

WYKORZYSTANIE BATERII BIOTESTÓW DO OCENY WPŁYWU ZRZUTÓW PRZEMYSŁOWYCH NA EKOSYSTEM WODNY RZEKI KŁODNICY

Aleksandra Zgórska^{1*}, Jan Bondaruk¹, Mariusz Dudziak²

¹ Główny Instytut Górnictwa, Plac Gwarków 1, 40-166 Katowice

² Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Politechnika Śląska, Konarskiego 18, 44-100 Gliwice

* Autor do korespondencji: azgorska@gig.eu

STRESZCZENIE

W celu oszacowania wpływu zanieczyszczeń antropogenicznych na ekosystemy wodne, dla rzeczywistych próbek środowiskowych przeprowadzono analizę ekotoksykologiczną. Badania bioindykacyjne wykonano dla próbek wód powierzchniowych pobranych w 10 wyznaczonych miejscach pomiarowych rz. Kłodnicy na odcinku od źródła – do ujścia Potoku Bielszowickiego. W ramach analizy ekotoksykologicznej zastosowano baterię biotestów, obejmującą testy na skorupiakach (*Daphnia magna*), bakteriach (*Vibrio fischerii*) oraz roślinach hydrofitowych (*Lemna minor*). Z przeprowadzonych badań wynika, że za wyjątkiem miejsc zlokalizowanych bezpośrednio za punktami zrzutu, próbki wód rzecznych nie wpływają negatywnie na organizmy testowe. Żadna z przeanalizowanych próbek wody nie wpłynęła na przeżywalność skorupiaków z gatunku *Daphnia magna*. Podobne wyniki uzyskano w teście MICROTOX[®] z wykorzystaniem bakterii bioluminescencyjnych *Vibrio fischerii*, w którym, w skutek stymulacji procesów metabolicznych u organizmów testowych odnotowano wystąpienie zjawiska hormezy. Osiem z dziesięciu przeanalizowanych próbek wody sklasyfikowano jako próbki nietoksyczne (Klasa I – brak ostrego zagrożenia). Z uwagi na wynik testu fitotoksyczności (inhibicja na poziomie 25% i 50%) dwie z dziesięciu przeanalizowanych próbek wód powierzchniowych sklasyfikowano jako próbki charakteryzujące się niewielkim ostrym zagrożeniem (Klasa II).

Słowa kluczowe: ekosystemy wodne, bateria biotestów, bioindykacja, ścieki przemysłowe, wody kopalniane

IMPACT OF INDUSTRIAL DISCHARGES ON AQUATIC ECOSYSTEMS OF KŁODNICA RIVER BASED ON THE RESULTS OF BIOASSAYS BATTERY

ABSTRACT

The main goal of the research was the assessment of the impact of industrial and municipal wastewater discharges on aquatic ecosystems of Kłodnica river. The conducted studies were based on bioindication methods. Within the ecotoxicological analyses the biotest battery was used. The scope of the analysis included determination of influence of anthropogenic pollutants present in Kłodnica river on growth of hydroponic plant (*Lemna minor*). Also the acute toxicity test using crustacean (*Daphnia magna*) and bioluminescence bacteria (*Vibrio fischerii*) were performed. Toxic effects were observed only during the phytotoxicity test in which the plant growth inhibition level exceed respectively 25% and 50%. During the research no other toxic effects of analysed river water samples was observed. The analysed samples did not affect the inhibition of metabolic process of bacteria *Vibrio fischerii*, on the contrary, the water high salinity stimulate it. During the MICROTOX[®] test the phenomenon of hormesis was observed.

Keywords: water ecosystems, biotest battery, bioindication, industrial wastewater, mine water

WSTĘP

Położenie rzeki Kłodnicy w obrębie silnie zurbanizowanych i uprzemysłowionych terenów konurbacji górnośląskiej, powoduje, że rzeka ta jest stale narażana na silne oddziaływanie antropogeniczne. Na skalę oddziaływania wpływa m.in. gęstość zaludnienia terenów zlokalizowanych w obrębie poszczególnych fragmentów jej zlewni, a także lokalizacja infrastruktury przemysłowej, ze szczególnym uwzględnieniem zakładów prowadzących eksploatację surowców mineralnych.

W górnej części jej biegu, w której zlokalizowane są największe miasta Górnośląsko-Zagłębiowskiej Metropolii (takie jak: Katowice, Bytom, Gliwice, Zabrze, Ruda Śląska, Świętochłowice) gęstość zaludnienia mieści się w przedziale 1700–4600 os./km² [Nocoń i in., 2006]. Tym samym, z uwagi na fakt, że w obrębie rzeki usytuowanych jest wiele miast, osiedli, a także zakładów przemysłowych, Kłodnica wykorzystywana jest jako odbiornik znacznej ilości ścieków przemysłowych i komunalnych, które wprowadzane są do niej bezpośrednio lub też za pośrednictwem jej dopływów (Jamna, Promna, Potok Bielszowicki, Czerniawka, Bytomka, Potok Chudowski, itd.). Z punktu widzenia oddziaływania przemysłu, najistotniejszym czynnikiem warunkującym fizykochemiczny charakter rzeki na tym odcinku jest fakt, że stanowi ona odbiornik silnie zasolonych wód pochodzących z odwodnienia funkcjonujących i zlikwidowanych kopalń węgla kamiennego [Czaja, 1999, Nocoń i in., 2006].

Problem stałego narażenia Kłodnicy na wpływ zanieczyszczeń jest szczególnie istotny w świetle wymogów, przed jakimi stoją państwa członkowskie UE w zakresie osiągnięcia dobrego stanu lub potencjału ekologicznego jednolitych części wód powierzchniowych. Polityka wodna UE koncentruje się na zintegrowanym systemie ochrony wód przed zanieczyszczeniami oraz wyznacza standardy jej jakości. W tej kwestii kluczową rolę pełni Ramowa Dyrektywa Wodna [Dyrektywa 2000/60/WE, 2000], w skrócie RDW, której zapisy transponowano do prawa polskiego m.in. poprzez zapisy ustawy Prawo wodne [Dz.U. 2017.1566]. Ustawa ta reguluje kwestie gospodarki wodami, a zwłaszcza kwestie kształtowania i ochrony zasobów naturalnych. W myśl powyższej ustawy zgodnie z wytycznymi RDW zabrania się wpro-

wadzenia do wód zanieczyszczeń, które mogą powodować zmiany w naturalnej, charakterystycznej dla tych wód biocenozie oraz doprowadzić do pogorszenia się ich stanu. Ponadto, zgodnie z zapisami prawa unijnego państwa członkowskie zobligowane są do identyfikacji zarówno punktowych jak i rozproszonych źródeł zanieczyszczeń, a także szacowania wielkości ich emisji. Zgodnie z zaleceniami RDW [Dyrektywa 2000/60/WE], ocena stanu wód dokonywana jest w oparciu o wartości wskaźników hydromorfologicznych i biologicznych przy uwzględnieniu wyników analizy fizykochemicznej.

Powyższe regulacje przyczyniły się do ugruntowania pozycji wskaźników biologicznych (bioindykatorów) w obszarze monitoringu środowiska. Analiza potencjalnych zagrożeń nie może bazować jedynie na wynikach ilościowej i jakościowej analizy fizykochemicznej, albowiem o ile na podstawie uzyskanych wartości można zidentyfikować źródło i skalę emisji, o tyle trudno jest na ich podstawie przewidywać reakcję żywych struktur (organizm, populacja czy biocenoza) narażonych na działanie zanieczyszczeń odprowadzanych do środowiska wodnego. Ponadto, oznaczenie pełnego spektrum związków zanieczyszczających wraz z ich metabolitami i produktami kometabolizmu, często z uwagi na ograniczenia analityczne i względy ekonomiczne jest nieuzasadnione. Tym samym kompleksowa ocena zagrożeń wywołanych depozycją zanieczyszczeń do środowiska wymaga zastosowania odpowiednich metod bioindykacyjnych, które bazując na reakcji organizmu żywego na działanie toksykanta umożliwiają oszacowanie skali realnego zagrożenia spowodowanego depozycją zanieczyszczeń do ekosystemów wodnych [Gupta i in., 2014].

Mając na uwadze rangę przedstawionego powyżej problemu, w celu zobrazowania skali zagrożenia, jakim jest odprowadzanie do rzek ścieków przemysłowych i komunalnych, w poniższej pracy oceniono potencjał ekotoksykologiczny próbek wód powierzchniowych pobranych na wybranym odcinku rzeki Kłodnicy. Na podstawie wyników analizy ekotoksykologicznej dokonano klasyfikacji próbek pod kątem ich toksyczności, a także wykazano zależność pomiędzy zrzutem ścieków przemysłowych, a reakcją organizmów narażonych na ich oddziaływanie.

METODYKA BADAŃ

Materiał do badań

Materiał wykorzystany w testach ekotoksykologicznych stanowiły próbki wód rzecznych pobranych na wybranym odcinku rzeki Kłodnicy (źródło – ujście Potoku Bielszowickiego). Wybór wskazanego odcinka rzeki, wynika z faktu, że jest to fragment rzeki usytuowany na silnie zurbanizowanym i uprzemysłowionym terenie, charakteryzującym się wysokim współczynnikiem zaludnienia. Jako punkty poboru prób wytypowane zostały miejsca zlokalizowane bezpośrednim sąsiedztwie miejsc odprowadzania do rzeki wód kopalnianych lub oczyszczonych ścieków komunalnych, a także pomiędzy dopływami mniejszych rzek do Kłodnicy. Szczegółowy wykaz punktów poboru wraz ze współrzędnymi geograficznymi miejsca umożliwiającymi jego dokładną identyfikację przedstawiono w tabeli 1. Na miejscu poboru próbek, przy użyciu sondy terenowej firmy YSI model EcoSesne® przeprowadzono analizę fizykochemiczną, obejmującą oznaczenie wybranych parametrów wody rzecznej, w tym: temperatury, odczynu, alkaliczności, zasolenia, przewodności elektrolitycznej właściwej (PEW), całkowitej zawartości związków rozpuszczonych (TDS), a także dokonano pomiaru temperatury otoczenia. Dodatkowo przy użyciu testu kolorymetrycznego MColortest™ firmy MERCK® oznaczono alkaliczność próbek wody rzecznej. Do chwili przeprowadzenia testów ekotoksykologicznych próbki wody przechowywane były w temperaturze 4 ± 2 °C.

Bateria biotestów

Z uwagi na charakter próbek środowiskowych analizę ekotoksykologiczną oparto na testach skriningowych, zalecanych w przypadku analizy próbek o niskiej toksyczności lub nietoksycznych, takich jak wody powierzchniowe i podziemne. Zasada testów opiera się na analizie toksyczności próbek nierozcieńczonych, dla których uzyskany efekt toksyczny, wyrażony w procentach (PE) odnosi się do wartości próby kontrolnej. Zasadę klasyfikacji toksyczności próbek opisano w dalszej części rozdziału. Ponadto, zgodnie z przyjętą praktyką, w celu oszacowania pełnego spektrum potencjalnych oddziaływań zanieczyszczeń obecnych w analizowanych próbkach wody na organizmy testowe, analizę ekotoksykologiczną przeprowadzono z wykorzystaniem baterii biotestów, obejmującej organizmy (bioindykatory), należące do różnych grup biologicznych, charakteryzujących się indywidualną wrażliwością. W ramach badań analizę ekotoksykologiczną przeprowadzono z wykorzystaniem baterii biotestów, składającej się z testu oceny fitotoksyczności, przeprowadzonego z wykorzystaniem roślin wodnych (*Lemna minor*), oraz testów oceny toksyczności ostrej z wykorzystaniem skorupiaków (*Daphnia magna*) oraz bakterii bioluminescencyjnych (*Vibrio fischeri*). Test fitotoksyczności przeprowadzono na podstawie zmodyfikowanej procedury opisanej w normie PN-EN ISO 20079:2006 [PN-EN ISO 20079:2006, 2006], godnej z wytycznymi OECD 221 [OECD 221, 2006]. Istotą testu była ocena inhibicji wzrostu roślin testowych (*Lemna*

Tabela 1. Charakterystyka miejsca poboru próbek wód powierzchniowych

Tabela 1. Sampling site characterization

Oznaczenie próbki	Charakterystyka miejsca poboru prób	Współrzędne geograficzne	
		X	Y
Pkt 1	Punkt poniżej zrzutu ze stacji benzynowej Katowice-Ligota	262410.09	497881.99
Pkt 2	Punkt powyżej zrzutu z OŚ w Panewnikach	262464.07	4495016.95
Pkt 3	Punkt poniżej zrzutem z OŚ w Panewnikach, powyżej zrzutu wód dołowych z KWK „Ruch Śląsk”	262445.95	494951.60
Pkt 4	Punkt poniżej zrzutu z KWK „Ruch Śląski”	262410.76	494766.39
Pkt 5	Punkt poniżej ujścia rz. Ślepiotki	262341.17	493626.69
Pkt 6	Punkt powyżej ujścia rz. Jamy do rz. Kłodnicy	262898.53	491122.01
Pkt 7	Punkt powyżej zrzutu wód dołowych z KWK „Halemba”	263293.15	490311.19
Pkt 8	Punkt powyżej zrzutu z COŚ Ruda Śl.	264236.35	487470.21
Pkt 9	Punkt poniżej zrzutu z COŚ Ruda Śl.	264278.55	486809.15
Pkt 10	Punkt poniżej ujścia Potoku Bielszowickiego i Chudowskiego, powyżej zrzutu z KWK „Sośnica-Makoszowy”	265630.04	482599.35

minor sp.), po 7 dniach ekspozycji na działanie badanych próbek środowiskowych. W ramach testu oceniono ubytek i/lub przyrost liczby listków, a także wzrost i/lub ubytek długości części korzeniowej roślin testowych. Zgodnie z procedurą dla każdej z próbek efekt toksyczny wyznaczono względem próbki kontrolnej i wyrażono jako procent inhibicji przyrostu liczby listków, a także procent zahamowania wzrostu długości części ryzosferycznej badanych roślin testowych. Test zahamowania mobilności *Daphnia magna* wykonany został wg obowiązującej normy [PN-EN ISO 6341:2013-04, 2013], zgodnie z procedurą OECD 202 [OECD 202, 2004]. Istotą testu była ocena stopnia immobilizacji młodych osobników *Daphnia magna* po 48 godzinnej ekspozycji na działanie badanych próbek środowiskowych. Zgodnie z procedurą dla każdej z próbek efekt toksyczny wyrażono jako procent unieruchomienia osobników testowych. Test toksyczności ostrej z wykorzystaniem bakterii bioluminescencyjnych *Vibrio fischeri* przeprowadzono przy użyciu systemu oceny toksyczności ostrej MICROTOX®, działającego w oparciu o standardowe metody ASTM (ASTM D-5660, 1995) i zgodnego m.in. z normami i standardami państw członkowskich UE (EN-ISO 1134-3:2007; DIN 38412-34:1997). Istotą testu był pomiar inhibicji luminescencji wybranych szczepów bakterii morskich *Vibrio fischeri*. Bioluminescencja u organizmów testowych jest efektem naturalnie zachodzących procesów metabolicznych, a jej spadek wywołany narażeniem organizmów testowych na działanie badanego medium jest wprost proporcjonalny do aktywności biologicznej próbki. Badania prze-

prowadzono w oparciu o procedurę Screening Test 81,9. Dla analizowanych próbek wód powierzchniowych, przy użyciu oprogramowania MicxrotoxOmni™ Software, określono procent inhibicji bioluminescencji.

System klasyfikacji zagrożeń względem naturalnych ekosystemów wodnych

Klasyfikacji toksyczności badanych próbek dokonano w oparciu o system dedykowany nierozcieńczonym próbkom środowiskowym, opracowany przez Persoone i współpracowników [Persoone i in., 2003]. Zgodnie z przyjętą metodyką, na podstawie wyników wszystkich testów ekotoksykologicznych, wyrażonych w postaci procentu uzyskanego efektu toksycznego (PE), dla każdej z analizowanych próbek przyjmuje się odpowiednią klasę zagrożenia. Przykładowo, jeżeli we wszystkich testach uzyskany efekt toksyczny względem próby kontrolnej nie przekroczył wartości 20% uznaje się, że próbka jest nietoksyczna. Założenia systemu klasyfikacji na podstawie których dokonano kategoryzacji zagrożeń przedstawiono w tabeli 2 [Persoone i in., 2003, Nałęcz-Jawecki, 2003].

Dodatkowo, w celu zróżnicowania analizowanych próbek w obrębie każdej klasy, dla wszystkich próbek obliczono wagi toksyczności, które wyrażono w postaci wartości liczbowych, co umożliwiło wzajemne porównywanie toksyczności poszczególnych próbek. W celu obliczenia wag toksyczności, każdemu procentowi efektu toksycznego przypisano wartość liczbowa (WS) zgodnie z tabelą 3 [Nałęcz-Jawecki, 2003]. Na-

Tabela 2. System klasyfikacji zagrożeń w stosunku do wód naturalnych zaproponowany przez Persoone i współpracowników [Persoone i in., 2003]

Table 2. Hazard classification system for natural waters proposed by Persoone [Persoone et al., 2003]

PE	Charakterystyka	Klasa zagrożenia	Charakterystyka zagrożenia	Symbol
≤20%	w żadnym z testów nie uzyskano efektu (wyniku) znacząco różnego* od wartości dla próbki kontrolnej	Klasa I	brak ostrego zagrożenia	☺
20% < PE ≤ 50%	w co najmniej jednym teście uzyskano efekt toksyczny (wynik) <50%, istotnie różny* od wartości dla próbki kontrolnej	Klasa II	niewielkie ostre zagrożenie	☹
50% < PE < 100%	w co najmniej jednym teście uzyskano efekt toksyczny (wynik) ≥50%, jednak <100%	Klasa III	ostre zagrożenia	☠
PE 100% co najmniej w jednym teście	w co najmniej jednym teście uzyskano efekt toksyczny (wynik) na poziomie 100%	Klasa IV	wysokie ostre zagrożenie	☠☠
PE 100% we wszystkich testach	efekt toksyczny (wynik) równy 100% uzyskano we wszystkich testach	Klasa V	bardzo wysokie ostre zagrożenie	☠☠☠

* Wynik istotny statystycznie względem próby kontrolnej.

Tabela 3. Metodyka wyznaczania wagi wyniku poszczególnych testów ekotoksykologicznych wchodzących w skład baterii biotestów [Persoone i in., 2003]

Table 3. Calculation of weight score based on methodology developed by Persoone [Persoone et al., 2003]

Waga wyniku	Efekt toksyczny stanowiący podstawę do wyznaczenia wagi testu
0	Brak znaczącego* efektu toksycznego PE≤20%
1	Znaczący efekt toksyczny, 20%<PE ≤50%
2	Efekt toksyczny w przedziale: 50%<PE<100%
3	Efekt toksyczny: PE=100%

* Wynik istotny statystycznie względem próby kontrolnej.

stępnie obliczono wagę w ramach klasy zgodnie z poniższym wzorem:

$$WAGA = \frac{\sum WS}{n}$$

gdzie: $WAGA$ – waga toksyczności próbki,
 $\sum WS$ – suma wartości WS wszystkich zastosowanych testów ekotoksykologicznych,
 n – liczba zastosowanych testów ekotoksykologicznych.

Dla każdej z analizowanych próbek wagę toksyczności wyrażono w postaci wartości procentowej:

$$WAGA [\%] = \frac{WAGA}{maxWS} 100\%$$

gdzie: $maxWS$ – maksymalna wartość WS dla danej klasy.

WYNIKI I Dyskusja

Wyniki analizy fizykochemicznej zestawiono w tabeli 4. Przedstawione dane wyraźnie wskazują na istnienie zależności pomiędzy wartościami wybranych wskaźników zanieczyszczeń, uzyskanymi w trakcie przeprowadzonej *in situ* analizy

fizykochemicznej, a lokalizacją punktów poboru prób. W ramach badań zaobserwowano wzrost wybranych wskaźników zanieczyszczeń w punktach poboru zlokalizowanych bezpośrednio poniżej punktów odprowadzania do rzeki ścieków przemysłowych, głównie zasolonych wód dołowych pochodzących z odwadniania kopalń węgla kamiennego (KWK „Ruch Śląsk”, KWK „Halemba”), a także ścieków odprowadzanych z komunalnych oczyszczalni ścieków (OŚ Ruda Śląska-Halemba, OŚ Katowice-Panewniki). Od pkt pomiarowego nr 3 zaobserwować można wyraźny wzrost temperatury względem wartości uzyskanej w górnym biegu rzeki (pkt 1), spowodowany odprowadzeniem do rz. Kłodnicy odpowiednio: oczyszczonych ścieków z OŚ Katowice-Panewniki (zrzut pomiędzy pkt 2 i 3), oraz wód dołowych z KWK „Ruch Śląsk” (zrzut ścieków pomiędzy pkt. 3 i 4) i KWK „Halemba” (zrzut pomiędzy pkt 7 i 8), a także wprowadzeniem do rz. Kłodnicy ścieków oczyszczonych z OŚ Ruda Śląska-Halemba (zrzut za pkt 8).

Najwyraźniej wpływ wód kopalnianych na parametry fizykochemiczne wód rzecznych zaobserwować można analizując wzrost wartości

Tabela 4. Wyniki analizy fizykochemicznej próbek wody rzecznej

Table 4. The results of physico-chemical analysis of river water samples

Oznaczenie próbki	Temperatura		PEW [ms/cm]	TDS [g/l]	Zasolenie [ppt]	pH [-]	Alkaliczność [mmol/l]
	powietrza [°C]	wody [°C]					
Pkt 1	20,0	15,4	0,62	0,38	0,3	6,88	3
Pkt 2	20,0	13,0	6,164	0,74	0,6	7,34	3,5
Pkt 3	20,0	18,5	0,83	0,5	0,4	7,1	3,0
Pkt 4	22,0	19,3	6,27	3,94	3,4	6,57	3,5
Pkt 5	20,0	17,0	8,34	5,24	4,7	7,26	3,8
Pkt 6	25,0	18,5	6,52	4,1	3,6	6,26	3,5
Pkt 7	27,0	18,1	4,36	2,74	2,3	6,59	3,3
Pkt 8	27,0	20,4	13,57	8,55	7,8	7,08	6,5
Pkt 9	26,0	20,4	12,7	7,98	7,3	6,66	6,2
Pkt 10	26,0	21,0	9,22	5,81	5,2	7,44	7,2

substancji rozpuszczonych (TDS) oraz przewodności w punktach pomiarowych zlokalizowanych za zrzutami z odwadnianych kopalń (pkt 4 i 8). Zawartość substancji rozpuszczonych w pkt 4 (TDS 3,94 g/l) przekroczyła ponad siedmio- i czterokrotnie wartości graniczne wskaźników jakości wody właściwe odpowiednio dla Klasy I i II. Przewodność elektrolityczna właściwa (PEW) w tym punkcie, względem wartości określonych rozporządzeniem przekroczona została odpowiednio sześć- (klasa I) i czterokrotnie (klasa II) [Dz.U. 2016.1187]. W punkcie pomiarowym nr 8, względem wartości granicznych dla I i II klasy jakości wód, wartość PEW przekroczona została odpowiednio trzynasto- i dziewięciokrotnie, a zawartość substancji rozpuszczonych ponad siedemnasto- i dziesięciokrotnie.

Negatywny wpływ zasolenia na stan ekosystemów wodnych, był przedmiotem m.in. pracy Belmera [Belmer i in., 2014], który wykazywał jak utrzymujący się w całym przekroju rzeczonym wysoki poziom zasolenia wpływa negatywnie na zasiedlający ekosystem organizmy wodne. W dyskusji pracy autor powołuje się na wytyczne ANZECC [ANZECC, 2000], w których ustalony i rekomendowany poziom zasolenia zapewniający ochronne ekosystemów wynosi 350 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Ponadto w pracy autor zwraca uwagę na wpływ temperatury na stabilność funkcjonowania ekosystemów wodnych, dla której nie określono granicznych progów toksyczności. Autor wtórnie powołuje się na wytyczne ANZECC [ANZECC, 2000], zalecające wyznaczanie wartości progowych temperatury z uwzględnieniem warunków

lokalnych. Zgodnie z przedstawioną w dokumencie procedurą zaleca się, aby jako graniczną, niewywołującą negatywnych skutków środowiskowych wartość temperatury, przyjęć 80-ty percentyl referencyjnej wartości temperatury dla rzeki w punkcie oznaczenia [ANZECC, 2000, Belmer i in., 2014]. Negatywny wpływ wód kopalnianych na ekosystemy wodne stał się również przedmiotem prac autorstwa Belmera, Gupty, Lee i Ruales-Inzunzy, którzy dowiedli, że wysokie zasolenie wód kopalnianych, a także obecność w nich metali ciężkich warunkuje ich wysoki potencjał ekotoksykologiczny [Belmer, 2014, Gupta, 2014, Lee i in., 2015, Ruales-Inzunza i in., 2011]. Jednak pomimo wysokich wartości zanieczyszczeń utrzymujących się w próbkach wody rzecznej, dla przeważającej liczby próbek, wyniki analizy ekotoksykologicznej wykazały brak zagrożenia względem narażonych na ich działanie organizmów wodnych (tabela 5).

Z przeprowadzonych badań wynika, że analizowane próbki nie wywołują efektów toksycznych u skorupiaków słodkowodnych z gatunku *Daphnia magna*. Zależność pomiędzy generowanym efektem toksycznym, a zrzutem ścieków odnaleźć można jedynie w przypadku wyników uzyskanych dla pkt pomiarowych nr 2 i 4, dla których w teście fitotoksyczności odnotowane wartości inhibicji wzrostu wyniosły odpowiednio 50% (inhibicja wzrostu roślin – pkt pomiarowy nr 2) oraz 25% (inhibicja wzrostu części ryzosferycznej roślin testowych – pkt pomiarowy nr 4). Dodatkowo, niemalże wszystkie analizowane próbki wody wpłynęły na stymulacje wzro-

Tabela 5. Zastosowanie systemu punktacji zagrożenie dla wód rzeki Kłodnicy stwarzanych m.in. przez użytkowników przemysłowych

Table 5. Application of the hazard scoring system to Kłodnica river waters

Oznaczenie próbki	Procentowy efekt toksyczny uzyskany w testach ekotoksykologicznych, PE [%]					Klasa zagrożenia	Waga toksyczności	
	<i>Vibrio fischeri</i>		<i>Lemna minor sp.</i>		<i>Daphnia magna</i>		[-]	[%]
	5 min	15 min	liście	korzeń				
Pkt 1	-12,8	-16,9	0,0	-122,2	0,0	Klasa I	-	-
Pkt 2	-11,7	-20,5	0,0	50,0	0,0	Klasa II	0,33	33,0
Pkt 3	-19,4	-25,1	0,0	-33,3	0,0	Klasa I	-	-
Pkt 4	-30,4	-37,9	25,0	-127,8	0,0	Klasa II	0,33	33,0
Pkt 5	-3,6	-11,5	0,0	-72,2	0,0	Klasa I	-	-
Pkt 6	-0,6	-7,5	-25,0	-300,0	0,0	Klasa I	-	-
Pkt 7	-17,2	-30,0	0,0	-127,8	0,0	Klasa I	-	-
Pkt 8	-7,3	-13,8	0,0	-155,6	0,0	Klasa I	-	-
Pkt 9	-36,3	-51,0	0,0	-72,2	0,0	Klasa I	-	-
Pkt 10	-9,2	-22,7	-25,	-155,6	0,0	Klasa I	-	-

stu części ryzosferycznej roślin testowych *Lema minor* (przyrost części korzeniowej w przedziale od 33% do 300%). Analizowane próbki nie wpłynęły ponadto na zahamowanie bioluminescencji bakterii *Vibrio fischeri*.

Wyniki przeprowadzonego testu zarówno po 5 jak i 15 min ekspozycji wskazują, że badane próbki wpływają na stymulację naturalnych procesów metabolicznych zachodzących w komórkach bakteryjnych, potęgując zjawisko bioluminescencji. Szczególne nasilenie tego zjawiska zaobserwowano w pkt pomiarowych zlokalizowanych bezpośrednio za zrzutem wód kopalnianych (pkt 4, 8 i 9). Zjawisko stymulacji bioluminescencji wskutek działania toksykanta, określane przez wielu badaczy jako efekt hormezy, wywołane może być m.in. na skutek inicjowanych w komórkach bakteryjnych procesów kompensacyjnych. Zjawisko hormezy obserwowane jest na ogół w strefie niskich dawek toksykanta, poniżej tradycyjnego progu toksyczności i może wynikać z nadmiernej rekompensaty po początkowym zakłóceniu homeostazy [Calabrese, 2015]. Jednak w przypadku analizowanych próbek szczególną uwagę należy zwrócić na mechanizm odpowiedzialny za samo zjawisko bioluminescencji. Aktywatorami procesu są głównie jony sodowe (Na^+), potasowe (K^+) i jony magnezowe (Mg^{2+}) [Dizer i in., 2002].

Zgodnie z danymi literaturowymi, wysokie stężenie jonów potasu odgrywa kluczową rolę w procesie transkrypcji genu odpowiedzialnego za fluoryzację u bakterii *P. phosphoreum* i może zostać osiągnięte wysokim stężeniem jonów sodowych przy udziale enzymów białkowych (pompy sodowo-potasowej ATP-aza Na^+/K^+) uczestniczącej w aktywnym transporcie kationów sodu i potasu [Watanabe i in., 1991a, Watanabe i in., 1991b]. Tym samym, stymulacja bioluminescencji na skutek ekspozycji bakterii bioluminescencyjnych na działanie badanych próbek, jest najprawdopodobniej wynikiem ich wysokiego zasolenia na skutek odprowadzania do rzeki wód kopalnianych. Tym samym, o ile wyniki testu z wykorzystaniem *Vibrio fischeri* wskazują na nietoksyczny charakter próbek środowiskowych, o tyle nadmierna stymulacja bioluminescencji dowodzi że, charakter zanieczyszczeń, determinowany składem fizykochemicznym próbek, wpływa na zaburzenie gospodarki jonowej u organizmów testowych.

Wyniki uzyskane w teście MICROTOX[®], potwierdzają tym samym, że jest to bardzo czuła metoda umożliwiająca niemal natychmiastową

ocenę potencjalnych szkód środowiskowych wywołanych odprowadzeniem do ekosystemów wodnych zanieczyszczeń pochodzenia antropogenicznego. Skuteczność stosowania tej metody w badaniach jakości wód powierzchniowych opisana została szeroko w literaturze [Ocampo-Duque i in., 2008, Zadorozhnaya i in., 2015]. Zgodnie z przyjętą metodyką większość analizowanych próbek wód rzeki Kłodnicy sklasyfikowano jako próbki charakteryzujące się brakiem ostrego zagrożenia względem ekosystemów wodnych (Klasa I). W dwóch na dziesięć analizowanych punktach poboru, zlokalizowanych bezpośrednio za miejscem odprowadzania do rzeki odpowiednio: oczyszczonych ścieków komunalnych (pkt 2) oraz dołowych wód kopalnianych (pkt 4), wyniki uzyskane w testach toksykologicznych wpłynęły za klasyfikację wód jako próbek charakteryzujących się niewielkim ostrym zagrożeniem (Klasa II).

WNIOSKI

Podwyższone parametry wybranych wskaźników zanieczyszczeń, uzyskane w trakcie analizy fizykochemicznej przeprowadzonej *in situ*, potwierdzają negatywny wpływ działalności przemysłowej na stan fizykochemiczny rzeki. Zaskakującym pozostaje jednak fakt, że wyniki analizy ekotoksykologicznej nie potwierdzają w pełni powyższej tezy. Negatywne efekty ekotoksykologiczne w postaci inhibicji wzrostu odnotowano jedynie w teście fitotoksyczności, dla dwóch z dziesięciu punktów poboru wody rzecznej. Na uwagę zasługuje jednak fakt, że o ile brak jest zależności pomiędzy wzrostem stężeń wybranych zanieczyszczeń, a uzyskaną w teście toksycznością próby, o tyle wyraźnie odnaleźć można zależność pomiędzy wzrostem aktywności metabolicznej u bakterii *Vibrio fischeri*, a zasoleniem analizowanych próbek. Przez wielu badaczy stymulacja bioluminescencji, generowana m.in. podwyższonymi stężeniami jonów sodu (Na^+) i potasu (K^+), obecnymi w analizowanych próbkach w wysokich stężeniach głównie w postaci chlorków sodowych i potasowych (NaCl , KCl), nie jest rozpatrywana w kategoriach toksyczności próbek. Jednak korelacja pomiędzy wzrostem efektu bioluminescencji, a punktami poboru próbek wody zlokalizowanymi w bezpośrednim sąsiedztwie zrzutu wód kopalnianych, dowodzi, że w ocenianym środowisku doszło do zaburzeń

stanu chemicznego, w skutek których inicjowane są procesy metaboliczne w komórkach bakteryjnych. O ile analiza ekotoksykologiczna nie wykazała toksyczności analizowanych próbek, o tyle jej wyniki dowodzą, że w ekosystemie zachodzą zmiany, które przy dłuższym czasie ekspozycji (np. w testach toksyczności chronicznej) mogą już generować efekty toksyczne. Reasumując, rzeka Kłodnica należy do jednolitych części wód powierzchniowych dla której z uwagi na zły stan zastosowano derogacje, czyli odstępstwa czasowe w zakresie uzyskania określonych w ramowej Dyrektywie Wodnej [Dyrektywa 2000/60/WE] celów środowiskowych [GIG, 2014]. Tym samym osiągnięcie dobrego stanu wód tej rzeki musi nastąpić do końca roku 2021. W świetle powyższych ustaleń, regulacja gospodarki zlewniowej, ze szczególnym uwzględnieniem aspektów związanych z całkowitą eliminacją lub ograniczeniem źródeł zanieczyszczeń oraz wdrożenie systemu zapewniającego zarządzanie zrzutem jest kluczowym elementem zapewniającym poprawę i ochronę ekosystemów wodnych.

Podziękowania

Publikacja powstała w ramach pracy statutowej o nr SN/102/2015 realizowanej w Zakładzie Ochrony Wód, Głównego Instytutu Górnictwa w Katowicach. Autorzy publikacji pragną złożyć podziękowania Ministerstwu Nauki i Szkolnictwa Wyższego za współfinansowanie badań realizowanych w ramach powyższej pracy.

BIBLIOGRAFIA

1. ANZECC, 2000. Australian and New Zealand guidelines for fresh and marine waters. National Water Quality Management Strategy Paper No.4 Australian and New Zealand Environmental and Conservation Council. Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand, Canberra.
2. Belmer N., Tippler C., Davies P.J., Wright I.A., 2014. Impact of a coal mine water discharges on water quality and aquatic ecosystem in the Blue Mountains World Heritage area.
3. Calabrese E.J., 2015. Hormesis: principles and applications, Homeopat, 104, 69-82.
4. Czaja S., 1999. Zmiany stosunków wodnych w warunkach silnej antropopresji (na przykładzie konurbacji katowickiej). Wydawnictwo UŚ, Katowice 1999.
5. Dizer H., Wittekindt E., Fischer B., Hansen P.-D., 2002. The cytotoxic and genotoxic potential of surface water and wastewater effluents as determined by bioluminescence, umu-assays and selected biomarkers. Chemosphere 46, 225-233.
6. Dyrektywa 2000/60/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 października 2000 r. ustanawiająca ramy wspólnotowego działania w dziedzinie polityki wodnej (Ramowa Dyrektywa Wodna).
7. Dz.U. 20171566. Ustawa z dn. 20 lipca 2017 r. Prawo wodne.
8. Dz.U.2016.1187. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 21 lipca 2016 r. w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych oraz środowiskowych norm jakości dla substancji priorytetowych.
9. GIG, 2014. Ocena ryzyka nieosiągnięcia celów środowiskowych przez jednolite części wód wraz z analizą konieczności zastosowania derogacji na obszarze działania RZGW. Główny Instytut Górnictwa, Katowice, 2014.
10. Gupta S.K., Chabukdhara M., Kumar P., Singh J., 2014. Evaluation of ecological risk of metal contamination in river Gomti, India: A biomonitoring approach. Ecotoxicology and Environment Safety 110, 49-55.
11. Lee S.-H., Kim I., Kim K.-W., Lee B.-T., 2015. Ecological assessment of coal mine and metal mine drainage in South Korea using *Daphnia magna* bioassay. SpringerPlus, 4:518. DOI10.1186/s40064-015-1311-1.
12. Nałęcz-Jawecki G., 2003. Badanie toksyczności środowiska wodnego metoda bioindykacji. Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie nr 2.
13. Nocoń W., Kostecki M., Kozłowski J., 2006. Charakterystyka hydrochemiczna rzeki Kłodnicy. Ochrona Środowiska, 2006, 3, 39-44.
14. Ocampo-Duque W., Sierra J., Ferré-Huguet N., Schuhmacher M., Domingo J.L., 2008. Estimating the environmental impact of micro-pollutant in the low Ebro River (Spain): An approach based on screening toxicity with *Vibrio fischeri*. Chemosphere, 72, 715-721.
15. OECD 202, 2004. OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Test № 202 *Daphnia* sp. Acute Immobilisation test.
16. OECD 221, 2006. OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Test № 221 *Lemna* sp. Growth Inhibition test.
17. Persoone G., Marsalek B., Blinova I., Törökne A., Zarina D., Manusadzianas L., Nalecz-Jawecki G., Tofan L., Stepanova N., Tothola L., Kolar B., 2003. A Practical and User-Friendly Toxicity Clas-

- sification System with Microbiotests for Natural Waters and Wastewaters. Wiley Interscience, DOI 10.1002/tox.10141.
18. PN-EN ISO 20079: 2006, 2006. Jakość wody. Oznaczanie toksycznego wpływu składników wodnych i ścieków na rzęsę wodną (*Lemna minor*). Test hamowania wzrostu rzęsy wodnej.
 19. PN-EN ISO 6341:2013-04, 2013. Jakość wody. Oznaczenia hamowania mobilności *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Test toksyczności ostrej.
 20. Ruales-Inzunza J., Green-Ruiz C., Zavala-Navárez M., Soto-Jiménez M., 2011. Biomonitoring of Cd, Cr, Hg and Pb in the Baluarte River basin associated to a mining area (NW Mexico). *Science of Total Environment* 409, 3527-3536.
 21. Watanabe H., Inabe H., Hasting J.W., 1991a. Effects of aldehyde and internal ions on bioluminescence expression of *P. phosphorum*. *Archives of Microbiology*, 156, 1-4.
 22. Watanabe H., Inabe H., Hasting J.W., 1991b. Osmoregulation of bioluminescence expression of *P. phosphorum* is related to gyrase activity. In: Stanley P.E., Kricka L.J. (Eds.), *Bioluminescence and Chemiluminescence Current Status*. Wiley, Chichester, UK, 43-46.
 23. Zadorozhnaya O., Kirsanov D., Buzhinsky I., Tsarev F., Abramova N., Bratov A., Muñoz F.J., Bori J., Riva M.C., Legin A., 2015. Water pollution monitoring by an artificial sensory system performing in terms of *Vibrio fischeri* bacteria. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 207, 1069-1075.