din materiale miniere. Concentrația de oxigen dizolvat este mai scăzută în zonele afectate, de 4,4–5,5 mg/l , comparativ cu 8,3 mg/l în zona martor, iar potențialul de oxidare–reducere este redus, cu valori de 208–236 mV față de peste 310 mV. Analiza statistică a evidențiat o corelație foarte puternică între conductivitatea electrică și solidele dizolvate totale și relații inverse între pH și potențialul de oxidare și între oxigenul dizolvat și mineralizare, demonstrând că apele din zonele post-miniere sunt mai mineralizate, mai slab oxigenate și caracterizate de condiții mai reducătoare, favorabile mobilizării și persistenței contaminanților, în timp ce zona martor prezintă un sistem hidrogeochimic stabil, apropiat de condițiile naturale.

Capitolul 6 – Studiul II: Impactul haldelor și iazurilor de decantare asupra proprietăților fizico-chimice ale solurilor analizează modul în care haldele de steril și iazurile de decantare influențează proprietățile fizico-chimice ale solurilor din nord-vestul României, prin compararea a trei zone selectate în funcție de gradul de impact minier: soluri din iazuri de decantare, soluri din areale miniere abandonate aflate în refacere naturală și soluri dintr-o zonă martor neafectată. Rezultatele arată că solurile din zona iazurilor de decantare au un caracter acid, cu pH mediu de 5,42, conținut scăzut de materie organică, aproximativ 1,12%, capacitate redusă de schimb cationic, circa 8,7 $\text{cmol}(+)/\text{kg}$, conductivitate electrică ridicată, aproximativ 478 $\mu\text{S}/\text{cm}$, și densitate aparentă mare, 1,54 g/cm^3 , indicând soluri instabile chimic și puternic degradate

structural. În zonele miniere abandonate, solurile prezintă valori intermediare, cu pH de aproximativ 6,11, materie organică de circa 2,34%, capacitate de schimb cationic de aproximativ 12,3 cmol(+)/kg și densitate aparentă de 1,43 g/cm³, ceea ce reflectă un stadiu incipient de refacere pedologică sub influența vegetației spontane. Zona martor prezintă cele mai favorabile condiții, cu pH apropiat de neutralitate, 6,82, materie organică ridicată, aproximativ 3,96%, capacitate de schimb cationic de circa 17,5 cmol(+)/kg, conductivitate electrică scăzută, aproximativ 162 μS/cm, și densitate aparentă redusă, 1,28 g/cm³, caracteristice unor soluri stabile și fertile. Distribuția texturală indică o trecere de la soluri luto-nisipoase în zona iazurilor, favorabile pierderii apei și mobilității contaminanților, la soluri luto-argiloase în zona martor, cu capacitate mai mare de retenție. Rezultatele demonstrează existența unui gradient clar de degradare și refacere a solurilor, controlat de intensitatea impactului minier și de procesele naturale de stabilizare, și confirmă rolul solului ca rezervor principal al contaminanților și ca factor-cheie în controlul mobilității acestora în ecosistemele post-miniere.

Capitolul 7 - Studiul III: Bioacumularea metalelor grele la cabaline crescute în zone ecologic expuse - rolul factorilor de mediu analizează bioacumularea metalelor grele la cabaline crescute în zone cu impact minier istoric, prin compararea a trei zone selectate în funcție de gradul de contaminare: zone din vecinătatea iazurilor de decantare, zone cu foste exploatări miniere și o zonă martor neafectată. Rezultatele evidențiază un gradient clar al expunerii, cu valori maxime în ariile miniere și minime în zona martor, confirmând transferul activ al metalelor din compartimentele de mediu către organism.

În păr, s-a observat cea mai bună reflectare a expunerii cronice, cu valori pentru cupru de aproximativ 10,18–18,91 mg/kg și pentru zinc de 139,52–186,60 mg/kg în zonele poluate, față de 1,01–1,12 mg/kg cupru și 48,56–51,36 mg/kg zinc în zona martor. Plumbul a atins până la 7,58 mg/kg și cadmiul până la 1,41 mg/kg în ariile miniere, iar nichelul, arsenul și cromul au prezentat niveluri mai ridicate decât în martor, în timp ce mercurul nu a fost detectat, confirmând integrarea contaminanților pe termen lung în structura firului de păr.

Copita a confirmat expunerea cronică prin valori ridicate în zonele contaminate, cu cupru între 4,80 și 11,00 mg/kg, zinc între 108,68 și 176,77 mg/kg și plumb până la aproximativ 6,60 mg/kg, față de valori mult mai mici în zona martor. Nickelul și cobaltul au fost de asemenea mai ridicate în ariile miniere, iar cadmiul nu a fost detectat, arsenul, cromul și mercurul fiind frecvent sub limita de detecție, ceea ce arată că structura cornoasă integrează selectiv metalele pe termen lung, mai ales în peretele copitei.

Serul a reflectat mai ales expunerea recentă, cu valori relativ apropiate între zone pentru cupru și zinc, dar cu diferențe semnificative pentru nichel și cobalt. Nickelul a variat între 1,40 și 1,83 μg/l în zonele poluate, față de aproximativ 0,17 μg/l în zona

martor, iar cobaltul a fost detectat doar în zonele contaminate, cu valori de 0,22–0,37 µg/l. Plumbul, cadmiul, arsenul, cromul și mercurul au fost sub limita de detecție, indicând mecanisme eficiente de reglare și eliminare din circulație.

Lichidul sinovial a avut o utilitate limitată pentru metalele toxice, fiind detectate constant doar cupru și zinc, cu cupru între 3,37 și 9,07 µg/l și zinc între 108,87 și 394,63 µg/l în zonele poluate. Plumbul, cadmiul, nichelul, cobaltul, arsenul, cromul și mercurul au fost sub limita de detecție, ceea ce sugerează că spațiul articular nu reprezintă un compartiment major de acumulare a metalelor grele.

Probele de apă au indicat contaminare semnificativă în zonele miniere, cu cupru de aproximativ 3,10–3,50 mg/l, peste limita legală, plumb de circa 0,04 mg/l și nichel de 0,10–0,11 mg/l, de câteva ori peste pragurile admise. Zincul a avut valori ridicate, apropiate de limita superioară acceptabilă, iar cadmiul, arsenul și mercurul au fost sub limita de detecție. În zona martor, toate valorile au fost sub limitele legale.

Solul s-a comportat ca principal rezervor de contaminare, cu cupru de aproximativ 74,70 mg/kg în Zona I și 156,71 mg/kg în Zona II, zinc de peste 350–416 mg/kg și plumb și cadmiu peste limitele admise. Nichelul și cobaltul au prezentat depășiri moderate, iar arsenul, cromul și mercurul au fost sub limita de detecție. Zona martor a prezentat valori apropiate de fondul natural.

Furajele au reflectat transferul metalelor din sol și apă către lanțul trofic. Iarba și fânul din zonele miniere au avut cupru de aproximativ 6,35–12,82 mg/kg, zinc de 109–141 mg/kg și plumb până la 5,61 mg/kg, de zeci de ori mai mari decât în zona martor. Cadmiul a fost prezent în cantități mici, dar semnificativ mai mari decât în martor, iar nichelul a fost detectat doar în zonele contaminate. Concentratele din zona martor au avut valori scăzute și uniforme, confirmând că furajele sunt veriga principală de transfer a metalelor din mediu către cabaline.

Capitolul 8 - Concluzii generale formulează concluziile finale ale tezei și arată că activitățile miniere istorice au produs modificări persistente ale mediului, care favorizează mobilitatea metalelor grele și transferul acestora în lanțul trofic. Apele din zonele miniere sunt mai acide, mai slab oxigenate și mai instabile din punct de vedere redox decât în zona martor, ceea ce menține un risc constant de remobilizare a metalelor. Solurile din vecinătatea iazurilor de decantare sunt acide, sărace în materie organică și cu capacitate redusă de schimb cationic, funcționând ca principal rezervor al contaminării istorice. Furajele crescute pe aceste soluri preiau metalele și le transferă către animale. Cabalinele expuse prezintă acumulare progresivă a metalelor, cu diferențe clare între zonele contaminate și zona martor; părul și copita sunt indicatori ai expunerii pe termen lung, iar serul și lichidul sinovial reflectă mai ales expunerea recentă. Concluzia generală este că doar abordarea integrată mediu–organism permite evaluarea corectă a riscului ecotoxicologic și confirmă rolul cabalinelor ca specii santinelă pentru biomonitorizarea zonelor miniere post-închidere.

Capitolul 9 - Originalitatea și contribuțiile inovative prezintă elementele de originalitate ale tezei și arată că lucrarea aduce o abordare integrată, care corelează apa, solul, furajele și mai multe matrici biologice la cabaline. Capitolul evidențiază utilizarea simultană a părului, copitei, serului și lichidului sinovial pentru diferențierea expunerii cronice și recente, abordare rar aplicată în România. Se arată că aplicarea spectrometriei

de masă cu plasmă cuplată inductiv și validarea analitică riguroasă reprezintă o contribuție metodologică importantă. Capitolul subliniază că teza oferă date noi pentru zone miniere post-închidere din nord-vestul României și demonstrează valoarea cabalinelor ca specii santinelă. În final, capitolul arată că rezultatele pot fi folosite pentru programe de biomonitorizare, management al riscului ecotoxicologic și reabilitare ecologică.

BIBLIOGRAFIE

1. Asano, R.; Suzuki, K.; Otsuka, T.; Otsuka, M.; Sakurai, H. Concentrations of Toxic Metals and Essential Minerals in the Mane Hair of Healthy Racing Horses and Their Relation to Age. *Journal of Veterinary Medical Science* 2002, 64, 607–610,
2. Ashraf, M.A.; Maah, M.J.; Yusoff, I. Chemical Speciation and Potential Mobility of Heavy Metals in the Soil of Former Tin Mining Catchment. *ScientificWorldJournal* 2012, 2012.
3. Bora, F.D.; Babeș, A.C.; Călugăr, A.; Jitea, M.I.; Hoble, A.; Filimon, R.V.; Bunea, A.; Nicolescu, A.; Bunea, C.I. Unravelling Heavy Metal Dynamics in Soil and Honey: A Case Study from Maramureș Region, Romania. *Foods* 2023, 12, 3577,.
4. Budnik, L.T.; Baur, X. The Assessment of Environmental and Occupational Exposure to Hazardous Substances by Biomonitoring. *Dtsch Arztebl Int* 2009, 106, 91–97.
5. Chojnacka, K.; Górecka, H.; Górecki, H. The Effect of Age, Sex, Smoking Habit and Hair Color on the Composition of Hair. *Environ Toxicol Pharmacol* 2006, 22, 52–57,.
6. Combs, D.K.; Goodrich, R.D.; Meiske, J.C. Mineral Concentrations in Hair as Indicators of Mineral Status: A Review. *J Anim Sci* 1982, 54, 391–398,
7. Doğan, E.; Fazio, F.; Aragona, F.; Nava, V.; De Caro, S.; Zumbo, A. Toxic Element (As, Cd, Pb and Hg) Biodistribution and Blood Biomarkers in Barbaresca Sheep Raised in Sicily: One Health Preliminary Study. *Environmental Science and Pollution Research* 2024, 31, 43903–43912,
8. Dunnett, M.; Lees, P. Trace Element, Toxin and Drug Elimination in Hair with Particular Reference to the Horse. *Res Vet Sci* 2003, 75, 89–101,
9. Fazio, F.; Cicero, N.; Piccione, G.; Giannetto, C.; Licata, P. Blood Response to Mercury Exposure in Athletic Horse From Messina, Italy. *J Equine Vet Sci* 2020, 84, 102837.
10. Fazio, F.; Gugliandolo, E.; Nava, V.; Piccione, G.; Giannetto, C.; Licata, P. Bioaccumulation of Mineral Elements in Different Biological Substrates of Athletic Horse from Messina, Italy. *Animals* 2020, Vol. 10, Page 1877 2020, 10, 1877.
11. Giannetto, C.; Fazio, F.; Nava, V.; Arfuso, F.; Piccione, G.; Coelho, C.; Gugliandolo, E.; Licata, P. Data on Multiple Regression Analysis between Boron, Nickel, Arsenic, Antimony, and

12. Hu, G.; Bakhtavar, E.; Hewage, K.; Mohseni, M.; Sadiq, R. Heavy Metals Risk Assessment in Drinking Water: An Integrated Probabilistic-Fuzzy Approach. J Environ Manage 2019, 250, 109514.
13. Jaishankar, M.; Tseten, T.; Anbalagan, N.; Mathew, B.B.; Beeregowda, K.N. Toxicity, Mechanism and Health Effects of Some Heavy Metals. Interdiscip Toxicol 2014, 7, 60–72
14. Järup, L. Hazards of Heavy Metal Contamination. Br Med Bull 2003, 68, 167–182,
15. Jomova, K.; Valko, M. Advances in Metal-Induced Oxidative Stress and Human Disease. Toxicology 2011, 283, 65–87.
16. Kabata-Pendias, A.; Mukherjee, A.B. Trace Elements from Soil to Human. Trace Elements from Soil to Human 2007, 1–550.
17. Kincaid, R.L. Assessment of Trace Mineral Status of Ruminants: A Review. J Anim Sci 2000, 77, 1–10, doi:10.2527/JAS2000.77E-SUPPL1X.
18. Koyama, H., Kamogashira, T., & Yamasoba, T. (2024). Heavy Metal Exposure: Molecular Pathways, Clinical Implications, and Protective Strategies. Antioxidants, 13(1), 76.
19. Lionetto, M.G.; Caricato, R.; Giordano, M.E. Pollution Biomarkers in Environmental and Human Biomonitoring. Open Biomark J 2019, 9, 1–9,.
20. Roggeman, S.; Van Den Brink, N.; Van Praet, N.; Blust, R.; Bervoets, L. Metal Exposure and Accumulation Patterns in Free-Range Cows (Bos Taurus) in a Contaminated Natural Area: Influence of Spatial and Social Behavior. Environmental Pollution 2013,
21. Tchounwou, P.B.; Yedjou, C.G.; Patlolla, A.K.; Sutton, D.J. Heavy Metal Toxicity and the Environment. EXS 2012, 101, 133–164,