

## II Krajowe Warsztaty Ekotoksykologiczne

### „Praktyczne wykorzystanie systemów bioindykacyjnych do oceny toksyczności środowiska i substancji chemicznych”

Konstantynów Łódzki, 19-20 kwietnia 2012

## Streszczenia prezentacji

### Organizatorzy



Gdański Uniwersytet Medyczny  
Zakład Toksykologii Środowiska



Europejskie Regionalne  
Centrum Ekohydrologii pod  
auspicjami UNESCO



TIGRET Sp. z o.o.

Konferencja została objęta patronatem i sponsoringiem



Patronat medialny  
**KOSMOS**  
PROBLEMY NAUK BIOLOGICZNYCH.

Spis prezentacji:

<b>1. Wykorzystanie mikroplytkowego testu Ames'a MPF<sup>TM</sup> do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza - <u>Kozłowska A.</u>, <u>Olewińska E.</u>, <u>Pawlas N.</u> – Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego, Sosnowiec .....</b>	<b>4</b>
<b>2. Ocena toksyczności w testach badania genotoksyczności - <u>Skrzypczak A.</u>, <u>Nałęcz-Jawecki G.</u> – Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa .....</b>	<b>7</b>
<b>3. Wpływ wielopokoleniowej ekspozycji na miedź, oraz wielkości populacji na parametry dyspersji. Badania nad trojszykiem gryzącym (<i>Tribolium castaneum</i>). – <u>Żmudzki S.</u> – Uniwersytet Jagielloński, Kraków .....</b>	<b>9</b>
<b>4. Siarka elementarna w glebie i osadach - <u>Cieszyńska M.</u>, <u>Kuklińska K.</u>, <u>Wolska L.</u>, <u>Namieśnik J.</u> – Politechnika Gdańska, Gdańsk .....</b>	<b>11</b>
<b>5. Zawartość chlorofili a i b jako dodatkowy punkt końcowy testu Phytotoxkit, na przykładzie oceny ekotoksykologicznej wybranych proszkowych odkaźników wojskowych - <u>Chrzanowska E.</u>, <u>Kalinowski R.</u>, <u>Brytan M.</u> – Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, Warszawa .....</b>	<b>12</b>
<b>6. Efekt współdziaływania LZO na bakterie <i>Vibrio fischeri</i> - <u>Wilma K.</u>, <u>Czernych R.</u>, <u>Cieszyńska M.</u>, <u>Wolska L.</u> – Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdynia .....</b>	<b>14</b>
<b>7. Badania ekotoksykologiczne w zakresie stresu łączonego - wady i zalety metody PHYTOTOKKIT - <u>Suszek B.</u>, <u>Klimkowicz-Pawlas A.</u>, <u>Maliszewska-Kordybach B.</u>, <u>Smreczak B.</u> – Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy ..</b>	<b>16</b>
<b>8. Skażenia miast metalami (Cu, Cd, Zn) i ich toksyczność określona metodą fizykochemiczną i biologiczną. - <u>Piontek M.</u>, <u>Walczak B.</u>, <u>Czyżewska W.</u> – Uniwersytet Zielonogórski, Zielona Góra .....</b>	<b>19</b>
<b>9. Zastosowanie biotestów do identyfikacji i kwantyfikacji zagrożeń w ekosystemach wodnych - <u>Mankiewicz-Boczek J.</u> – Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii PAN, Łódź .....</b>	<b>21</b>
<b>10. Wpływ nanocząstek nieorganicznych (nZnO i nTiO<sub>2</sub>) na fitotoksyczność osadów ściekowych - <u>Oleszczuk P.</u>, <u>Joško I.</u>, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin .....</b>	<b>23</b>
<b>11. Pierwotniaki w badaniach ekotoksykologicznych - <u>Nałęcz-Jawecki G.</u> – Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa .....</b>	<b>25</b>
<b>12. Wykorzystanie biotestów jako narzędzia wspierające zarządzanie procesem oczyszczania ścieków - <u>Drobniewska A.</u>, <u>Nałęcz-Jawecki G.</u> – Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa .....</b>	<b>27</b>
<b>13. Monitoring potencjału toksycznego odcieków składowiskowych współczyszczanych ze ściekami miejskimi - <u>Kalka J.</u> – Politechnika Śląska, Gliwice .....</b>	<b>29</b>
<b>14. Przeglądowe i nowe zastosowania metod bioindykacyjnych – <u>Piętowski G.</u> – TIGRET Sp. z o. o., Warszawa .....</b>	<b>31</b>
<b>15. Bioindykacja a państwowy monitoring środowiska - <u>Wójcik K.</u>, <u>Szczepańska J.</u> – Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Łodzi, Łódź .....</b>	<b>32</b>
<b>16. Wpływ składowiska odpadów komunalnych na jakość wód powierzchniowych - <u>Kuklińska K.</u>, <u>Oleszczak A.</u>, <u>Wolska L.</u> - Politechnika Gdańska, Gdańsk .....</b>	<b>33</b>
<b>17. Implikacja biotestów do systemów wspomaganiania zarządzaniem i ochroną zbiornikami zaporowymi na przykładzie projektu ZiZoZap - <u>Francikowski J.</u>, <u>Guzik J.</u>, <u>Nikiel A.</u>, <u>Kłosok M.</u>, <u>Michalczyk K.</u>, <u>Augustyniak M.</u>, <u>Łaszczycza P.</u>, <u>Migula P.</u> – Uniwersytet Śląski, Katowice .....</b>	<b>34</b>

<b>18. Wykorzystanie biotestów w kompleksowej ocenie toksyczności osadów dennych zbiornika Rybnik - <u>Baran A.</u>, Tarnawski M., Jasiewicz Cz. – Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Kraków</b> .....	36
<b>19. Testy ekotoksykologiczne wykorzystywane do oceny zagrożenia jakości gleb zanieczyszczonych związkami chemicznymi - <u>Klimkiewicz-Pawlas A.</u>, Smreczak B., Maliszewska-Kordybach B., Suszek B. – Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy.</b> .....	37
<b>20. Zastosowanie ekotoksykologicznych dawek szkodliwych w oprogramowaniu SADA do oceny ryzyka ekologicznego dla miejsca badawczego w Jaworznie - <u>Bubak A.</u>, Gzyl J., Płaza G. – Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych, Katowice</b> .....	40
<b>21. Możliwości stosowania biotestów do oceny toksyczności cyjanotoksyn - <u>Sierosławska A.</u> – Katolicki Uniwersytet Lubelski, Lublin</b> .....	42
<b>22. Zastosowanie systemu Microtox w bioindykacji próbek środowiskowych - <u>Trusz-Zdybek A.</u>, Szymczycha-Madeja A., Piekarska K., Traczewska T. M. - Politechnika Wrocławska, Wrocław</b> .....	44
<b>23. System Microtox w ocenie toksyczności morskiej strefy przybrzeżnej - Jankowska D., Skauradzun M., <u>Maciak J.</u>, Niemirycz E. – Uniwersytet Gdański, Gdynia</b> .....	46

## Wykorzystanie mikroplótkowego testu Ames'a MPF™ 98/100 do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza

AGNIESZKA KOZŁOWSKA<sup>1)</sup>, ELŻBIETA OLEWIŃSKA<sup>1)</sup>, NATALIA PAWLAS<sup>1)</sup>,

<sup>1)</sup>Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego  
Zakład Szkodliwości Chemicznych i Toksykologii Genetycznej  
Pracownia Toksykologii Genetycznej  
ul. Kościelna 13, 14-200 Sosnowiec, Polska  
[a.kozłowska@imp.sosnowiec.pl](mailto:a.kozłowska@imp.sosnowiec.pl)

*Słowa kluczowe: test Ames'a, pyłowe zanieczyszczenia powietrza, mutagenność*

Powietrze atmosferyczne, jako podstawowy komponent środowiska zanieczyszczone jest występującymi w fazie stałej cząstkami stanowiącymi mieszaninę węgla elementarnego oraz nieorganicznych tlenków i soli na powierzchni których absorbują się związki o działaniu mutagennym. Koncentracja, skład chemiczny, ilość i rodzaj zanieczyszczeń uzależniony jest od szeregu czynników o charakterze lokalnym i globalnym. Wiele z nich charakteryzuje się toksycznością genetyczną powodującą różnego rodzaju uszkodzenia materiału genetycznego komórki w postaci mutacji genowych i chromosomowych. Ważną rolę odgrywają badania biologiczne *in vitro* z wykorzystaniem hodowli komórek, bakterii lub innych organizmów doświadczalnych. Obserwuje się wtedy zmiany w materiale genetycznym ekspozowanych komórek, które są podstawą do prognozowania mutagennego działania próby na komórki ludzkie. Można stwierdzić również wyraźną zależność między zdolnością do wywoływania mutacji a potencjałem rakotwórczym danego czynnika.

Celem badań było określenie wykrywalności potencjału mutagennego pyłowych zanieczyszczeń powietrza przy zastosowaniu mikroplótkowego testu Ames'a MPF™. Zakres badań obejmował wykonanie ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza oraz określenie efektu mutagennego poszczególnych ekstraktów pyłów w sezonie jesiennym w wybranych miastach województwa śląskiego z wykorzystaniem zmodyfikowanych szczepów testowych *Salmonella typhimurium* TA98 i TA100 w wersji mikroplótkowej testu Ames'a MPF™.

Punkty pomiarowe zlokalizowano na zanieczyszczonym obszarze Górnego Śląska w sześciu miastach. Próby pobierano przy użyciu aspiratora o przepływie powietrza wynoszącym ok. 1m<sup>3</sup>/min. na filtry z włókna szklanego w sezonie jesiennym. Ekstrakcję pyłów przeprowadzono przy użyciu chlorku metylenu w aparacie Soxhleta. Po wstępnym zagęszczeniu ekstraktu w wyparce próżniowej rozpuszczalnik odparowano w atmosferze azotu, a następnie suche ekstrakty rozpuszczono w dimetylosulfotlenku (DMSO) oraz

przygotowano odpowiednie dawki i stężenia testowanego materiału badawczego. Na podstawie badań wstępnych oraz własnych doświadczeń zastosowano szereg dawek ekstraktu pyłowych zanieczyszczeń powietrza (0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0m<sup>3</sup>) w trzech powtórzeniach. Efekt mutagenny ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza, reprezentujących poszczególne miejscowości woj. śląskiego badano przy pomocy szczepu *Salmonella typhimurium* TA98 i TA100 przy zastosowaniu mikroplótkowego formatu testu Ames<sup>TM</sup> zgodnie z wytycznymi OECD oraz zaleceniami firmy Xenometrix.

Analizując pełen zakres stosowanych dawek (0,0625m<sup>3</sup> – 2,0) ekstraktów pyłów w mikroplótkowym teście Ames zaobserwowano zależność liniową dawka - odpowiedź dla szczepu TA98 w obu wariantach aktywacji metabolicznej ( $\pm$ S9) dla dawek od 0,0625m<sup>3</sup> do 1m<sup>3</sup>. W przypadku szczepu TA100 w wariacie bez aktywacji metabolicznej ( $-$ S9) wystąpiła odwrotnie proporcjonalna zależność dawka – odpowiedź. W dwóch najniższych dawkach (0,0625 i 0,125m<sup>3</sup>) zaobserwowano aktywność mutageną AM>2. Natomiast pozostały zakres dawek wskazuje na bardzo słaby efekt mutagenny badanych ekstraktów, gdyż mieszczą się one w zakresie  $1 \leq AM < 2$  lub całkowity brak efektu mutagennego AM<1. Natomiast w wariacie +S9 dla tego samego szczepu wystąpiła zależność liniowa dawka - odpowiedź dla zakresu dawek od 0,0625m<sup>3</sup> do 1m<sup>3</sup>. Większa dawka (2m<sup>3</sup>) ekstraktu pyłów stosowana w teście mikroplótkowym powoduje właściwości cytotoksyczne lub toksyczne dla bakterii *Salmonella typhimurium* TA98 i TA100.

Wartości aktywności mutagennej (AM) przedstawione dla 1m<sup>3</sup> powietrza w przypadku szczepu TA98 w wariacie bez aktywacji metabolicznej ( $-$ S9) wahały się w granicach AM=3,83 $\pm$ 0,58 do AM=10,45 $\pm$ 1,20. Po zastosowaniu egzogennej aktywacji (+S9) zaobserwowano wartości aktywności mutagennej od AM=8,39 $\pm$ 0,73 do AM=19,7 $\pm$ 0,45. W obu wariantach 100% badanych prób wykazało AM>2, co wskazuje na silnie właściwości mutagenne ekstraktów pyłów.

Natomiast w ekstraktach ( $-$ S9) badanych przy zastosowaniu szczepu TA100 w teście mikroplótkowym dla 1m<sup>3</sup> badanego ekstraktu próby wykazały się brakiem aktywności mutagennej AM<1 i występowały w przedziale od AM=0,34 $\pm$ 0,29 do AM=0,86 $\pm$ 0,49. Szczep TA100 okazał się mało efektywny w wykrywaniu substancji mutagennych o działaniu bezpośrednim. Przeprowadzenie testu w obecności enzymów mikrosomalnych pochodzących z homogenatu wątroby ssaka (+S9) wykazało odpowiedź ze strony szczepu TA100 w postaci aktywności mutagennej w granicach od AM= 1,16 $\pm$ 0,15 do AM= 9,67 $\pm$ 1,02.

W badanym materiale zaobserwowano przewagę mutagenów działających pośrednio (wymagających aktywacji metabolicznej) zarówno w przypadku szczepu TA98 i TA100.

Mikroplótkowy test Ames MPF jest szybką i kompleksową metodą do określenia właściwości mutagennych, rakotwórczych i cytotoksycznych mających szkodliwy wpływ na organizmy żywe wynikających z zanieczyszczenia powietrza. Zastosowanie testu Ames w formie mikroplótkowym wraz z badaniami chemicznymi zanieczyszczenia powietrza może przyczynić się do określenia wartości lub poziomu wskaźników narażenia środowiskowego, umożliwi rzeczywistą ocenę narażenia populacji na czynniki mutagenne, toksyczne i cytotoksyczne, a także pozwoli na dokładniejsze szacowanie ryzyka zdrowotnego.

## Ocena toksyczności w krótkoterminowych testach genotoksyczności

SKRZYPCZAK A., NAŁĘCZ-JAWECKI G., SAWICKI J.

Zakład Badania Środowiska, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny,  
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa  
[agata.skrzypczak@wum.edu.pl](mailto:agata.skrzypczak@wum.edu.pl)

*genotoksyczność, test Ames, umu-test, SOS-Chromotest.*

W krótkoterminowych, bakteryjnych testach do oceny genotoksyczności próbek środowiskowych lub roztworów czystych związków chemicznych istotnym, choć niekiedy pomijanym, elementem jest ocena toksycznego działania badanych próbek na organizm testowy. Z jednej strony ocena ta stanowi podstawę do sporządzania całościowego profilu aktywności badanej substancji (próbki) wobec poziomu troficznych reducentów. Z drugiej strony jest elementem niezbędnym do uzyskania miarodajnych wyników dotyczących genotoksyczności czyli zasadniczej części testu. Próbką cytotoksyczna czyli hamująca wzrost bakterii testowych, jest zawsze klasyfikowana jako niegenotoksyczna (niemutagenna), niezależnie od jej wpływu na genom bakterii. Brak oceny cytotoksyczności może zatem generować powstawanie wyników fałszywie ujemnych.

W *umu*-teście, którego procedura została wystandardyzowana przez Międzynarodową Organizację Normalizacyjną ISO (norma ISO 13829) wzrost bakterii testowych – szczepu *Salmonella typhimurium* TA1535 wyraża się współczynnikiem wzrostu G. Jest to stosunek gęstości optycznej zawiesiny bakterii (OD600) w próbce badanej do kontroli negatywnej, mierzony przy długości fali 600 nm, po dwugodzinnej ekspozycji szczepu testowego na tę próbkę. Norma ISO zakłada, że jeżeli próbka badana jest zbyt toksyczna i powoduje zahamowanie wzrostu bakterii testowych o 50% lub więcej ( $G \leq 0,5$ ) to ocena jej właściwości genotoksycznych w tym teście nie jest możliwa. Jednak każde zahamowanie wzrostu bakterii manifestujące się wartością współczynnika wzrostu poniżej jednego jest przejawem toksycznego działania badanej próbki. Zaproponowano wprowadzenie terminu minimalnego stężenia toksycznego (MTC – **Minimal Toxic Concentration**), które jest takim stężeniem, przy którym następuje obniżenie intensywności wzrostu szczepu testowego o ponad 20% (tzn.  $G \leq 0,8$ ). Przyjmując takie założenie związki (próbki), dla których współczynnik G mieści się w zakresie 0,81 – 1,00 uznaje się za nietoksyczne. Możliwa jest również sytuacja, w której związek badany (próbka) działa stymulująco na wzrost organizmu testowego lub ochrania go

przed szkodliwymi warunkami ekspozycji. W takiej sytuacji współczynnik wzrostu przyjmie wartości powyżej jednego.

W teście SOS-Chromotest toksyczne działanie próbki badanej sprawdza się wyznaczając dwa parametry – gęstość optyczną zawiesiny bakterii (OD600) oraz poziom aktywności enzymu alkalicznej fosfatazy, konstytutywnie wytwarzanego przez szczep testowy *Escherichia coli* PQ47. W sytuacji gdy toksycznie działający związek obniża całościową syntezę białek, aktywność tego enzymu również zostanie obniżona. Wyznaczone parametry porównuje się z ich wartościami dla kontroli negatywnej. Nie istnieje oficjalna skala, według której klasyfikuje się badane próbki na toksyczne i nietoksyczne dla organizmu testowego.

Oryginalna procedura testu Amesa (OECD 471) całkowicie pomija aspekt ewentualnego toksycznego działania badanych próbek na bakterie. W teście Amesa wykorzystuje się kilka szczepów bakterii wykrywających różne rodzaje mutacji – *Salmonella typhimurium*: TA98, TA100, TA1535, TA1537, a także szczepy *Escherichia coli*: WP2 uvrA i WP2 [pKM101]. W Zakładzie Badania Środowiska WUM wykonywana jest mikroplótkowa wersja tego testu opracowana przez szwajcarską firmę Xenometrix. Do procedury tej wersji testu wprowadzono dodatkowy element umożliwiający ocenę wpływu próbki badanej na wzrost organizmu testowego. Po 90-minutowej ekspozycji odpowiedniego szczepu testowego na badane próbki do mieszaniny inkubacyjnej dodaje się świeżą pożywkę wzrostową i kontynuuje się inkubację mikroplótki przez kolejne 3 godziny. Po upływie tego czasu odczytuje się gęstość optyczną zawiesiny bakterii przy długości fali 650 nm i porównuje się odczyty wykonane dla poszczególnych próbek badanych z odczytami wykonanymi dla kontroli negatywnej. Na zasadzie analogii do założeń w *umu*-teście, przyjęto akceptowalny poziom zahamowania wzrostu bakterii o nie więcej niż 50% w porównaniu do kontroli negatywnej.



## **„Wpływ wielopokoleniowej ekspozycji na miedź, oraz wielkości populacji na parametry dyspersji. Badania nad trojszykiem gryzącym (*Tribolium castaneum*)”**

ŻMUDZKI S. W. M.

Uniwersytet Jagielloński, Instytut Nauk o Środowisku ul. Gronostajowa 7 30-384 Kraków  
[Sebastian.zmudzki@uj.edu.pl](mailto:Sebastian.zmudzki@uj.edu.pl)

*Słowa kluczowe: miedź, adaptacja, wielopokoleniowa ekspozycja, dyspersja*

Antropogeniczna fragmentacja środowiska z jednoczesną fragmentacją zasiedlających je populacji powodująca utratę naturalnych siedlisk jest poważnym zagrożeniem dla wszystkich poziomów bioróżnorodności i przetrwania gatunków. W wielu przypadkach przedstawiciele zredukowanych populacji zasiedlających sztucznie rozdzielone fragmenty środowiska mają ograniczone możliwości dyspersji i migracji. Zjawiskom tym towarzyszy zmniejszony przepływ genów i podniesiony poziom rozmnażania wsobnego, co bardzo często przynosi negatywne skutki, takie jak redukcja zróżnicowania genetycznego, obniżenie zdolności reprodukcji i żywotności organizmów, podnoszące prawdopodobieństwo ekstynkcji izolowanych populacji.

W regionach zamieszkałych przez człowieka, w których prowadzona jest intensywna gospodarka rolnicza, przemysłowa lub osadnictwo, równoległe z fizycznymi zaburzeniami (fragmentacją) pojawiają się substancje obce wprowadzane do środowiska i będące zanieczyszczeniami. Mają one niekorzystny wpływ na poszczególne organizmy, populacje, ekosystemy. Taka koincydencja zjawisk jest szczególnie interesująca i ważna dla badań ekotoksykologicznych i ochrony przyrody. Substancje toksyczne zmniejszają wielkość populacji poprzez obniżenie poziomu reprodukcji i zwiększoną śmiertelność, co wzmaga depresję wsobną. Wielkość populacji jest istotnym czynnikiem wpływającym na procesy adaptacyjne. Populacje mniejsze mogą się szybciej adaptować do niekorzystnych warunków środowiska (antropopresji). W ich przypadku mechanizmy oczyszczania puli genowej ze szkodliwych alleli są wydajniejsze, przypuszczalnie jednak poziom dostosowania osiągnany w tych populacjach jest niższy w porównaniu z wolniej adaptującymi się populacjami dużymi, niepodlegającymi depresji wsobnej.

Celem prezentowanego eksperymentu było określenie wpływu wielkości populacji i wielopokoleniowej (9 pokoleń) ekspozycji na wysoki poziom zanieczyszczenia metalem (Cu)

na parametry populacji i dyspersyjność badanego gatunku (*Tribolium castaneum*) będącego szeroko wykorzystywanym organizmem modelowym. Doświadczenie oparto na liniach selekcyjnych inbredowych (20 osobników) i outbredowych (1000 osobników) utrzymywanych od dziesięciu pokoleń w środowisku czystym (poziom Cu właściwy dla nieskażonej pożywki) i w środowisku zanieczyszczonym metalem (Cu – 1000mg/kg). Dla odseparowania potencjalnych efektów (trwała zmiana genetyczna – możliwe, że o charakterze adaptacyjnym, efekt matczyny, bezpośredni efekt czynnika) mogących ujawnić się w wyniku wielopokoleniowej ekspozycji wykorzystano sekwencyjny układ polegający na manipulacji stężeniami metalu w pożywce na przestrzeni dwóch generacji.

Wyniki badań nie wykazały wpływu badanych czynników na odchylenie proporcji płci od 1:1, ani na proporcję samic w populacji, co mogło mieć wpływ na uśrednioną dyspersyjność populacji, która często zależy od płci zwierząt. Doświadczenie dotyczące dyspersji wykazało silny bezpośredni wpływ czynnika (skażenie Cu) na jej zwiększenie ( $p=0.0000$ ). Potencjalna zmiana genetyczna (wykrywalna dzięki zastosowanemu układowi eksperymentalnemu) wpłynęła na obniżenie poziomu badanej cechy. Co zaskakujące, w obecności efektu matczynego, jej wartość rosła do poziomu obserwowanego w populacjach pozbawionych zmiany genetycznej, również dotkniętych efektem matczynym ( $p=0.0236$ ). Badania wykazały zwiększoną dyspersyjność samic w warunkach środowiska czystego. Bezpośredni efekt skażenia Cu zmieniał ten trend – samce były bardziej skłonne do migracji ( $p=0.0000$ ). Również dziedziczne zmiany genetyczne miały wpływ na badany parametr. W przypadku obu płci obniżały poziom dyspersyjności (samce:  $p=0.009$ , samice  $p=0.0279$ ). Równoczesne wystąpienie bezpośredniego czynnika (skażenie Cu) zmieniał ten trend – dyspersyjność zbliżała się do poziomu w populacjach nie obciążonych genetycznymi zmianami. Badania nie wykazały wpływu wielkości populacji na badane zjawisko.

Wyniki badań laboratoryjnych wskazują na negatywny wpływ wielopokoleniowej ekspozycji na niekorzystny czynnik (zanieczyszczenie Cu) na behavior bezkręgowców związany z dyspersją i migracjami. W warunkach naturalnych może to prowadzić do zmiany struktury populacji, zmniejszenia przepływu genów, pogłębienia depresji wsobnej, a w rezultacie do jej ekstynkcji.

## Siarka elementarna w glebie i osadach

M. CIESZYŃSKA<sup>1\*</sup>, K. KUKLIŃSKA<sup>2</sup>, L. WOLSKA<sup>1,2</sup>, J. NAMIEŚNIK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Powstania Styczniowego 9b, 81-519 Gdynia

<sup>2</sup>Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk

\*[Cieszynskam@gumed.edu.pl](mailto:Cieszynskam@gumed.edu.pl)

Siarka stanowi podstawowy składnik odżywczy konieczny do prawidłowego funkcjonowania komórki. Jest ona niezbędna do syntezy aminokwasów (metionina, cysteina, cystyna, tauryna, homocysteina), białek (ferrodoksyny, nitrogeneza, keratyna), chlorofilu, witamin (B1, biotyna), stanowi materiał zapasowy odkładany w komórkach mikroorganizmów. Jednak wraz ze zmianą stopnia utlenienia w związkach siarka może również wykazywać właściwości silnie toksyczne. Siarka występująca w przyrodzie w formie pierwiastkowej S<sup>0</sup>, tworząca rombowe ośmiocłonowe cyklokryształy S<sub>8</sub> to siarka elementarna.

Przemiany różnych form siarki prowadzące do powstania siarki elementarnej zachodzą przede wszystkim w osadach. Zawartość siarki elementarnej w osadach zależy od aktywności mikroorganizmów, zawartości materii organicznej oraz warunków tlenowych i redox. Siarka elementarna, jako niezwykle trudno rozpuszczalna w wodzie, uznawana jest za formę siarki o niskiej toksyczności i małej biodostępności w środowisku, niezdolną do bioakumulacji w organizmach żywych. W związku z tym w literaturze mało jest potwierdzonych i pewnych informacji dotyczących toksyczności i biodostępności siarki elementarnej. W prezentacji omówione zostaną czynniki wpływające na toksyczność siarki elementarnej, poruszony zostanie temat toksyczności wobec grzybów, drożdży, bakterii i innych organizmów wodnych oraz możliwe implikacje dla klasyfikacji toksyczności osadów.

## Zawartość chlorofili a i b jako dodatkowy punkt końcowy testu Phytotoxkit

E. CHRZANOWSKA, R.KALINOWSKI, M. BRYTAN

Zakład Farmakologii i Toksykologii, Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii im. gen.  
Karola Kaczkowskiego, ul. Kozielska 4, 01-163 Warszawa  
[e.chrzanowska86@gmail.com](mailto:e.chrzanowska86@gmail.com)

*Słowa kluczowe: wojskowe odkażalniki proszkowe, phytotoxkit, chlorofil*

### Streszczenie

Obecnie stosowane proszkowe odkażalniki wojskowe oparte są na bazie silnych substancji utleniających, które mogą dostać się do środowiska naturalnego w sposób zamierzony - w trakcie stosowania zgodnie z przeznaczeniem, bądź przypadkowy. W pracy dokonano oceny ekotoksyczności wybranych proszkowych odkażalników, o potencjalnym zastosowaniu do celów wojskowych, w stosunku do glebowych roślin wyższych *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum* i *Sinapis alba* za pomocą testu Phytotoxkit. Dodatkowy punkt końcowy testu stanowiła ocena zawartości chlorofili a i b.

Uzyskane wyniki wskazują na zróżnicowaną toksyczność badanych odkażalników proszkowych w stosunku do roślin wyższych. Najwyższe przebadane stężenia odkażalników nie ograniczały istotnie kiełkowania roślin testowych. W większości przypadków najwyższą toksyczność wykazała chloramina T (Odkażalnik II), najniższą natomiast triklosan (Odkażalnik III). W przypadku stężeń inhibicyjnych w stosunku do chlorofili a i b, najmniej toksyczny okazał się Odkażalnik II dla *S. alba*. Najwyższą toksyczność wykazał Odkażalnik IV w stosunku do chlorofili a i b dla *S. alba* oraz chlorofilu a dla *L. sativum*. Wartość stosunku zawartości chlorofili a i b, różniła się w zależności od gatunku roślin oraz stężenia badanej substancji. Najwyższą wartość dla tego parametru uzyskano dla chloraminy T w stężeniu 300 mg/kg sm. Znacznie obniżony wskaźnik chla/chlb zaobserwowano u *S. alba*, w przypadku najniższego stosowanego stężenia chloraminy T. Największą zmienność wartości stosunku chla/chlb zaobserwowano u *L. sativum*.

*Keywords: military skin decontaminants, phytotoxkit, chlorophyll*

### Summary

Currently used military skin decontaminants are based on strong oxidizing agents and may enter the environment as intended - in normal usage or during the accident. The article presents the evaluation of the ecotoxicity of selected decontaminants with potential use for

military purposes on three terrestrial plants *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum* and *Sinapis alba* with PHYTOTOKKIT test. The additional endpoint tested in the microbiotest was the content of chlorophylls a and b.

The results indicate the differential toxicity of decontaminants on terrestrial plants. The highest concentration of tested decontaminants did not significantly limit plants germination. In most cases, chloramine T (decontaminant II) showed the highest toxicity, triclosan (decontaminant III) proved to be the least toxic. In the case of inhibitory concentrations for chlorophylls a and b, decontaminant II was the least toxic for *S. alba*. The decontaminant IV showed the highest toxicity in relation to chlorophyll a and b for *S. alba* and chlorophyll a for *L. sativum*. The chl<sub>a</sub>/chl<sub>b</sub> ratio differed depending on plants species and decontaminants concentration. The highest value for chl<sub>a</sub>/chl<sub>b</sub> ratio was for chloramine T at concentration of 300 mg/kg dw. Significantly reduced chl<sub>a</sub>/chl<sub>b</sub> ratio observed to *S. alba* in the lowest concentration of chloramine T. The greatest variability of chl<sub>a</sub>/chl<sub>b</sub> values was observed in *L. sativum*.

## **Efekt współoddziaływania LZO na bakterie *Vibrio fischeri***

**K. WILMA<sup>1\*</sup>, R. CZERNYCH<sup>1</sup>, M. CIESZYŃSKA<sup>1</sup>, L. WOLSKA<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Powstania Styczniowego 9b, 81-519 Gdynia

<sup>2</sup>Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk  
[kasiaso@gumed.edu.pl](mailto:kasiaso@gumed.edu.pl)

Występowanie zanieczyszczeń w powietrzu wewnątrz jest istotne z uwagi na zdrowie ludzkie. Człowiek spędza znaczną część swojego życia oddychając powietrzem zawierającym zmienne ilości (50-200) pojedynczych substancji szkodliwych oraz ich mieszanin. W skład mieszaniny powietrza wewnątrz wchodzi lotne związki organiczne (LZO) o szerokim zakresie stężeń oraz wykazujące różnorodną toksyczności, które mogą ze sobą współoddziaływać. W przypadku, gdy toksyczność mieszaniny związków jest zbliżona do sumy toksyczności jej składników obserwuje się zjawisko addytywności, natomiast w sytuacji, kiedy toksyczność mieszaniny jest mniejsza od toksyczności pojedynczych substancji przyjmuje ona charakter antagonistyczny. Bardzo niebezpieczny efekt współoddziaływania obserwuje się w przypadku synergizmu, który uwzględnia jednoczesne działanie dwóch lub więcej substancji, mogące być silniejsze niż suma skutków oddziaływania każdej z nich osobno.

Ponadto istnieje problem niedostatku badań naukowych dotyczących toksyczności LZO oraz brak oceny toksykologicznej ich mieszanin. Do badań została wybrana grupa lotnych związków (podejrzewanych o infekcje dróg oddechowych) według częstości występowania w pomieszczeniach wewnątrz.

Celem pracy było wyznaczenie parametru toksyczności dla pojedynczych związków ( $EC_{50}$ ) oraz ich mieszanin ( $EC_{50mix.}$ ) za pomocą testu Microtox® wobec bakterii *Vibrio fischeri*, a także uzyskanie informacji na temat rodzaju ich współoddziaływania.

Wyniki pokazały możliwość wprowadzenia prostych modeli matematycznych do przewidywania toksyczności pojedynczych substancji i mieszanin. Przeprowadzone badania potwierdziły także niezawodność testu Microtox® w ocenie toksyczności wybranych substancji, które wykazały zróżnicowany charakter interakcji oraz dały informację na temat konkretnych interakcji pomiędzy każdym z przebadanych LZO na wybranym poziomie stężeń. W pracy metoda eksperymentalna dotycząca oceny toksyczności mieszanin została porównana z modelami matematycznymi.

Należy podkreślić, że w dziedzinie toksykologii eksperymentalnej rozróżnienie każdego typu interakcji nie jest proste. Dlatego badania nad toksycznością mieszanin powinny być przedmiotem intensywnych, dalszych badań, które przyczynią się ostatecznie do poprawy oceny zagrożeń w aspekcie ludzkiego zdrowia.

## **Badania ekotoksykologiczne w zakresie stresu łączonego – wady i zalety metody PHYTOTOXKIT™**

**B. SUSZEK, A. KLIMKOWICZ-PAWLAS, B. MALISZEWSKA-KORDYBACH**

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy w Puławach,  
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy  
[bsuszek@iung.pulawy.pl](mailto:bsuszek@iung.pulawy.pl)

*Słowa kluczowe: stres łączony, PHYTOTOXKIT™*

Klasyczne analizy chemiczne nie dają dostatecznej informacji na temat potencjalnego zagrożenia jakie stanowią dla organizmów zanieczyszczone matryce środowiskowe (np. woda, osady, gleby), niezbędne ich uzupełnienie stanowią biologiczne testy toksyczności oparte na reakcji organizmów wskaźnikowych (bioindykatorach) [OLESZCZUK, 2008]. Wśród tych organizmów istotną grupę stanowią rośliny m.in. ze względu na ich ekologiczne znaczenie oraz czułość na zanieczyszczenia [CZERNIAWSKA-KUSZA i in., 2006]. Fitotesty standardowe są często pracochłonne i czasochłonne [VLIET i in., 2012]. Ze względu na konieczność analizowania dużej liczby próbek środowiskowych, coraz większą popularnością cieszą się szybkie, zminiaturyzowane testy toksyczności, tzw. mikrobiotesty, których przykładem jest Phytotoxkit [WOLSKA i in., 2007]. Podobnie jak większość testów ekotoksyczności wykonywany jest on w stałych warunkach temperatury i wilgotności. Umożliwia to łatwiejsze wyodrębnienie efektu badanego zanieczyszczenia [HOLMSTRUP i in., 2010]. W środowisku naturalnym organizmy zwykle narażone są na jednoczesne działanie mieszaniny zanieczyszczeń i różnych od optymalnych warunków klimatycznych [HOLMSTRUP i in., 2010]. Nieuwzględnienie ich łącznego działania może prowadzić do niedoszacowania lub przeszacowania otrzymanych w laboratorium wyników testów ekotoksyczności w stosunku do rzeczywistego, obecnego w środowisku naturalnym ryzyka [HOLMSTRUP i in., 2010]. W pracy tej podjęto próbę przeanalizowania na podstawie dostępnej literatury wad i zalet wynikających z uproszczenia testu Phytotoxkit w stosunku do metod standardowych oraz zbadano łączny wpływ dwóch czynników środowiskowych: temperatury i wilgotności niezanieczyszczonej gleby na kiełkowanie pszenicy zwyczajnej przy użyciu testu Phytotoxkit w celu wstępnej oceny możliwości zastosowanie tego testu w badaniach dotyczących łącznego stresu tych czynników w glebach zanieczyszczonych.

Test Phytotoxkit składa się z dwóch przezroczystych płytek testowych, pomiędzy którymi umieszcza się nawilżoną do 100 % PPW (pełnej pojemności wodnej) glebę, a nasiona



układa się na jej powierzchni, na papierowym sączku. Rośliny kiełkują w ciemności, w temperaturze 25 °C. Po 3 dniach wykonywana jest cyfrowa rejestracja obrazu, na podstawie którego określone są ilość skielkowanych nasion i długość korzeni przy pomocy specjalnego oprogramowania. Gatunkami zalecanymi dla testu są jednoliścienne sorgo (*Sorghum saccharatum*) oraz dwuliścienne rzeżucha (*Lepidium sativum*) i gorczyca (*Sinapis alba*). Testy kontrolne wykonuje się stosując tzw. „glebę OECD” czyli sztucznie przygotowany materiał glebowy o bardzo wysokiej zawartości substancji organicznej. Uzyskanym efektem toksyczności wg procedury testu Phytotoxkit jest zahamowanie kiełkowania i wzrostu korzeni roślin w badanej glebie w stosunku do gleby kontrolnej OECD. Podstawowymi zaletami testu Phytotoxkit w porównaniu do konwencjonalnych metod służących do określania fitotoksyczności jest zminimalizowanie czasu i kosztów wykonania testów, dzięki zastosowaniu unikatowego układu testowego [VLIET i in., 2012]. Bardzo wygodnym rozwiązaniem jest możliwość cyfrowej rejestracji obrazu, co umożliwia odsunięcie w czasie wykonania pomiarów oraz pozwala na wielokrotną rejestrację obrazu w różnych okresach trwania testu [VLIET i in., 2012]. Dzięki licznym zaletom, wykorzystanie testu Phytotoxkit stale wzrasta, jest on stosowany do różnych matryc (m.in. gleby, osady ściekowe) w badaniach dotyczących określenia toksyczności w miejscach zanieczyszczonych *in situ* oraz w ocenie skuteczności działań remediacyjnych, w niektórych badaniach stanowi część baterii testów [VLIET i in., 2012]. Pomimo wielu zalet, niektóre cechy testu Phytotoxkit nie są konkurencyjne w stosunku do metod konwencjonalnych. Charakteryzuje się on często niższą czułością [BLOK i in., 2009; PERSOONE I WADHIA, 2010], konstrukcja testu ogranicza możliwości wprowadzania niekiedy koniecznych modyfikacji, np. mała przestrzeń dla wzrostu roślin ogranicza czas trwania testu, ograniczona jest również możliwość doboru gatunków do testu, (np. gatunków specyficznych dla badanego regionu lub różnych stref klimatycznych) [VLIET i in., 2012]. W przypadku stosowania tzw. „gleby OECD” jako kontroli ocena może być utrudniona ze względu na różnice w właściwościach fizykochemicznych w stosunku do badanych próbek glebowych, które wpływają na biodostępność i fitotoksyczność obecnych w niej zanieczyszczeń [OLESZCZUK i HOLLERT, 2011]. Pomimo pewnych wad, wiele prac wskazuje na możliwość skutecznego stosowania testu Phytotoxkit do oceny toksyczności substancji chemicznych w stałych, ściśle określonych warunkach temperatury i wilgotności [CZERNIAWSKA-KUSZA i in., 2006]. Nie ma natomiast dostatecznych danych literaturowych pozwalających na ocenę możliwości zastosowania tego testu do badań nad łączonym stresem zanieczyszczeń i naturalnych warunków środowiskowych tj. temperatura i wilgotność.

Badania przeprowadzone w tej pracy miały na celu próbę wykorzystania testu Phytotoxkit w zróżnicowanych warunkach temperatury (10, 23 i 35 °C) i wilgotności gleby (55, 80 i 100 % PPW). Rośliną zastosowaną w teście była pszenica zwyczajna (*Triticum aestivum* L.). Warunki testu, materiał glebowy oraz gatunek rośliny zostały dobrane na podstawie wcześniejszych badań (wyniki nieopublikowane) wykonanych wg metody ISO 112692-2 (z modyfikacjami), które wskazały na zmianę toksyczności gleby zanieczyszczonej fenantrenem (modelowy związek z grupy WWA) względem pszenicy zwyczajnej w zależności od warunków temperatury i wilgotności gleby. Otrzymane wyniki wskazują, że prowadzenie testu w niekorzystnych (odmiennych niż zalecane) warunkach temperatury i wilgotności znacznie lub całkowicie hamuje kiełkowanie badanych nasion. Wskazuje to na bardzo ograniczone możliwości stosowania testu Phytotoxkit w warunkach innych niż zalecane. Jednoznaczne określenie przydatności testu Phytotoxkit w badaniach prowadzonych w zróżnicowanych warunkach temperaturowo-wilgotnościowych wymaga dalszych prac nad ewentualnymi modyfikacjami testu.

#### LITERATURA:

- BLOK C, AGUILERA M i van OS E.A. 2009. Validation of a new phytotoxicity test (phytotoxkit) against an established four week growing test with pre-grown plant plugs. *Acta Horti* 819:209–214.
- CZERNIAWSKA-KUSZA I, CIESIELCZUK T, KUSZA G, CICHON A. 2006. Comparison of the Phytotoxkit microbiotest and chemical variables for toxicity evaluation of sediments. *Environ Toxicol* 21:367–372.
- HOLMSTRUP M, BINDESBØL A-M., OOSTINGH G.J., DUSCHL A., SCHEIL V. i in., 2010. Interactions between effects of environmental chemicals and natural stressors: A review. *Sci Total Environ* 408, str. 3746–3762.
- OLESZCZUK P. 2008. The toxicity of composts from sewage sludges evaluated by the direct contact tests phytotoxkit and ostracodtoxkit. *Waste Manag* 28:1645–1653.
- OLESZCZUK P. i HOLLERT H., 2011, Comparison of sewage sludge toxicity to plants and invertebrates in three different soils. *Chemosphere* 83 (2011) 502–509
- PERSOONE G, WADHIA K. 2010. Comparison between toxkit microbiotests and standard tests. In Moser H, Römbke J, eds, *Ecotoxicological Characterization of Waste: Results and Experiences of an International Ring Test*. Springer, New York, NY, USA, pp 213–221.
- van der VLIET L., VELICOGNA J., PRINCZ J. i SCROGGINS R., 2012, Phytotoxkit: a critical look at a rapid assessment tool. *Environ Toxicol Chem*, Vol. 31, No. 2, pp. 316–323, 2012
- WOLSKA L, SAGAJDAKOW A., KUCZYŃSKA A. i NAMIEŚNIK J, 2007, Application of ecotoxicological studies in integrated environmental monitoring: Possibilities and problems. *Trends Anal Chem*, Vol. 26, No. 4, 2007

*Praca była finansowana ze środków:*

Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego Grant Nr NN305255035, pt. „Współdziałanie czynników naturalnych i chemicznych w glebie: ocena ekotoksykologicznego wpływu zanieczyszczeń chemicznych oraz temperatury i suszy”.

## **Skażenie miast metalami Cu, Cd, Zn i ich toksyczność określona metodą fizyko-chemiczną i biologiczną.**

### **Zinc, copper and cadmium contamination in the cities and its toxicity determined using physico-chemical and biological methods**

PIONTEK M., WALCZAK B., CZYŻEWSKA W.

W aglomeracjach miejskich, ośrodkach przemysłowych oraz na obszarach działalności człowieka występują antropogeniczne źródła metali ciężkich w środowisku. Transport drogowy nie jest obojętny dla otoczenia i może wpływać na podwyższanie poziomu metali ciężkich w ekosystemach.

W artykule zostały przedstawione wyniki zawartości cynku, miedzi i kadmu w formach ogólnych w pyłe drogowym oraz w glebach na terenie Zielonej Góry. Wyniki stężeń metali ciężkich zostały określone metodą fizyko-chemiczną, fotometrii płomieniowej. Metodą biologiczną określono toksyczność ostrą ( $LC_{50}$ ) z zastosowaniem testu ze skorupiakiem planktonowym *Daphnia magna* Straus. Największą toksyczność wykazały związki miedzi  $CuCl_2$  (24-h  $LC_{50}$  0,04 mg  $dm^{-3}$ ),  $CuSO_4$  (24-h  $LC_{50}$  0,18 mg  $dm^{-3}$ ), następnie kadmu  $CdCl_2$  (24-h  $LC_{50}$  0,37 mg  $dm^{-3}$ ),  $Cd(NO_3)_2$  (24-h  $LC_{50}$  0,40 mg  $dm^{-3}$ ). Tym samym według stopni toksyczności trucizn Liebmann są dla rozwielitki substancjami wysoko trującymi. Związki cynku  $ZnCl_2$  (24-h  $LC_{50}$  1,99 mg  $dm^{-3}$ ),  $ZnSO_4$  (24-h  $LC_{50}$  2,81 mg  $dm^{-3}$ ) wykazały mniejszą toksyczność, która kwalifikuje je do substancji mocno trujących. We wszystkich przypadkach chlorki metali były bardziej toksyczne.

Anthropogenic sources of heavy metals in the environment are present in urban areas, industrial centers and in areas of human activity. Road transport impact on the increasing level of heavy metals in ecosystems.

The article presents the results of zinc, copper and cadmium in the general forms in road dust and soils in the Zielona Góra city. Results of heavy metals concentrations was determined by the physico-chemical method, flame photometry. Acute toxicity ( $LC_{50}$ ) was termed using the test with crustacean *Daphnia magna* Straus (biological method). The copper compounds showed the greatest toxicity  $CuCl_2$  (24-h  $LC_{50}$  of 0.04 mg  $dm^{-3}$ ),  $CuSO_4$  (24-h  $LC_{50}$  0.18 mg  $dm^{-3}$ ), subsequently cadmium compounds  $CdCl_2$  (24-h  $LC_{50}$  0.37 mg  $dm^{-3}$ ),  $Cd(NO_3)_2$  (24-h  $LC_{50}$  0.40 mg  $dm^{-3}$ ). According to the toxicity scale by Liebmann these compounds are highly toxic substances for *Daphnia* sp. Zinc compounds  $ZnCl_2$  (24-h  $LC_{50}$  1.99 mg  $dm^{-3}$ ),  $ZnSO_4$

(24-h LC50 2.81 mg dm<sup>-3</sup>) showed less toxicity, which qualifies them to strongly toxic substances. In all cases, the metal chlorides are more toxic.

## **Zastosowanie biotestów do identyfikacji i kwantyfikacji zagrożeń w ekosystemach wodnych**

J. MANKIEWICZ-BOCZEK<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii p/a UNESCO Polska Akademia Nauk,  
ul. Tylna 3, 90-364 Łódź

<sup>2</sup>Katedra Ekologii Stosowanej, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź  
[j.mankiewicz@erce.unesco.lodz.pl](mailto:j.mankiewicz@erce.unesco.lodz.pl)

*Słowa kluczowe: ekohydrologia, woda, toksyczność całkowita, toksyny sinicowe, trwałe zanieczyszczenia organiczne, nanocząstki, biotesty, poziomy troficzne, ELISA.*

Prawidłowa diagnoza problemu jest punktem wyjścia do dalszych badań mających na celu opracowanie systemowych rozwiązań umożliwiających ograniczenie zagrożenia oraz odbudowę środowiska wraz ze zwiększeniem jego pojemności na stres. Podstawy metodologiczne takiego podejścia są rozwijane w ramach Koncepcji Ekohydrologii (m.in. Zalewski, 2011) i stanowią niezbędne działanie dla poprawy jakości ekosystemów wodnych.

Pierwsza ocena zagrożenia związanego z występowaniem konkretnego związku powinna opierać się na wykorzystaniu tzw. skringingu – testu przesiewowego, który pomoże nam wstępnie ustalić w stosunkowo łatwy sposób, w krótkim czasie potencjalną skalę problemu. Pozytywny wynik testu skringingowego zobowiązuje do dokładnej oceny zagrożenia w oparciu o bardziej zaawansowane metody np. chromatograficzne. Przykładem wykorzystania szybkiego skringingu może być immunobiotest typu ELISA, który jest rekomendowany dla oceny stężenia toksyn sinicowych np.: hepatotoksyn – mikrocytyn czy też cytotoxyny – cylindropermopsyny. Badania toksycznych zakwitów sinic potwierdzają istotną zależność pomiędzy wynikami otrzymanymi w teście ELISA i analizie HPLC. Immunoenzymatyczne testy typu ELISA mogą być również z powodzeniem stosowane do oceny stężenia trwałych zanieczyszczeń organicznych w tym dioksan czy związków dioksynopochodnych występujących w wodach powierzchniowych.

Jednakże badania środowiskowe pokazują, iż wyznaczenie zagrożenia ze strony wybranego związku w wielu przypadkach nie pokazuje ostatecznego problemu, ponieważ nie informuje nas o ogólnym zanieczyszczeniu np. wody, jej całkowitej toksyczności, a jedynie o aktywności wybranej substancji nie włączając nawet produktów jej rozpadu. Dlatego obok oceny pojedynczych zanieczyszczeń ważne jest również oszacowanie całkowitego zagrożenia ze strony badanej wody z uwzględnieniem jej części powierzchniowej oraz osadu. W tym celu należy wybrać zespół biotestów, w których organizmy będą reprezentować wszystkie poziomy troficzne, a wpływ środowiska na ich kondycję zostanie oceniony zarówno na

podstawie odpowiedzi ostrej jak i chronicznej. W taki sposób możliwe jest wyznaczenie ogólnego zagrożenia dla organizmów żywych w różnych systemach tj. rzekach, zbiornikach zaporowych, jeziorach czy też odpływach kanalizacji burzowej. Istotną zaletą takich badań jest fakt, iż oznaczając wrażliwość wybranych organizmów testowych możemy oszacować bezpośrednio aktywność biologiczną wody, a nie stężenie wybranych substancji, które jak już zostało wspomniane „nie mówi” nam zbyt wiele o rzeczywistym problemie. Dodatkowo wykonane w ten sposób badania pokazują, iż monitoring zagrożeń oparty jedynie o analizę fizyko-chemiczną nie umożliwia dokładnego prześledzenia zmian wrażliwości części ożywionej ekosystemu wodnego na zmienność np. sezonową.

Na koniec należy jeszcze wspomnieć o potrzebie wykorzystywania testów ekotoksyczności w celu oceny potencjalnego zagrożenia ze strony nowych substancji, których ilość w środowisku naturalnym wzrasta np. nanocząstek takich jak tlenki ceru. W takim przypadku stosując wspomniany zespół biotestów możemy pokazać na ile nowowprowadzane do środowiska związki mogą bezpiecznie być dalej produkowane bez negatywnych konsekwencji dla ekosystemów wodnych oraz lądowych. Przy takim podejściu możemy również badać interakcje nowych związków z wybranymi czynnikami środowiskowymi, w tym innymi substancjami.

Przykłady wszystkich trzech elementów badań niezbędnych dla prawidłowej diagnozy problemu zostaną przedstawione podczas prezentacji.

## **Wpływ nanocząstek nieorganicznych (nZnO i nTiO<sub>2</sub>) na fitotoksyczność osadów ściekowych**

PATRYK OLESZCZUK<sup>1,2</sup>, IZABELA JOŚKO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instytut Gleboznawstwa, Inżynierii i Kształtowania Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

<sup>2</sup>Zakład Technologii Chemicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin  
[patryk.oleszczuk@up.lublin.pl](mailto:patryk.oleszczuk@up.lublin.pl)

*Słowa kluczowe: nanocząstki, fitotoksyczność, osad ściekowy*

Ze względu na zwiększającą się produkcję i wykorzystanie w różnych dziedzinach życia, prognozuje się, że nanocząstki wkrótce staną się “nowym” zanieczyszczeniem obecnym w wodach, glebach, osadach dennych i osadach ściekowych [1-3]. Wymaga to niezwalczonych badań nad losami tej grupy związków, a przede wszystkim określenia ich toksyczności w stosunku do różnych grup organizmów [4,5]. Osady ściekowe stanowią specyficzną matrycę, która prawdopodobnie będzie stanowiła jeden z pierwszych elementów środowiska do którego będą trafiały nanomateriały. Wcześniejsze badania pokazały, że wpływ wielościennych nanorurek węglowych (MWCNT) na fitotoksyczność osadów ściekowych może być zróżnicowany [6]. W zależności od zastosowanego osadu ściekowego wprowadzenie nanorurek węglowych powodowało zmniejszenie bądź zwiększenie toksyczności osadów ściekowych. W warunkach przyrodniczego wykorzystania osadów ściekowych niezmiernie ważne staje się więc określenie efektu toksycznego, jaki potencjalnie mogą wywierać również inne nanomateriały na organizmy żywe. Szczególnie ważna w tym zakresie jest ocena fitotoksyczna osadów ściekowych ze względu na przyrodnicze ich wykorzystywanie. Celem badań było określenie wpływu dwóch nanocząstek (nZnO, nTiO<sub>2</sub>) na fitotoksyczność osadów ściekowych. W badaniach zastosowano test Phytotoxkit™ (Microbiotest) stosując jako rośliny testowe: *Lepidium sativum* oraz *Synapis alba*. W ramach badań oceniano wpływ koncentracji zanieczyszczeń (10, 100, 1000 mg/kg) oraz dawki osadu ściekowego (3, 9%) na jego fitotoksyczność w stosunku do badanych roślin. Określono również wpływ czasu kontaktu między nanocząstkami a matrycą osadu ściekowego na potencjalne zwiększenie/zmniejszenie efektu toksycznego.

## Literatura

- [1] Nowack B., Ranville J., Diamond S., Gallego-Urrea J., Metcalfe C., Rose J., Horne N., Koelmans A.A., Klaine S.J. 2012. Potential scenarios for nanomaterial release and subsequent alteration in the environment. *Environ. Toxicol. Chem.* **31**, 50-59.
- [2] Gottschalk F., Nowack B. 2011. Release of engineered nanomaterials to the environment. *J. Environ. Monitoring.* **13**, 1145-1155.
- [3] Petersen E.J., Zhang L., Mattison N.T., O'Carroll D.M., Whelton A.J., Uddin N., Nguyen T., Huang Q., Henry T.B., Holbrook R.D., Chen K.L. 2011. Potential release pathways, environmental fate, and ecological risks of carbon nanotubes. *Environ. Sci. Tech.* **45**, 9837-9856
- [4] Zhao X., Liu R. 2012. Recent progress and perspectives on the toxicity of carbon nanotubes at organism, organ, cell, and biomacromolecule levels. *Environ. Int.* **40**, 244–256.
- [5] Handy R.D., Cornelis G., Fernandes T., Tsyusko O., Decho A., Sabo-Attwood T., Metcalfe C., Steevens J.A., Klaine S.J., Koelmans A.A., Horne N. 2011. Ecotoxicity test methods for engineered nanomaterials: Practical experiences and recommendations from the bench. *Environ. Toxicol. Chem.* **31**, 15–31.
- [6] Oleszczuk P., Joško I., Xing B. 2011. The toxicity to plants the sewage sludges containing multiwalled carbon nanotubes. *J. Hazard. Mat.* **186**, 436-442



## Pierwotniaki w badaniach ekotoksykologicznych

G. NAŁĘCZ-JAWECKI

Zakład Badania Środowiska, Warszawski Uniwersytet Medyczny,  
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa  
[gnalecz@wum.edu.pl](mailto:gnalecz@wum.edu.pl)

*Słowa kluczowe: Spirostomum ambiguum, Tetrahymena termophila, orzęski, toksyczność*

Pierwotniaki stanowią istotny składnik ekosystemów wodnych. Wraz z bakteriami pełnią kluczową rolę w procesach samooczyszczania wody, jak i oczyszczania ścieków w złożach biologicznych. Pierwotniaki są od dawna przedmiotem zainteresowania ekotoksykologów z następujących powodów:

- są najprostszymi organizmami Eucaryota, zawierającymi w pojedynczej komórce wszystkie biologiczne mechanizmy i funkcje niezbędne do istnienia organizmu;
- krótki czas generacji umożliwia stosowanie ich zarówno w testach toksyczności ostrej, jak i chronicznej;
- łatwość prowadzenia hodowli umożliwia otrzymanie dużej ilości organizmów w niewielkiej objętości, a także w krótkim czasie.

Pierwotniaki stosowane są w dwóch rodzajach testów różniących się rodzajem reakcji testowej. W testach oceny toksyczności ostrej efektem testowym jest śmierć organizmu lub zmiany morfologiczne (deformacje kształtu), fizjologiczne (tempo pobierania pokarmu) bądź biochemiczne (zmiany aktywności enzymów). 24-godzinny test Spirotox, przeprowadzany w 24-dołkowych mikropłytkach, wykorzystuje jednego z największych pierwotniaków, orzęska *Spirostomum ambiguum*. Reakcje testowe są dobrze widoczne pod niewielkim powiększeniem binokularu. Natomiast w teście chronicznym reakcją testową jest spadek przyrostu ilości organizmów pod wpływem badanej próbki. Może on być obserwowany bezpośrednio – poprzez pomiar liczby organizmów po 40 godzinach inkubacji (test Tetratox), lub pośrednio, poprzez fotometryczny pomiar ilości pokarmu zjedzonego przez pierwotniaki w czasie 24-godzinnej inkubacji (test Protoxkit F). W testach chronicznych wykorzystywane są małe, szybko rozmnażające się pierwotniaki, najczęściej z rodzaju *Tetrahymena*.

Zarówno *S. ambiguum*, jak i *T. pyriformis* oraz *T. termophila* stosowane są do oceny czystych związków chemicznych a także próbek środowiskowych. W teście Spirotox jako

płyn do rozcieńczeń wykorzystywana jest pożywka mineralna – o niskiej zdolności kompleksującej, stąd test ten jest bardzo wrażliwy na obecność metali<sup>1</sup>. Natomiast testy chroniczne umożliwiają wykrywanie substancji wpływających na podział komórek. Dobrze poznana biochemia i fizjologia pierwotniaków, zwłaszcza z rodzaju *Tetrahymena* pozwala na wykorzystywanie nowych, bardziej subtelnych reakcji testowych, a także na odkrywanie mechanizmów toksycznego działania substancji chemicznych.

<sup>1</sup> – Nałęcz-Jawecki G., Sawicki J. (1998). Toxicity of inorganic compounds in the Spirotox test: A miniaturized version of the *Spirostomum ambiguum* test. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 34: 1-5.

## **Biotesty jako narzędzie wspierające zarządzanie procesem oczyszczania ścieków**

A. DROBNIIEWSKA, G. NAŁĘCZ-JAWECKI

Zakład Badania Środowiska, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny  
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa  
[agata.drobniewska@wum.edu.pl](mailto:agata.drobniewska@wum.edu.pl)

*Słowa kluczowe: toksyczność ścieków, analiza bioindykacyjna*

Oczyszczalnie ścieków wprowadzając oczyszczone ścieki do rzek, spełniają istotną rolę w zachowaniu odpowiedniej jakości wód powierzchniowych. Jednakże pomimo wprowadzania najnowszych technologii, które pozwalają usunąć zanieczyszczenia w stopniu wymaganym przez aktualnie obowiązujące przepisy, nieustannie pojawiają się trudności z osiągnięciem dobrego stanu ekologicznego rzek. Dlaczego tak się dzieje? Otóż do oczyszczalni ścieków, a tym samym do środowiska docierają nie tylko związki, których oznaczanie jest wymagane przez przepisy jak metale, związki organiczne typu WWA, PCB, pestycydy, w tym DDT i pochodne (MŚ 2009), ale także związki nowe (*emerging pollutants*) (Farre i in. 2008). Prowadzi to do niewykrywania wielu substancji toksycznych i w efekcie zaniża ocenę realnego ryzyka, a także nie pozwala na poznanie biologicznej aktywności próbek. Tymczasem już w samej oczyszczalni podczas przemian jakim podlegają ścieki, mogą powstawać nowe produkty, metabolity związków, których działanie jest nierozpoznane.

Jakie metody badawcze pozwalające poznać charakter ścieków dopływających do oczyszczalni oraz efektywność ich oczyszczania są dostępne? Uzupełnieniem analiz chemicznych stała się w ostatnich latach analiza bioindykacyjna. Biotesty są szeroko stosowane na świecie zarówno do identyfikacji źródeł toksyczności oraz związków odpowiedzialnych za toksyczność ścieków wpływających do oczyszczalni, jak również do oceny efektywności pracy samej oczyszczalni. Jednym z pierwszych programów był system wprowadzony przez Amerykańską Agencję Ochrony Środowiska (EPA), która w 1984 roku opracowała politykę zmniejszenia lub wyeliminowania toksycznych zrzutów (49 FR 9016, March 9, 1984), a następnie zalecenie oceny łącznego efektu toksycznego wywołanego przez ścieki na organizmy wodne WET (*Whole Effluent Toxicity*) (USEPA, 1994). W niektórych krajach europejskich (m.in. Niemcy, Litwa, Szwecja, Dania, Finlandia) stosowane są pomiary tzw. WEA (*Whole Effluent Assessment*) opisujące całkowity wpływ ścieków na żywe organizmy (OSPAR Commission, 2007).

W przypadku Polski temat toksyczności ścieków poruszany jest głównie w środowiskach naukowych. Tymczasem ocena toksyczności ścieków wpływających do oczyszczalni, ścieków pochodzących od głównych ich dostarczczyeli („hot spots”), mogłaby służyć ochronie organizmów tworzących osad czynny przed szkodliwym ich działaniem. Badania na szerszą skalę prowadzone były jedynie w ramach projektu COHIBA (*Control of hazardous substances in the Baltic Sea region, 2009 – 2012*), w którym Polska uczestniczyła. W ramach projektu opracowano zalecenia dotyczące badania toksyczności ścieków zrzucanych do Morza Bałtyckiego, ustalono optymalną metodykę pomiarów, najodpowiedniejsze organizmy testowe, a także ustalono zalecane limity toksyczności zrzutów.

Poznanie charakteru, w tym toksyczności, ścieków dopływających do oczyszczalni oraz efektywności ich oczyszczania na poszczególnych etapach, może być przydatne w opracowywaniu rozwiązań zgodnych z założeniami Krajowego Programu Oczyszczania Ścieków Komunalnych (MŚ 2010). Jednocześnie działania takie mogą posłużyć zmniejszeniu toksyczności ścieków, które tym samym nie będą stanowiły zagrożenia dla środowiska oraz zdrowia ludzi. Jest to tym bardziej istotne, iż jesteśmy zobowiązani wdrożyć Ramową Dyrektywę Wodną i do 2015 roku osiągnąć dobry stan ekologiczny wód powierzchniowych (Dyrektywa 2000/60/WE). Możliwe jest to tylko przy właściwym rozpoznaniu skali wpływu jak największej ilości zanieczyszczeń na środowisko i wypracowaniu właściwych metod badawczych.

#### Piśmiennictwo:

Farre M., Perez S., Kantiani L., Barcelo D. 2008. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *Trends Aquat Chem* 27:991-1007.

MŚ 2009. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 28 stycznia 2009 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzeniu ścieków do wód lub do ziemi, oraz w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego. Dz.U. 2009 nr 27 poz. 169.

MŚ 2010. Obwieszczenie Ministra Środowiska z dnia 2 lipca 2010 r. w sprawie ogłoszenia krajowego programu oczyszczania ścieków komunalnych oraz jego dwóch aktualizacji. M.P. 2010 nr 58 poz. 775.

OSPAR Commission, 2007: Practical Guidance Document on Whole Effluent Assessment. Publication nr. 316/2007. OSPAR Commission.

USEPA, 1994: Whole Effluent Toxicity (WET) control policy. Washington DC: USEPA Office of water. EPA/833-B-94-002.

## **Monitoring potencjału toksycznego odcieków składowiskowych współczyszczanych ze ściekami miejskimi**

J. KALKA

Katedra Biotechnologii Środowiskowej Politechnika Śląska ul. Akademicka 2A, Gliwice,  
[joanna.kalka@polsl.pl](mailto:joanna.kalka@polsl.pl)

*Słowa kluczowe: bioindykacja, odcieki, genotoksyczność*

W krajach Wspólnoty Europejskiej na miejskich składowiskach odpadów deponowanych jest rocznie łącznie ok. 120 milionów ton odpadów komunalnych (Thomas et al., 2009). Mimo, iż gromadzenie odpadów na składowiskach, stwarza wiele zagrożeń, składowanie odpadów jest jednym z najczęściej stosowanych sposobów ich zagospodarowania (Sibielska i Sidelko, 2003). Nowoczesne składowiska odpadów są tak skonstruowane, aby ograniczyć do minimum szkodliwe emisje, jednak część zanieczyszczeń generowanych przez te obiekty migruje do środowiska.

Odcieki składowiskowe generowane zarówno w fazie eksploatacji składowiska, jak i po jej zakończeniu, stanowią jedną z największych uciążliwości związanych z deponowaniem odpadów. Zgodnie z obowiązującymi przepisami, odcieki ze składowisk odpadów powinny być ujmowane i poddawane unieszkodliwianiu (Dz. U. z 2003 nr 61 poz. 549). Ze względu na zmienną ich ilość i skład, wybór odpowiedniej metody unieszkodliwiania stanowi duży problem technologiczny.

Odcieki z miejskich składowisk odpadów komunalnych wykazują dużą toksyczność wobec organizmów wodnych, w tym również osadu czynnego (Ward et al., 2002; Baun et al., 2004; Svensson et al., 2005; Koshy et al., 2008). Obecnie monitoring środowiska obejmuje analizy standardowych parametrów fizykochemicznych generowanych odcieków. Trudno jednak oceniać wpływ różnego rodzaju substancji na środowisko przyrodnicze jedynie na podstawie wyników analiz fizykochemicznych. Standardowa analiza nie dostarcza informacji o ryzyku, wynikającym z występowania w analizowanej próbce interakcji między substancjami zanieczyszczającymi.

Celem badań było określenie zmiany toksyczności genetycznej odcieków z dwóch tzw. starych składowisk odpadów, współczyszczanych ze ściekami miejskimi w laboratoryjnym modelu A2/O. Jako organizmy wskaźnikowe wybrano *Daphnia magna*, dla

której przeprowadzono test kometowy oraz *Vicia faba*, która została wykorzystana do przeprowadzenia testu mikrojądrowego.

Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów wykazano, iż odcieki ze składowisk o długim czasie eksploatacji i po jej zakończeniu, charakteryzują się własnościami genotoksycznymi i wpływają na częstość podziałów komórkowych oraz stopień fragmentacji DNA. Wykazano przydatność testu kometowego z wykorzystaniem komórek somatycznych *Daphnia magna* do oceny potencjału genotoksycznego prób środowiskowych. Potwierdzono również możliwość redukcji genotoksyczności odcieków na drodze biologicznego współczyszczania z ściekami, jednak nie potwierdzono możliwości całkowitego jej usunięcia. Wyznaczono wartość NOEC dla toksyczności genetycznej – dla dopływów wynosiła ona 10%, dla odpływów 50%.

## **Przeglądowe i nowe zastosowania metod bioindykacyjnych**

G. PIĘTOWSKI

TIGRET SP. Z O.O., ul. Warszawska 27, 02-495 Warszawa  
[gp@tigret.eu](mailto:gp@tigret.eu)

*Słowa kluczowe: bioindykacja, toksyczność*

W prezentacji przedstawiono obszary zastosowań testów bioindykacyjnych, w znanych jak i nowych obszarach. Na pewnym etapie badań nad nowymi technologiami, metody bioindykacyjne są istotnym elementem oceny i często stanowią pierwszą informację o oddziaływaniu na środowisko.

Poza typowymi zastosowaniami do oceny jakości środowiska i toksyczności substancji chemicznych wskazano na obszary badań w zakresie nanocząstek i fal wysokiej częstotliwości.

Przedstawiono nowy, wielogatunkowy test LumiMARA, oparty na założeniach uznanego testu MARA do oceny ryzyka środowiskowego.

## **Bioindykacja a państwowy monitoring środowiska**

WÓJCIK K., SZCZEPAŃSKA J.

Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Łodzi  
Ul. Lipowa 16, 90-743 Łódź

W prezentacji przedstawiono wymogi prawne w zakresie monitorowania jakości ścieków z oczyszczalni komunalnych. Nie przewiduje się użycia biotestów do tego celu.

W monitoringu wód powierzchniowych, biomonitoring jest istotną składową niezbędną do oceny stanu bądź potencjału ekologicznego wód. Monitoruje się fitoplankton, fitobentos, makrofity, makrobezkręgowce bentosowe i ichtiofaunę. Określone są definicje dla stanów ekologicznych. Większość wód powierzchniowych na terenie województwa łódzkiego posiada umiarkowany stan/potencjał ekologiczny.



## **Wpływ składowiska odpadów komunalnych na jakość wód powierzchniowych – potok**

K. KUKLIŃSKA<sup>a</sup>, A. OLESZCZAK<sup>a</sup>, L. WOLSKA<sup>a,b</sup>, J. NAMIEŚNIK<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Analitycznej, ul. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk

<sup>b</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Zakład Toksykologii Środowiska, ul. Powstania Styczniowego 9B, 81-519 Gdynia  
[k-kuklinska@wp.pl](mailto:k-kuklinska@wp.pl)

**Słowa kluczowe:** *składowisko odpadów komunalnych, wody powierzchniowe, testy ekotoksykologiczne*

Składowiska odpadów komunalnych stanowią poważne zagrożenie dla środowiska. Szczególnie niebezpieczne dla zdrowia ludzi i zwierząt stanowi możliwość bezpośredniego kontaktu wód powierzchniowych ze składowiskiem. Pod wpływem biochemicznych i fizykochemicznych procesów zachodzących w masie odpadów, powstają m.in. toksyczne związki. Dlatego kompletna ocena jakości wód wokół składowiska powinna być oparta zarówno o monitoring chemiczny, jak i o monitoring ekotoksykologiczny, który pozwala na wcześniejszą i szybszą reakcję w przypadku pojawiającego się zagrożenia.

Do oceny toksyczności wód powierzchniowych pobranych wokół składowiska odpadów komunalnych zastosowano następujące biotesty: *Microtox*<sup>®</sup>, *Thamnotoxkit F<sup>TM</sup>* oraz *Phytotoxkit* z wykorzystaniem nasion *Sorghum saccharatum*. Największą toksyczność wykazały próbki pobrane w latach 2007-2009. W roku 2010 oddano do użytku podczyszczalnię ścieków i odcieków, co znacząco wpłynęło na poprawę ekotoksykologicznej jakości badanych próbek.

## **Zastosowanie biotestów do systemów wspomaganie zarządzaniem i ochroną zbiornikami zaporowymi na przykładzie projektu ZiZOZap**

J. FRANCIKOWSKI, J. GUZIK, A. NIKIEL, M. KŁOSOK, K. MICHALCZYK,  
M. AUGUSTYNIAK, P. ŁASZCZYCA, P. MIGULA

Katedra Fizjologii Zwierząt i Ekotoksykologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,  
Uniwersytet Śląski w Katowicach, Bankowa 9, 40-007 Katowice  
[jacekfrancikowski@wp.pl](mailto:jacekfrancikowski@wp.pl)

*słowa kluczowe: ZiZOZap, Zbiornik Goczałkowice, biomonitoring, biotesty*

„ZINTEGROWANY SYSTEM WSPOMAGAJĄCY ZARZĄDZANIEM I OCHRONĄ ZBIORNIKA ZAPOROWEGO” – **ZiZOZap**, to projekt realizowany w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka. Priorytetem działań jest rozwój nowoczesnych technologii, w szczególności promowanie badań naukowych dla budowy gospodarki opartej na wiedzy. Wzmiankowany projekt jest realizowany na zbiorniku zaporowym w Goczałkowicach od 2010 roku przez szerokie grono specjalistów z różnych dyscyplin naukowych i instytucji. W skład konsorcjum naukowego wchodzi: Uniwersytet Śląski w Katowicach (koordynator projektu), Politechnika Krakowska, Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowanych oraz Instytut Podstaw Inżynierii Środowiska PAN. Partnerami strategicznymi są: Górnośląskie Przedsiębiorstwo Wodociągowe SA oraz Regionalny Zarząd Gospodarki Wodnej w Gliwicach. Część zadań jest realizowana we współpracy z partnerami naukowymi: NILU Polska, Instytut Ochrony Przyrody PAN, Zakład Doświadczalny Gospodarki Stawowej PAN oraz Zakład Ichtiologii i Gospodarki Rybackiej PAN w Gołyszach, Ecoclima Serwis S.J. Wsparcia udzielają także samorzady gminne oraz samorząd Powiatu Pszczyńskiego.

Nadrzędnym celem projektu ZiZOZap jest rozwiązanie problemu obniżania się potencjału ekologicznego i funkcjonalnego zbiorników zaporowych w wyniku ich starzenia się i presji stwarzanej przez gospodarkę w obszarze zlewni. Cel ten jest zgodny z zapisami Ramowej Dyrektywy Wodnej, gdzie do priorytetów należy intensyfikacja działań na rzecz zrównoważonego gospodarowania zasobami wód oraz uzyskanie ich dobrego stanu do 2015 roku. Należy podkreślić, że w sformułowanych Wytocznych metodycznych do monitoringu brak jest wskazówek na temat prowadzenia monitoringu sztucznych zbiorników zaporowych, zaś zalecenia dotyczące jezior oraz rzek nie przekładają się jednoznacznie na zasady monitoringu tego typu obiektów. Powoduje to, że projekt ZiZOZap ma, w tym zakresie, charakter pionierski i innowacyjny.

Produktem końcowym projektu będzie system informacyjny (bazujący na monitoringu, modelach zintegrowanych i szczegółowych, scenariuszach działań) ułatwiający bieżącą ocenę stanu zbiornika, prognozowanie krótko- i długoterminowych zmian oraz podejmowanie racjonalnych decyzji w zakresie ochrony, utrzymania i zarządzania zbiornikiem. Wymiernym efektem realizacji projektu będzie poprawa zabezpieczenia zasobów zbiornika jako źródła wody pitnej dla ludności Śląska oraz dla podmiotów gospodarczych, minimalizacja kosztów uzdatniania wody, ochrona przed skutkami suszy i/lub powodzi, utrzymanie walorów przyrodniczych oraz gospodarki rybackiej zbiornika, określenie możliwości wykorzystania zbiornika do celów rekreacyjnych.

Wśród przewidzianych w ZiZOZap zadań istotne miejsce zajmują monitoring badawczy oraz monitoring operacyjny zbiornika. Od wiosny 2010 roku w Zbiorniku Goczałkowickim prowadzona jest ciągła ocena wskaźników stanu fizykochemicznego i biologicznego zbiornika. Istotnym elementem tej oceny jest wprowadzenie na stałe biologicznych testów ekotoksykologicznych. Wdrożenie biomonitoringu, opartego na obserwacji reakcji organizmów testowych, zapewnia stosunkowo szybką ocenę potencjalnych zagrożeń dla środowiska przyrodniczego i wartości użytkowej tegoż zbiornika. Narzędzia te są obecnie stosowane w systemach wczesnego ostrzegania o zagrożeniach toksykologicznych. Systematycznym testom poddawane są próby wody oraz osadów dennych z 8 punktów usytuowanych w linii brzegowej Zbiornika Goczałkowickiego. Szczególnie wnikliwie analizowane są próby z dopływów (Wisła, potok Bajerka, pomniejsze ciek) oraz przepompowni. Badane są również próby z punktów zlokalizowanych na zbiorniku. Analizy z użyciem biotestów będą kontynuowane w Goczałkowicach a ich możliwości wykorzystania w przyszłości zostaną opisane w szczegółowych scenariuszach pracy zbiornika. Z pewnością znaczenie biotestów a także ich zastosowanie będzie w przyszłości stale wzrastało, zważywszy, że grono zainteresowanych wykorzystaniem rezultatów projektu ZiZOZap jest już duże. Wsparcie oraz zainteresowanie deklarują między innymi: Urząd Żeglugi Śródlądowej w Kędzierzynie Koźlu, Regionalny Zarząd Gospodarki Wodnej w Krakowie, Wydział Bezpieczeństwa i Zarządzania Kryzysowego Śląskiego Urzędu Wojewódzkiego w Katowicach, Elektrownia Rybnik SA, Povodi Odry – Statni Podnik (Czechy), Zemedelská vovohospodářská správa Oblast Povodi Odry (Czechy).

## Wykorzystanie biotestów w kompleksowej ocenie toksyczności osadów dennych zbiornika Rybnik

AGNIESZKA BARAN<sup>1</sup>, MAREK TARANWASKI<sup>2</sup>, CZESŁAWA JASIEWICZ<sup>1</sup>

Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Katedra Inżynierii Wodnej i Geotechniki  
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie,  
[Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl](mailto:Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl), [rmtarnaw@cyf-kr.edu.pl](mailto:rmtarnaw@cyf-kr.edu.pl)

Nagromadzone w zbiornikach wodnych osady denne stanowią bardzo ważną część ekosystemów, odgrywając szczególną rolę w ich funkcjonowaniu oraz w obiegu pierwiastków pomiędzy poszczególnymi komponentami systemu wodno-gruntowego. Struktura osadów sprawia, że stanowią one naturalny geosorbent, w którym akumulują się zanieczyszczenia wprowadzane do środowiska wodnego. Celem badań była kompleksowa ocena toksyczności osadów dennych zbiornika Rybnik przy wykorzystaniu baterii mikrobiotestów.

Badania obejmowały ocenę toksyczności: osadów oraz wodny międzycząsteczkowej. Toksyczność osadów dennych i wody międzycząsteczkowej badano przy zastosowaniu baterii biotestów składającej się z trzech mikrobiotestów pracujących na 5 organizmach (tab. 1). Wykonano testy skringowe polegający na analizie próbek nierozcieńczonych. Otrzymane wyniki toksyczności wyrażono jako procent reakcji testowej (PE).

Tabela 1. Bateria biotestów

Poziom troficzny	Test	Organizm testowy	Parametr	Typ testu, czas trwania
Producenci	Phytotoxkit Phytoteskit <sup>1</sup>	<i>Sorghum saccharatum</i> , <i>Lepidium sativum</i> , <i>Sinapis alba</i>	Inhibicja kiełkowanie i wzrostu korzeni	chroniczny (3 dni)
Konsumeci	Ostracodtoxkit	<i>Heterocypris incongruens</i>	Śmierć, wzrost	Chroniczny (6 dni)
Destruenci	Microtox	<i>Vibrio fischeri</i>	Spadek luminescencji	ostry (15 min.)

<sup>1</sup> - test zastosowano do badania toksyczności wody międzycząsteczkowej

Wszystkie próbki wody międzycząsteczkowej zakwalifikowano do klasy II (niskie ostre zagrożenie). Jakość osadów była zróżnicowana począwszy od klasy II, poprzez najliczniej reprezentowaną klasę III (ostre zagrożenie), po klasę IV (wysokie ostre zagrożenie).

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2009-2012. Grant badawczy nr N305 295037 - G1735/KIWiG/09-12 - „Ocena możliwości rolniczego wykorzystania zbiornikowych osadów dennych”

## **Testy ekotoksykologiczne wykorzystywane do oceny zagrożenia jakości gleb zanieczyszczonych związkami chemicznymi**

**A. KLIMKOWICZ-PAWLAS, B. SMRECZAK, B. SUSZEK, B. MALISZEWSKA-KORDYBACH**

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy  
Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów  
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy  
[agnes@iung.pulawy.pl](mailto:agnes@iung.pulawy.pl)

*Słowa kluczowe: jakość gleb, zagrożenia, zanieczyszczenia gleb, testy ekotoksykologiczne, normalizacja, materiał referencyjny*

Substancje chemiczne o potencjalnie toksycznych właściwościach stanowią przeważającą część zanieczyszczeń środowiska; mogą one stwarzać zagrożenie nie tylko dla zdrowia człowieka, ale również dla wszystkich organizmów żyjących w danym ekosystemie. Gleba jest tym elementem środowiska, w którym w ostatecznej kolejności gromadzi się większość zanieczyszczeń. Skutkiem tego może być ograniczenie bioróżnorodności w glebie, a co za tym idzie zmniejszenie odporności na działanie czynników stresowych, pogorszenie jakości, żyzności i produktywności gleb (Klimkowicz-Pawlas 2009). Ocena i przewidywanie oddziaływania ksenobiotyków w środowisku glebowym to jedno z poważniejszych zadań, jakie stoją przed naukowcami z różnych dziedzin, przede wszystkim przed ekotoksykologami, ale również przed gleboznawcami i specjalistami z zakresu ochrony środowiska.

Badania ekotoksykologiczne gleb prowadzone są w dwóch dziedzinach (Ratte i in. 2003):

- ocena wpływu substancji chemicznych wprowadzanych do środowiska. W tym przypadku odpowiednie dawki substancji wprowadzane są do gleby w celu wyznaczenia ich współczynników toksyczności w stosunku do określonych grup organizmów glebowych.
- ocena ryzyka – oceniana jest ekotoksyczność zanieczyszczeń występujących w glebach na badanym terenie.

Istotne znaczenie w badaniach ekotoksykologicznych ma dobór właściwego materiału referencyjnego (gleby kontrolnej). W pierwszym przypadku materiał kontrolny stanowi gleba wykorzystywana w badaniach, ale bez dodatku substancji badanej. Natomiast w badaniach ekotoksyczności gleb zanieczyszczonych, zgodnie z zaleceniami ISO, jako materiał referencyjny może być wykorzystywana gleba niezanieczyszczona o właściwościach

zbliżonych do gleby badanej, lub „sztuczny” materiał glebowy tzw. „gleba OECD”. Ciekawym rozwiązaniem wydaje się koncepcja tzw. EURO-Soils, która zakłada wykorzystanie wybranej grupy gleb typowych dla określonych obszarów geograficznych Europy (Maliszewska-Kordybach i in. 2009).

W badaniach oddziaływania ksenobiotyków w glebie (zwłaszcza stałych hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych) istotne znaczenie ma sposób wprowadzania tych substancji do gleb. Najczęściej związki te wprowadzane są w formie roztworów w rozpuszczalnikach organicznych, które również mogą oddziaływać toksycznie na systemy biologiczne.

Jednym z podstawowych problemów w badaniach ekotoksykologicznych jest dobór właściwych organizmów testowych. Przy wyborze testów ważne są również takie czynniki, jak: powtarzalność testów, odtwarzalność, praktyczność i łatwość w zastosowaniu oraz wysoka czułość. Dodatkowo testy te powinny być tanie i ogólnie akceptowalne. Wynika stąd niewątpliwa konieczność normalizowania warunków tego typu badań. Wybór testów ekotoksykologicznych i opracowywanie norm są przedmiotem prac zarówno organizacji lokalnych (np. w USA – US EPA, we Francji AFNOR), jak i międzynarodowych. Na poziomie międzynarodowym najczęściej stosuje się normy opracowane przez OECD, ISO oraz CEN. Normy OECD odnoszą się w większości do pierwszej dziedziny badań ekotoksykologicznych – oceny oddziaływania substancji chemicznych na układy biologiczne. Natomiast zakres działania norm ISO koncentruje się głównie na badaniach ekotoksykologicznych wchodzących w skład procedur oceny ryzyka. W Polsce organizacją odpowiedzialną za adaptację norm międzynarodowych do warunków krajowych jest Polski Komitet Normalizacyjny.

W badaniach ekotoksykologicznych gleb stosowanych jest szereg testów, których celem jest ocena poziomu ochrony funkcji siedliskowej i retencyjnej gleb. Wykorzystuje się testy zarówno tradycyjne, jak również testy nowsze, przy wykorzystaniu tzw. biomarkerów, które pozwalają określić zmiany zachodzące w roślinach na poziomie komórkowym w oparciu o pomiary biochemiczne, fizjologiczne, histologiczne i morfologiczne (Walker i in. 2002). W testach tradycyjnych efekt wywołany działaniem substancji chemicznej oceniany jest na podstawie parametrów charakteryzujących wzrost i rozwój roślin (np. długość korzeni, świeża i sucha masa roślin oraz kiełkowanie), rozwój bezkręgowców (przeżywalność, rozmnażanie) czy aktywność mikroorganizmów glebowych (potencjał nityfikacji, oddychanie). W praktyce najczęściej wykorzystuje się testy krótkoterminowe. Testy określające długotrwałe narażenie stosowane są rzadko, ze względu na ich większą czasochłonność i koszty. Pewną alternatywą

dla testów chronicznych są opracowane w Gent mikrobiotesty „Toxkits”, z których w odniesieniu do środowiska glebowego stosowane są dwa zestawy Ostracodtoxkit i Phytotoxkit. Testy te mogą stanowić szybką i stosunkowo dobrą metodę skriningową oceny toksyczności gleb zanieczyszczonych związkami chemicznymi.

#### Literatura:

1. Klimkowicz-Pawlas A. 2009. Oddziaływanie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych na siedliskową funkcję gleby. Monografie i rozprawy naukowe, nr 22, IUNG-PIB Puławy, pp. 92.
2. Ratte H.T., Hammers-Wirtz M., Cleuvers M. 2003. Ecotoxicity testing. W: *Bioindicators and Biomonitoring. Principles, concepts and applications*. Markert B.A., Breure A.M., Zechmeister H.G. (eds.) Elsevier. Amsterdam, Boston, London, 221-256.
3. Maliszewska-Kordybach B., Klimkowicz-Pawlas A., Smreczak B. 2008. Soil reference materials in ecotoxicity testing – Application of the concept of EURO-Soils to soils from Poland. *Polish J. of Environ. Stud.*, 17 (2), 257-266.
4. Walker C.H., Hopkin S.P., Sibly R.M., Peakall D.B. 2002. Principles of ecotoxicology. Taylor and Francis (eds.).



## **Zastosowanie ekotoksykologicznych dawek szkodliwych w oprogramowaniu SADA do oceny ryzyka ekologicznego dla miejsca badawczego w Jaworznie**

A. BUBAK, J. GZYL, G. PŁAZA

Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych, ul. Kossutha 6, 40-844 Katowice  
[bubak@ietu.katowice.pl](mailto:bubak@ietu.katowice.pl)

*Słowa kluczowe: ryzyko ekologiczne, SADA, ekotoksykologiczne dawki szkodliwe, wody powierzchniowe*

Określenia wpływu zanieczyszczeń na stan środowiska można dokonać dzięki zastosowaniu różnorodnych metod służących do identyfikacji źródeł zanieczyszczeń i ich hierarchizowania. Jedną z nich jest ocena ryzyka ekologicznego (ecological risk assessment – ERA). Obserwowany jest rozwój dwóch zasadniczych kierunków badawczych tej dziedziny. Pierwszy polega na miniaturyzacji zestawów do badań laboratoryjnych (biotesty), uzyskaniu większej powtarzalności wyników i ograniczaniu liczby badań prowadzonych z udziałem zwierząt. Drugi kierunek związany jest z opracowywaniem programów komputerowych, które wykorzystują i przetwarzają już istniejące wyniki zgromadzone w ogólnodostępnych toksykologicznych bazach danych, w tym wyniki biotestów. Postęp w projektowaniu nowego oprogramowania komputerowego polega na integrowaniu dodatkowych funkcji. Pozwala to na wykorzystywanie narzędzi nie tylko do oszacowania wielkości ryzyka ekologicznego, ale także jako systemu wspomagającego decyzje, np. dotyczące przyszłych działań remediacyjnych.

Celem prezentowanych badań było zastosowanie programu obliczeniowego SADA (Spatial Analysis and Decision Assistance) do oceny ryzyka ekologicznego wód powierzchniowych wywołwanego przez substancje toksyczne. Program ten opiera się na podejściu Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (US EPA) do obliczenia ryzyka ekologicznego. Pozwala on na uzyskanie statystyk opisowych (z pomiarów chemicznych), ich porównanie z ekotoksykologicznymi dawkami szkodliwymi (benchmark doses) oraz przestrzenną wizualizację wyników poziomu zanieczyszczenia i/lub ryzyka z wykorzystaniem systemu informacji geograficznej (Geographical Information System – GIS).

Badania prowadzono w ramach projektu FOKS (Focus on key sources of environmental risks), którego głównym celem była identyfikacja kluczowych źródeł ryzyka



środowiskowego. Jednym z miejsc badawczych było Jaworzno. Gromadzenie odpadów w tym miejscu rozpoczęto jeszcze przed I Wojną Światową, a najintensywniejsze składowanie przypadło na lata 60-80te ubiegłego stulecia. Na obszarze o powierzchni 0,5 km<sup>2</sup> zgromadzonych jest ok. 200 tys. ton odpadów zawierających odpady po produkcji pestycydów. Problem jest tak poważny, że miejsce to uznano za jeden z siedmiu „hot spotów” w zlewni Morza Bałtyckiego.

Ocenę ryzyka ekologicznego dla zanieczyszczeń z miejsca testowego uzyskano dzięki zastosowaniu kilku ekotoksykologicznych dawek szkodliwych dla wód powierzchniowych. Dawki te odzwierciedlały różne poziomy troficzne organizmów: skorupiaki (*Daphnia*), rośliny i ryby słodkowodne lub zostały wyznaczone jako jedna dawka dla glonów, makrofitów, bezkręgowców i ryb. Najbardziej efektywna okazała się dawka podana w Kanadyjskich Wytycznych dla Jakości Wód (Canadian Water Quality Guidelines). Największe ryzyko ekologiczne dla wód powierzchniowych powodował  $\gamma$ -HCH.

Zastosowanie programu SADA pozwoliło na: (i) zintegrowanie danych o wielkości i lokalizacji zanieczyszczeń, (ii) dostarczenie informacji o wielkości ryzyka ekologicznego dla zanieczyszczeń nienormowanych w rozporządzeniach, w tym izomerów związków chemicznych, (iii) wspomaganie innych narzędzi badawczych projektu w ocenie zanieczyszczenia wód podziemnych i powierzchniowych, (iv) wstępną identyfikację kluczowych źródeł zanieczyszczeń i substancji zanieczyszczających. Określono także udział ryzyka ekologicznego dla poszczególnych substancji w całkowitej wielkości ryzyka.

## Możliwości stosowania biotestów do oceny toksyczności cyjanotoksyn

ANNA SIEROSŁAWSKA

Katedra Fizjologii i Ekotoksykologii, Instytut Biotechnologii, Katolicki Uniwersytet Lubelski  
Jana Pawła II, ul. Konstantynów 1I, 20-708 Lublin

[ansie@kul.lublin.pl](mailto:ansie@kul.lublin.pl)

*Słowa kluczowe: mikrocystyna-LR, anatoksyna-a, cylindrospermopsyna, biotesty*

Sinicowe zakwity wód stanowią jeden z poważniejszych problemów, związanych z pogarszaniem się jakości wody w Polsce i na świecie. W trakcie masowych zakwitów cyjanobakterii, oprócz takich niekorzystnych zjawisk, jak deficyt tlenu w wodzie, jej zmętnienie i zmniejszenie przepuszczalności światła, co powoduje zmiany w strukturze ekosystemów wodnych, może również dochodzić do uwalniania toksycznych metabolitów wtórnych sinic, zwanych cyjanotoksynami. Na Lubelszczyźnie do najczęściej wykrywanych cyjanotoksyn należą mikrocystyny, wraz z najbardziej toksyczną mikrocystyną-LR (MC-LR) oraz anatoksyna-a (Antx-a). Równocześnie pojawiają się doniesienia o wykrywaniu w zbiornikach wodnych na terenie Polski innej silnej toksyny o działaniu hepatotoksycznym, cylindrospermopsyny (CYN).

W ostatnich latach coraz częściej podkreśla się znaczenie biotestów jako narzędzia uzupełniającego klasyczne metody oceny toksyczności wód. Testy oparte na organizmach żywych stanowią czułe i szybkie narzędzie pozwalające identyfikować próbki toksyczne, szczególnie przydatne do oceny siły działania mieszaniny różnych związków, co zwykle ma miejsce w przypadku próbek środowiskowych.

Celem pracy była ocena wrażliwości organizmów należących do różnych poziomów troficznych, stosowanych w komercyjnie dostępnych testach typu „toxkit”, w stosunku do trzech cyjanotoksyn: MC-LR, Antx-a i CYN. Cyjanotoksyny w postaci czystej stosowane były w stężeniach 4 – 0,25 µg/ml. W badaniach użyto następujących biotestów: Daphtoxkit F magna (*Daphnia magna*), Thamnotoxkit F (*Thamnocephalus platyurus*), Rotoxkit F (*Brachionus calyciflorus*) oraz Protoxkit F (*Tetrahymena thermophila*) (Microbiotests Inc., Belgia).

Wykazano zróżnicowaną wrażliwość organizmów testowych wobec użytych toksyn. W obecności MC-LR silne działanie toksyczne obserwowane było w testach Daphtoxkit oraz Thamnotoxkit, w mniejszym stopniu w teście Protoxkit. Efekty toksyczności Antx-a w

użytych stężeniach obserwowane były jedynie w przypadku *D. magna*, gdzie manifestowały się one zarówno niemożnością swobodnego pływania organizmów, jak i zwiększoną śmiertelnością. W przypadku CYN wrażliwymi organizmami okazały się *T. platyurus* i *T. thermophila*, natomiast małą wrażliwością cechowały się *D. magna* i *B. calyciflorus*. Najmniej czułym testem okazał się Rotoxkit, dla którego wartość 24hEC<sub>50</sub> wyniosła ponad 4 µg/ml w przypadku każdej z cyjanotoksyn.

Praca naukowa finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, Grant Nr N N304 306940.

## Zastosowanie systemu Microtox w bioindykacji próbek środowiskowych

AGNIESZKA TRUSZ-ZDYBEK\*, ANNA SZYMCZYCHA- MADEJA\*\*,  
KATARZYNA PIEKARSKA\*, TEODORA M. TRACZEWSKA\*

\*Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska, Wydział Inżynierii Środowiska

\*\*Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny  
Politechnika Wrocławska

Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

[agnieszka.trusz-zdybek@pwr.wroc.pl](mailto:agnieszka.trusz-zdybek@pwr.wroc.pl)

*słowa kluczowe: ścieki, gleba, napary roślinne, korzenie, mikrobiotesty, Vibrio fischeri*

Do powietrza, wód powierzchniowych i gleb dostaje się coraz więcej zanieczyszczeń ze źródeł antropogennych. Stąd związki chemiczne przedostają się do roślin, organizmów zwierzęcych i w końcu do organizmów ludzkich. Pełna analiza chemiczna zanieczyszczeń pojawiających się w środowisku przyrodniczym jest nierealna ze względu na złożoność ich składu oraz ze względu na wzajemne oddziaływania poszczególnych związków chemicznych w mieszaninie. Wykrycie oraz identyfikacja substancji w oparciu o analizę chemiczną jest również kosztowna i wymaga zastosowania nowoczesnych technik analitycznych. Ponadto, ze względu na to, iż nie wszystkie związki chemiczne zostały poznane lub występują w ilościach śladowych, znajdują się one poza możliwościami analitycznymi metod instrumentalnych. Analiza chemiczna nie może więc być podstawą do prognozowania biologicznych skutków jakie mogą zanieczyszczenia wywołać w stosunku do ludzi i zwierząt. Stąd też istnieje konieczność zastosowania w kontroli jakości środowiska naturalnego badań bioindykacyjnych obok metod analitycznych. Bioindykacja to znana i powszechnie stosowana metoda całkowitej oceny jakości wód, ścieków i gleby. W oparciu o testy bioindykacyjne można oceniać sumaryczną toksyczność lub genotoksyczność wszystkich substancji znajdujących się w określonej próbce. Jest to szczególnie istotne ponieważ związki te w wielu przypadkach działają synergistycznie.

Konwencjonalne testy prowadzone według krajowych lub międzynarodowych norm są skomplikowane, wymagają dużej przestrzeni laboratoryjnej i są czasochłonne. Konieczność badania wielu próbek środowiskowych w krótkim czasie doprowadziła do wzrostu zapotrzebowania na bardziej praktyczne i łatwe w wykonaniu metody pozwalające określić wpływ skażeń na organizmy żywe, a w dalszym etapie na stan całego ekosystemu. Wzrosło więc znaczenie szybkich zminiaturyzowanych testów toksyczności, zwanych

mikrobiotestami. Działają one w oparciu o organizmy jednokomórkowe lub małe wielokomórkowe, które w wyniku kontaktu z próbką wykazują specyficzną odpowiedź. Jednym z takich testów jest system Microtox. Jako bioindykator w teście tym stosowane są morskie bakterie luminescencyjne *Vibrio fischeri*, które są wysoce wrażliwe na wiele substancji toksycznych. Bakterie te, wytwarzają światło w zakresie widzialnym, jako efekt ich normalnych procesów metabolicznych. Jeśli pod wpływem badanej próbki następują zmiany metaboliczne zmienia się natężenie wytwarzanego światła. Zmiany te są wprost proporcjonalne do aktywności biologicznej próbki.

Celem pracy było przedstawienie przykładów zastosowań systemu Microtox w badaniach toksykologicznych próbek środowiskowych. Badaniom poddawano próbki ścieków, gleby oraz korzeni i naparów roślinnych. W analizach próbek posługiwano się testem skринingowym (przesiewowym) oraz testem podstawowym z rozcieńczeniami w celu wyznaczenia procentu efektu toksycznego oraz wartości EC50 (*ang. Effective Concentration*), czyli stężenia powodującego wystąpienie 50% reakcji testowej lub wartości NOEC (*ang. No Observed Effect Concnetration*), czyli najwyższego stężenia substancji toksycznej, przy którym nie obserwuje się niekorzystnego efektu jej działania. Wyniki analiz pozwoliły na oszacowanie potencjalnych zagrożeń zdrowia wynikających z skażenia środowiska naturalnego. Pozwoliły na określenie zakresu występowania skażeń poflotacyjnych i/lub wybrania miejsc, które muszą być poddane dalszym badaniom chemicznym bądź rekultywacji. Pokazały, że całkowita zawartość mikroskładników jak i makroskładników w glebie znacząco wpływa na toksyczność badanych próbek. Z kolei badania ścieków dopływających do oczyszczalni przyczyniły się do wyjaśnienia zaburzeń procesu sedymentacji osadu czynnego, spowodowanych obecnością w nich zarówno substancji toksycznych, jak i substancji powodujących zmiany napięcia powierzchniowego.

Bioindykacja to niezwykle użyteczna metoda analizy środowiska na podstawie reakcji układu żywego tzw. bioindykatora, pozwalająca na ocenę biologicznej aktywności badanej próbki.

Podsumowując, należy jednak stwierdzić, iż z uwagi na różne zakresy wrażliwości bioindykatorów przy analizie nieznanymi próbek zalecane jest stosowanie testów obejmujących organizmy należące do różnych poziomów troficznych badanego środowiska, począwszy od bakterii, glonów, pierwotniaków do skorupiaków i roślin wyższych.

## **System Microtox w ocenie toksyczności morskiej strefy przybrzeżnej**

DARIA JANKOWSKA, MARIA SKAURADSZUN, JOANNA MACJAK, ELŻBIETA NIEMIRYCZ

Zakład Chemii Morza i Ochrony Środowiska Morskiego  
Al. Marszałka Piłsudskiego 46 81-378 Gdynia;  
[daria.w.jankowska@gmail.com](mailto:daria.w.jankowska@gmail.com)

*Słowa kluczowe: Microtox<sup>®</sup>, TZO, dioksyne, Zatoka Gdańska*

Osady denne odgrywają bardzo ważną rolę w ekosystemach środowisk wodnych. Stanowią strefę, w której przez długi czas odkładane są różnego rodzaju substancje chemiczne (głównie lipofilne) w procesach sedymentacji i wytrącania. Nagromadzone w ten sposób związki mogą ponownie zostać włączone do obiegu poprzez naruszenie osadu (naturalne lub antropogeniczne). Ponieważ większość zanieczyszczeń antropogenicznych (np. pestycydy, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, polichlorowane dibenzo-p-dioksyne itp.) wykazuje tendencje do adsorpcji na cząstkach stałych, dochodzi do ich koncentracji w osadach dennych zbiorników wodnych. Zatem analiza toksyczności osadu dennego stanowić może miarę stopnia zanieczyszczenia danego rejonu, oraz wskazywać dalsze kierunki badań.

Celem prowadzonych badań była analiza toksyczności morskich osadów dennych Basenu Gdańskiego z użyciem systemu Microtox. Test ten wykorzystuje bioluminescencyjne bakterie *Vibrio fischeri* jako bioindykator. Poziom toksyczności mierzony jest za pomocą lumenometru, monitorującego intensywność emitowanego przez bakterie światła. Intensywność ta odzwierciedla szybkość, z jaką zachodzą złożone reakcje metaboliczne. Inhibicja jakiegokolwiek enzymu biorącego udział w tych reakcjach prowadzi do zmniejszenia ich szybkości oraz w rezultacie intensywności świecenia. W celach porównawczych analizie poddano również osady przybrzeżne z rejonu Morza Śródziemnego oraz Egejskiego.

Uzyskane wyniki potwierdziły hipotezy na temat intensywności sorpcji zanieczyszczeń na osadach o różnej granulometrii. Drobne cząstki osadów ilastych i mulistych zatrzymują większą ilość substancji chemicznych, co wyraża ich wyższa toksyczność w stosunku do osadów gruboziarnistych, jak piaski. Z tego też powodu osady przybrzeżne (do 100 m od brzegu) nie są toksyczne. Środkowa część Basenu Gdańskiego wykazuje różną toksyczność w zależności od lokalizacji, głębokości oraz granulometrii.

Najbardziej toksyczne osady wystąpiły w rejonie Głębi Gdańskiej, która stanowi specyficzną formę niecki, kumulującej związki pochodzenia antropogenicznego.

Wykazano również, że największa ilość zanieczyszczeń, wyrażona miarą toksyczności nie zawsze znajduje się w warstwie powierzchniowej osadu, ale często na głębokości poniżej 5cm. Świadczy to o zmniejszającym się dopływie substancji szkodliwych w ostatnich latach.

Prowadzone badania pozwoliły na wytypowanie miejsc, dla których konieczna jest analiza chemiczna pod kątem zawartości poszczególnych związków toksycznych (głównie z grupy Trwałych Zanieczyszczeń Organicznych).