

III Krajowe Warsztaty Ekotoksykologiczne

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

Łódź, 11-12 kwietnia 2013

Streszczenia posterów

Organizatorzy



Gdański Uniwersytet Medyczny
Zakład Toksykologii Środowiska



Europejskie Regionalne Centrum
Ekohydrologii pod auspicjami UNESCO



Instytut Uprawy
Nawożenia i Gleboznawstwa

Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy



TIGRET Sp. z o.o.



The EU project PROFICIENCY (FP7-REGPOT-2009-1-245751)

„Strengthen IUNG’s proficiency on Managing the Production of Food and Feedstuff, their Safety and Quality under Global Climatic Change”



Patronat medialny



Spis posterów:

1. **Toksyczność i fototoksyczność sulfonamidów dla rzęsy drobnej *Lemna minor*** - DROBNIĘWSKA A., KAPŁAN M., WÓJCIK D., ADOMAS B., PIOTROWICZ-CIEŚLAK A., NAŁĘCZ-JAWECKI G. 3
2. **Zastosowanie testu mikrojądrowego do oceny genotoksyczności wybranych farmaceutyków weterynaryjnych** – KALKA J., MARCIOCHA D., SURMACZ-GÓRSKA J. 4
3. **Zastosowanie metod immunoenzymatycznych (ELISA) dla oceny zanieczyszczenia środowiska glebowego związkami PCB** - URBANIAK M. 5
4. **Wykorzystanie testu Phytotoxkit™ w ocenie toksyczności gleb o różnym sposobie ich użytkowania** - BARAN A., WIECZOREK J. 7
5. **Zastosowanie testu Phytotoxkit™ i Microtox® w ocenie toksyczności osadów dennych zbiornika w Zesławicach (woj. małopolskie)** - BARAN A., TARNAWSKI M. 8
6. **Zastosowanie drożdży i *Daphnia magna* do oceny ekotoksyczności azoksystrobiny i karbendazymu** - STASIULEWICZ-PALUCH A.D., KUCHARSKA K., BOROWSKA J., WACHOWSKA U. 9
7. **Dafnie w ocenie toksyczności detergentów** – BACIAK M., SIKORSKI Ł., DOBIESZ M., ZIÓLKOWSKA A., PIOTROWICZ-CIEŚLAK A. I., ADOMAS B. 10
8. **Bateria biotestów w ocenie toksyczności glifosatu** – SIKORSKI Ł., BACIAK M., PIOTROWICZ-CIEŚLAK A. I., ADOMAS B. 11
9. **Lemna Test w ocenie działania fluorochinolonów w środowisku wodnym** – BACIAK M., SIKORSKI Ł., DOBIESZ M., ZIÓLKOWSKA A., PIOTROWICZ-CIEŚLAK A. I., ADOMAS B. 13
10. **Genotoksyczne i proapoptotyczne oddziaływanie cyjanotoksyn na komórki karpia (*Cyprinus carpio* L.)** – SIEROSŁAWSKA A., RYMUSZKA A. 14
11. **Cylindrospermopsyna w wodach Lubelszczyzny** – SIEROSŁAWSKA A., SŁOWIKOWSKA E., RYMUSZKA A. 15
12. **Zastosowanie biotestu *Microtox*® do oceny toksyczności ścieków na kolejnych etapach oczyszczania w Grupowej Oczyszczalni Ścieków „Dębogórze”** – RATAJCZYK W., CIESZYŃSKA M., SZYCHOWSKA K., WOLSKA L. 17

Toksyczność i fototoksyczność sulfonamidów dla rzęsy drobnej *Lemna minor*

DROBNIIEWSKA A.¹, KAPŁAN M.¹, WÓJCIK D.¹, ADOMAS B.², PIOTROWICZ-CIEŚLAK A.³, NAŁECZ-JAWECKI G.¹

1 - Zakład Badania Środowiska, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

2 – Katedra Toksykologii Środowiska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

3 - Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

agata.drobniewska@wum.edu.pl

Sulfonamidy (SNs) należą do grupy leków bakteriostatycznych szeroko stosowanych w medycynie weterynaryjnej, w tym także w akwakulturze (Baran i in. 2011). Związki te są słabo metabolizowane i w większości są wydalane w postaci niezmienionej. Według doniesień literatury ze względu na swoją trwałość (foto i termostabilność) mogą one pozostawać w środowisku (w wodzie, w glebie, w osadach) przez bardzo długi czas (García-Galán i in. 2008). Jednocześnie znajomość potencjalnych skutków SNs na środowisko jest bardzo ograniczona, a najnowsze badania zajmują się głównie toksycznością ostrą (Białk-Bielińska i in. 2011). Tymczasem konsekwencje toksyczności podostrej mogą mieć znacznie większe znaczenie środowiskowe, niż toksyczność ostra.

Z piśmiennictwa światowego wynika, że SNs mają wysoką aktywność biologiczną wobec roślin. *Lemna minor* będąc istotnym źródłem żywności dla wielu ryb i ptaków (zwłaszcza kaczek) odgrywa ważną rolę w ekosystemach wodnych. Jednocześnie coraz częściej jest ona wykorzystywana w biomonitoringu do oceny jakości wody.

Głównym celem badania była ocena toksyczności i fototoksyczności sulfonamidów dla rzęsy drobnej *Lemna minor*. W prezentowanych badaniach *Lemna minor* posłużyła jako organizm modelowy. Test mikropłytkowy przeprowadzono zgodnie z normą ISO ze zmianami wprowadzonymi w Zakładzie Badania Środowiska. Parametrami obserwowanymi były: liczba i powierzchnia frondów, zawartość chlorofili, aktywność enzymów oksydacyjnych. Jednocześnie monitorowane było stężenie sulfonamidów z wykorzystaniem HPLC-DAD.

Badania wykazały dużą toksyczność SNs w stosunku do rzęsy drobnej. Jednocześnie stwierdzono nieproporcjonalne obniżenie toksyczności badanych związków poddanych wcześniej działaniu promieniowania symulującego promieniowanie słoneczne w stosunku do zaobserwowanego spadku stężenia SNs.

Literatura:

Baran W., Adamek E., Ziemiańska J., Sobczak A. 2011. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health *Journal of Hazardous Materials* 196: 1– 15.

Białk-Bielińska, A., Stolte, S., Arning, J., Uebers, U., Boschen, A., Stepnowski, P., Matzke, M. 2011. Ecotoxicity evaluation of selected sulfonamides. *Chemosphere* 85: 928-933.

García-Galán, M.J., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D. 2008. Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics. *Trends Anal. Chem.* 27: 1008–1022.

Badania finansowane z projektu: Nr. 2011/01/B/NZ9/02646. Wykorzystanie roślin w ocenie środowiska zanieczyszczonego lekami weterynaryjnymi.

Zastosowanie testu mikrojądrowego do oceny genotoksyczności wybranych farmaceutyków weterynaryjnych

J. KALKA, D. MARCIOCHA, J. SURMACZ-GÓRSKA

Katedra Biotechnologii Środowiskowej, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki
Politechnika Śląska

e-mail: joanna.kalka@polsl.pl

Słowa kluczowe: farmaceutyki weterynaryjne, test mikrojądrowy, genotoksyczność

Test mikrojądrowy zaliczany jest do tzw. testów krótkoterminowych badania genotoksyczności. Jest on stosowany do wykrywania strukturalnych aberracji chromosomowych w postaci złamania chromosomów, co związane jest z powstawaniem mikrojąder. Test mikrojądrowy wykorzystano do oceny genotoksyczności dwóch farmaceutyków weterynaryjnych – albendazolu i levamisolu. Jako miarę genotoksycznego działania preparatów farmaceutycznych przyjęto częstość występowania mikrojąder oraz pomiar indeksu mitotycznego. Roślinami wykorzystanymi do testu był owies oraz bób.

Podczas badań prowadzonych z wykorzystaniem komórek korzeni bobu i owsa zaobserwowano obniżenie wartości indeksu mitotycznego wraz ze wzrostem stężenia badanych farmaceutyków. Większe zahamowanie podziałów komórkowych występowało przy ekspozycji bobu na działanie albendazolu, jednak w przypadku obydwu leków możliwe było wyznaczenie zależności efektu od dawki. Także częstość występowania mikrojąder w komórkach korzeni bobu i owsa rosła wraz ze wzrostem stężenia leków.

Dodatkowo przeprowadzono tzw. recovery test, podczas którego korzenie uprzednio narażone na działanie leków zostały przeniesione do podłoża nie zawierającego farmaceutyku. Preparaty sporządzane po regeneracji korzenia charakteryzowały się większą wartością indeksu mitotycznego oraz mniejszą częstością występowania mikrojąder niż preparaty roślin narażonych na farmaceutyki; wciąż jednak obserwowano istotne różnice, w stosunku do próbek kontrolnych.

Badania wykonano w ramach grantu N N523 561238

Zastosowanie metod immunoenzymatycznych (ELISA) dla oceny zanieczyszczenia środowiska glebowego związkami PCB

M. URBANIAK

Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii, Ul. Tylna 3, 90-364 Łódź, Polska
Katedra Ekologii Stosowanej Uniwersytet Łódzki, Ul. Banacha 12/16,
90-237 Łódź, Polska

E-mail: m.urbania@unesco.lodz.pl

Słowa kluczowe: ELISA, PCB, zanieczyszczenia, gleba

W ciągu ostatnich lat nastąpił wzrost zainteresowania szlakami migracji zanieczyszczeń w glebach nawożonych osadami ściekowymi (Wilson i wsp. 1997; Litz i Muller-Wgener 1998, Madsen i wsp. 1999; Molina i wsp. 2000; Hesseloe i wsp. 2011; La Guardia i wsp. 2001). Zastosowanie osadów ściekowych jako nawóz dla roślin jest zjawiskiem powszechnym w krajach europejskich (McLachlan i wsp., 1996.). Szacuje się iż w Niemczech ilość osadu używana do celów rolniczych wynosi 25%, natomiast w Szwecji sięga nawet 90% (McLachlan et al, 1996.). Liczne badania wskazują jednak, iż osad ściekowy oprócz substancji odżywczych takich jak azot, fosfor czy potas, zawiera także związki toksyczne np. polichlorowane bifenyle (PCB). Implikuje to problemy z dalszym wykorzystaniem tak zanieczyszczonego osadu do celów rolniczych.

Celem prezentowanej pracy była ocena mobilności i/lub retencji PCB w glebie nawożonej różnymi dawkami osadu ściekowego i mieszaniny osadu ściekowego z CaO.

Do przeprowadzenia eksperymentu wykorzystano niezanieczyszczoną glebę z Obszaru Ograniczonego Użytkowania Grupowej Oczyszczalni Ścieków. Do przeprowadzenia eksperymentu wykorzystano gładkościennie rury PCV-U – zwane dalej lizymetrami.

W eksperymencie zastosowano kontrolę oraz 4 warianty nawożenia gleby:

- 1) 50 g suchej masy (s.m.) osadu ściekowego, co odpowiadało dawce 68,5 g mokrej masy (m.m.) osadu ściekowego;
- 2) 50 g s.m. osadu ściekowego, co odpowiadało dawce 68,5 g m.m. osadu ściekowego + 20g wapna co odpowiadało dawce 33,3 g CaO;
- 3) 150 g s.m. osadu ściekowego, co odpowiadało 205,5 m.m. osadu ściekowego;
- 4) 150 g s.m. osadu ściekowego, co odpowiadało 205,5 m.m. + 60g wapna co odpowiadało 100 g CaO.

Eksperyment prowadzono przez 15 dni, codziennie aplikując dawkę 300 ml wody destylowanej do każdego lizymetru. Dawka 300 ml wody destylowanej stosowana przez 15 dni została obliczona tak aby odzwierciedlić roczne opady deszczu równe 562,5 mm. Wartość ta jest najbardziej zbliżona do typowych rocznych opadów w regionie łódzkim (Polska centralna) wynoszących 572 mm.

Próbki gleby do analiz polichlorowanych bifenyli (PCB) pobrano jednorazowo, po zakończeniu 15 dniowego eksperymentu. Glebę pobierano z następujących głębokości: 0 cm, 5 cm, 10 cm, 15 cm, 25 cm, 35 cm i 45 cm. Pobrany w ten sposób materiał przechowywano w temperaturze 4 °C.

Oznaczanie zostało wykonane z wykorzystaniem zestawu do ekstrakcji oraz zestawu testowego RaPID Assay ® PCB Test Kit, który jest przesiewowym testem immunoenzymatycznym (ELISA) bazującym na rozpoznaniu PCB za pomocą swoistych przeciwciał. Testy RaPID Assay ® PCB Test Kit stosowane są dla ilościowego i czułego wykrywania PCB w wodzie, a po ekstrakcji także w glebie i osadach.

Uzyskane wyniki analizy pobranych próbek gleby wykazały wzrost stężenia PCB wraz ze wzrostem zastosowanej dawki osadów ściekowych. Najniższe średnie stężenie

uzyskano dla próbek kontrolnych (98,418 +/-34.155 mg/kg); dla próbek o najwyższej zastosowanej dawce osadu ściekowego tj. 150 g s.m. osadu +CaO uzyskano najwyższą wartość PCB równą 136.856+/-22,277 mg/kg. Uzyskane wyniki wykazały także, że największe stężenia PCB odnotowano w dolnej warstwie gleby (35-45 cm). Może to być związane z migracją PCB z warstwy powierzchniowej wzdłuż profilu glebowego wraz z wodą. Niemniej jednak zwiększone stężenie obserwowano również w warstwie powierzchniowej gleby (do głębokości 10 cm).

Podsumowując, wyniki eksperymentu pokazują, że zastosowanie osadów ściekowych na powierzchni gleby powoduje wzrost stężenia PCB w powierzchniowej warstwie gleby, ale przede wszystkim ich migrację wzdłuż profilu glebowego gdzie następnie podlegają procesowi kumulacji, co z kolei może prowadzić do zanieczyszczenia innych komponentów środowiska np. wód gruntowych.

Podziękowania

Badania przeprowadzono w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 01.01.02-10-106/09 "Innowacyjne środki i efektywne metody poprawy bezpieczeństwa i trwałości obiektów budowlanych i infrastruktury transportowej w strategii zrównoważonego rozwoju", Numer i nazwa tematu badawczego: T.8.6 „Innowacyjność metod harmonizacji biotechnologii ekosystemowych z infrastrukturą systemów kanalizacyjnych i oczyszczania ścieków”.

Literatura

- Hesselsoe, M., Jensen, D., Skals, K., Olesen, T., Moldrup, P., Roslev, P., Mortensen, G.K., Henriksen, K., 2001. Degradation of 4-nonylphenol in homogeneous and nonhomogeneous mixtures of soil and sewage sludge. *Environ. Sci. Technol.* 35, 3695–3700.
- La Guardia, M.J., Hale, R.C., Harvey, E., Mainor, T.M., 2001. Alkylphenol ethoxylate degradation products in land-applied sewage sludge (Biosolids). *Environ. Sci. Technol.* 35, 4798–4804.
- Litz, N., Muller-Wegener, U., 1998. The influence of surfactants applied by sewage sludge on the behaviour of atrazine and PAHs in semiarid soils. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.* 161, 255–259.
- Madsen, L.P., Thyme, J.B., Henriksen, K., Moldrup, P., Roslev, P., 1999. Kinetics of di-(2-ethylhexyl)phthalate mineralization in sludge-amended soil. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2601–2606.
- McLachlan M.S., Horstmann M., Hinkel M., 1996. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in sewage sludge: sources and fate following sludge application to land, *Sci. Total Environ.* 185, 109-123.
- Molina, L., Diaz-Ferrero, J., Coll, M., Martí, R., Broto-Puig, F., Comellas, L., 2000. Study of evolution of PCDD/F in sewage sludge-amended soils for land restoration purposes. *Chemosphere* 40, 1173–1178.
- Wilson, S.C., Alcock, R.E., Sewart, A.P., Jones, K.C., 1997. Persistence of organic contaminants in sewage sludge-amended soil, a field experiment. *J. Environ. Qual.* 26, 1467–1477.

Wykorzystanie testu Phytotoxkit™ w ocenie toksyczności gleb o różnym sposobie ich użytkowania

BARAN AGNIESZKA, WIECZOREK JERZY

Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie,

Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl

Słowa kluczowe: gleba, fitotoksyczność, Phytotoxkit™, metale ciężkie, sposób użytkowania

Obecnie ocena zanieczyszczenia gleb polega najczęściej na ocenie zawartości związków chemicznych na drodze analizy chemicznej. W przypadku gleb monitoring ich jest prowadzony w Polsce przede wszystkim w oparciu o zawartości graniczne zawarte w Rozporządzeniu Ministra Środowiska w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi z dnia 9 września 2002 r. (Dz. U. 2002, nr 165, poz. 1359). Jednak sam monitoring chemiczny nie zawsze ukazuje realne zagrożenie związane z obecnością związków chemicznych w środowisku glebowym. Dlatego też w ostatnich latach obserwuje się wyraźny wzrost zainteresowania wykorzystaniem metod biologicznych w celu uzupełnienia badań chemicznych. Jedną z metod oceny toksyczności gleb jest wykorzystanie fitotestów. Celem badań była ocena toksyczności gleb przy wykorzystaniu testu Phytotoxkit™. W standardowej procedurze testu do pomiaru toksyczności gleby wykorzystuje się trzy rośliny *Sorghum saccharatum*, *Sinapis alba* oraz *Lepidium sativum*, a mierzonym parametrem są ilość skielkowanych nasion oraz pomiar długości korzeni.

Badania prowadzono na terenie Polski Południowej w województwie Małopolskim. Próby glebowe pobrano w północno-zachodniej części województwa małopolskiego. Badany teren charakteryzują się dużym zróżnicowaniem w budowie geologicznej, w sposobie użytkowania gruntów oraz w intensywności rozwoju przemysłu. Łącznie wyznaczono 76 punktów, w których pobrano próby glebowe z poziomu 0-10 cm przy użyciu próbnika do wierzchnich warstw gleby firmy Eijkelkamp. Spośród pobranych prób glebowych 32% reprezentowały grunty orne, 46% użytki zielone oraz 22% lasy.

Procentowe zahamowanie kiełkowania nasion roślin testowych wyniosło od 0 do 80%, natomiast inhibicja wzrostu korzeni mieściła się w przedziale od -35 do 96%. Rośliną najbardziej wrażliwą na zanieczyszczenia występujące w glebach było *Sorghum saccharatum*. 70% badanych próbek glebowych powodowało inhibicję wzrostu tej rośliny. Rośliną najmniej wrażliwa na substancje chemiczne występujące w badanych glebach była *Sinapis alba*, 30% próbek glebowych działało stymulująco na jej wzrost. Największą toksycznością charakteryzowały się gleby pobrane z użytków leśnych, następnie z gruntów ornych, a najmniejszą z użytków zielonych.

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2011-2013. Grant nr N N305 107640 „Wykorzystanie biotestów jako wskaźników zanieczyszczenia gleb na terenie województwa małopolskiego”

Zastosowanie testu Phytotoxkit™ i Microtox® w ocenie toksyczności osadów dennych zbiornika w Zesławicach (woj. małopolskie)

BARAN AGNIESZKA¹, TARNAWSKI MAREK²

Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej¹, Katedra Inżynierii Wodnej i Geotechniki²,
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie,

Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl

Słowa kluczowe: osady denne, woda porowa, toksyczność, biotesty

W Polsce osad denny uznaje się za zanieczyszczony, gdy jeden ze wskaźników chemicznych przekracza wartość dopuszczalną podaną w rozporządzeniu Ministra Środowiska sprawie rodzajów oraz stężeń substancji, które powodują, że urobek jest zanieczyszczony [Dz. U. z 2002 roku, nr 55, poz. 498]. Monitorowanie substancji niebezpiecznych w osadzie dennym ograniczone do metali ciężkich, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) i polichlorowanych bifenyle (PCB), nie wyczerpuje wszystkich występujących w osadach dennych związków toksycznych i ich współdziałania. Użytecznym narzędziem, którego zastosowanie umożliwi pełniejszą ocenę zagrożenia wynikającego z obecności substancji chemicznych w osadach dennych, ich biodostępność i współdziałanie są biotesty. Celem badań było wykorzystanie dwóch biotestów Phytotoxkit™ oraz Microtox® do oceny toksyczności osadów dennych skumulowanych w zbiorniku wodnym w Zesławicach (woj. małopolskie).

Zahamowanie kiełkowania nasion roślin testowych wyniosło od -25 do 38% (osad denny) oraz 0 do 50% (woda porowa), natomiast inhibicja wzrostu korzeni mieściła się w przedziale od -42 do 37% (osad denny) oraz -49 do 37% (woda porowa). Inhibicja luminescencji *Vibrio fischeri* w zależności od badanej fazy osadów dennych wyniosła od -18 do 40% (osady denne) oraz od -12 do 28% (woda porowa). Istotnie większą toksycznością wobec *Vibrio fischeri* charakteryzowały osady denne niż woda porowa. Z kolei wobec roślin testowych wykazano odwrotną zależność. Większość badanych próbek osadów dennych i wody porowej zakwalifikowano do klasy II toksyczności (statystycznie istotny efekt procentowy PE jest wykazany przez co najmniej jeden test, lecz wartości efektu jest poniżej 50%, próbki niskotoksyczne, niskie ostre zagrożenie).

Projekt realizowany w ramach **dotacji celowej na prowadzenie badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych, służących rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich UR finansowanych w trybie konkursowym w 2012 roku**. Nr tematu 4117.

Zastosowanie drożdży i *Daphnia magna* do oceny ekotoksyczności azoksystrobiny i karbendazymu

ANNA-DARIA STASIULEWICZ-PALUCH, KATARZYNA KUCHARSKA,
JUSTYNA BOROWSKA, URSZULA WACHOWSKA

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Fitopatologii i Entomologii,
10-720 Olsztyn, ul. Prawocheńskiego 17
e-mail: katarzyna.kurek@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: Daphnia, drożdże, azoksystrobina, karbendazym, ekotoksyczność.

Ekotoksyczne działanie fungicydów może być badane przy użyciu biotestów z wykorzystaniem roślin, bakterii i zwierząt. Jednokomórkowe drożdże, charakteryzujące się szybkim tempem wzrostu i łatwością hodowli na podłożach mikrobiologicznych wydają się dobrymi organizmami modelowymi do oceny ekotoksyczności fungicydów w agrocenozach. Grzyby te występują powszechnie na powierzchni roślin i w praktyce często poddawane są presji środków ochrony roślin stosowanych w rolnictwie. Celem badań była ocena wrażliwości *Daphnia magna*, drożdży *Aureobasidium pullulans* i *Rhodotorula glutinis* na karbendazym i azoksystrobinę oraz analiza ich przydatności do kalkulacji wskaźnika IC_{50} . W latach 2011-2012 z ziarna pszenicy ozimej wymyto 97 izolatów drożdży. W teście dyfuzji fungicydy zawierające karbendazym i azoksystrobinę zastosowano w stężeniu połowym oraz stężeniu odpowiadającym najwyższej dopuszczalnej dawce pozostałości fungicydu i dziesięciokrotności tej dawki. Do oceny wpływu wybranych fungicydów na rozwój dziewięciu izolatów drożdży zastosowano płynne podłoże. Hodowle drożdży zmywano sterylną wodą z podłoża stałego przy pomocy ezy do 50 ml kolb. Zawiesiny komórek drożdży miały gęstość 1° w skali Mc Farlanda. Do 9 ml podłoża płynnego wprowadzono następnie fungicydy w koncentracji 0,1, 0,5, 1, 10 i 50 μ l substancji aktywnej na litr podłoża. Po 24 godzinach inkubacji w temperaturze 27°C zawiesiny drożdży wysiewano na podłoże PDA. Po kolejnych 4 dobach wzrostu policzono wyrastające kolonie drożdży. Analizę wrażliwości *Daphnia magna* wykonano zgodnie z instrukcją dołączoną do zestawu Test Daphtokit F™ Magna. Przeprowadzono graficzną interpolację wskaźnika IC_{50} . Wykres sporządzono w skali logarytmicznej. Stężenie IC_{50} określała odcięta punktu przecięcia krzywej z prostą odpowiadającą 50% śmiertelności komórek drożdży. W teście dyfuzji 16,5% izolatów drożdży reagowało inhibicyjnie na obecność azoksystrobiny i 6,2% na obecność karbendazymu. W podłożu płynnym izolaty *R. glutinis* 8 i 34 rozwijały się słabiej w obecności karbendazymu, dla tych izolatów wskaźnik IC_{50} oszacowano na poziomie wyższym (0,75 μ g/kg) lub niższym (0,2 μ g/kg) niż wskaźnik IC_{50} skalkulowany przy użyciu testu Daphtokit F™ Magna. Zróżnicowane koncentracje azoksystrobiny miały zmienny wpływ na rozwój drożdży. Tylko w przypadku izolatów *R. glutinis* 409 i 418 wskaźnik IC_{50} dla azoksystrobiny był porównywalny ze wskaźnikiem wyznaczonym po przeprowadzeniu testu Daphtokit F™ Magna.

Dafnie w ocenie toksyczności detergentów

M. BACIAK, Ł. SIKORSKI, M. DOBIESZ*, A. ZIÓLKOWSKA*,
A. I. PIOTROWICZ-CIEŚLAK*, B. ADOMAS

Katedra Toksykologii Środowiska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
Prawocheńskiego 17, 10-720 Olsztyn

*Katedra Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 1 A, 10-719 Olsztyn
e-mail: badomas@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: woda, detergenty, EC₅₀, Daphtokit™

Detergenty, ze względu na swoje powszechne zastosowanie w gospodarstwach domowych, przemyśle i medycynie, przyczyniają się do pogarszania stanu środowiska wodnego. Zainteresowanie problemem obecności detergentów w środowisku wynika z faktu ich złożonej budowy, gdyż często występują w postaci mieszanin różnych związków chemicznych. Choć większość detergentów ulega degradacji w czasie oczyszczania ścieków, ich złożona budowa może utrudniać biodegradację. Czego efektem jest powstawanie związków, których los i toksyczność nie są do końca poznane. Szczególnie dotyczy to, ścieków pochodzących m.in. ze szpitali. Obecność detergentów w środowisku wodnym nie jest zatem obojętna dla organizmów je zasiedlających. Dowiedziono, że związki te mogą powodować degradację białek, modyfikować działania i strukturę enzymów oraz są odpowiedzialne za postępującą przepuszczalność komórek. Dodatkowo, przy wysokich stężeniach przyczyniają się do usunięcia warstw fosfolipidów z błon komórkowych, czego skutkiem jest utrata aktywności biologicznej komórek i ich liza.

Celem pracy było wyznaczenie wskaźników toksyczności ostrej EC₅₀ detergentów powszechnie używanych w gospodarstwach domowych („Perwoll” 0,1%, „Domestos” 0,1%, „Ludwik” 0,25% , „Cif mleczko” 1%, „Cif do podłóg” 1% i „Vanish” 0,5%) wobec dafni (*Daphnia magna* L.). W przeprowadzonych badaniach za unieruchomienie rozwielitek uznano moment, w którym zwierzęta nie wykazywały zdolności pływania w ciągu 15 sekund, po uprzednim delikatnym wstrząśnięciu naczyniem testowym.

Badania wykazały, że najbardziej toksyczny wobec dafni był „Vanish”, ponieważ już po upływie 15 minut od rozpoczęcia doświadczenia wskaźnik EC₅₀ wynosił 0,0195%. Najmniej toksycznym okazał się „Cif do podłóg”, którego wskaźnik EC₅₀ po upływie 15 minut od rozpoczęcia doświadczenia wyniósł 0,437%. Stwierdzono także, że wraz z upływem czasu narażenia stopniowo zwiększała się liczba unieruchomionych rozwielitek w celkach testowych. Dodatkowo, w każdym z wykorzystanych detergentów, zaobserwowano zmniejszanie wartości EC₅₀ z upływem czasu obserwacji.

Praca wykonana w ramach projektu badawczego UMO-2011/01/B/NZ9/02646 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w Krakowie.

Bateria biotestów w ocenie toksyczności glifosatu

Ł. SIKORSKI, M. BACIAK, A. I. PIOTROWICZ-CIEŚLAK*, B. ADOMAS
Katedra Toksykologii Środowiska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
Prawocheńskiego 17, 10-720 Olsztyn

*Katedra Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 1 A, 10-719 Olsztyn
e-mail: badomas@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: woda, glifosat, toksyczność, bateria biotestów

Prawodawstwo światowe umożliwia wykorzystanie w produkcji rolniczej, sadowniczej i warzywniczej związków chemicznych, których celem jest zwiększenie plonów. Są to związki toksyczne, celowo wprowadzane do środowiska. W dawkach zalecanych przez producenta są bezpieczne dla środowiska, jednak w zbyt wysokich ilościach mogą być przyczyną negatywnych zmian w ekosystemach. Z punktu widzenia ochrony środowiska najbardziej istotny jest fakt, że herbicydy stosuje się w większości bezpośrednio do gleby, skąd migrują do wód powierzchniowych.

Herbicydy zawierające glifosat wykazują działanie totalne wobec roślin i zgodnie z zaleceniami stosowane są do zwalczania chwastów w rolnictwie, sadownictwie, ogrodnictwie, leśnictwie oraz do zwalczania zbędnej roślinności ekosystemów wodnych, czy gruntów miejskich. Główne jego działanie chwastobójcze opiera się na hamowaniu enzymu syntazy EPSPS (syntaza 5-enolopirogroniano-szikimowo-3-fosforanowa), która powoduje zmniejszenie biosyntezy aromatycznych aminokwasów (fenyloalaniny, tyrozyny, tryptofanu) i zmiany w metabolizmie białek.

Mimo, że glifosat promowany jest jako środek szybko biodegradowalny i nietoksyczny, to notuje się jego negatywny wpływ na ekosystemy, w tym glebowy. Zgodnie z zaleceniami nie powinien być stosowany w pobliżu zbiorników wodnych, ponieważ wpływa toksycznie na kijanki, dorosłe żaby i ryby. Dlatego niezwykle ważne jest określenie jego wpływu na organizmy prezentujące zróżnicowany poziom organizacyjny.

Celem badań było określenie toksyczności glifosatu przy użyciu baterii biotestów (ALGATOXKIT FTM, LEMNA TEST, PHYTOTOXKITTM oraz DAPHTOXKIT F MAGNA) wobec glonów, rzęsy drobnej, łubinu żółtego i dafni. U roślin oceniano ich cechy morfologiczne, zaś u dafni ich unieruchomienie. Testowano stężenia glifosatu (1, 3, 7, 20, 40, 100, 500, 1000 μM) mniejsze i znacznie większe niż polowe (7 μM).

Badania wykazały, że 7 μM glifostu w pożywce po 7 dniach ekspozycji spowodowało zmniejszenie tempa wzrostu glonów *Selenastrum capricornutum* aż o 79%. Natomiast wyższe stężenia (od 20 do 1000 μM) były przyczyną zamierania glonów.

Dawka polowa glifosatu po 7 dniach narażenia rzęsy drobnej przyczyniła się do zahamowania tempa wzrostu o 84%. Stężenia od 20 do 1000 μM herbicydu degradowały jej tkanki.

Stwierdzono, że zarówno korzenie jak i łodygi łubinu żółtego były bardzo wrażliwe na obecność glifosatu w glebie, co po 9 dniach manifestowało się istotnym zahamowaniem ich długości, które odnotowano od stężenia 20 μM . Dowiedziono, że stężenie polowe herbicydu (7 μM) zahamowało rozwój siewek średnio o 35%.

Unieruchomienie rozwielitek zaobserwowano po 180 minutach ekspozycji na 100 μM glifosatu i wyżej. Dłuższy kontakt rozwielitek z herbicydem był przyczyną postępującej immobilizacji. Po jednej dobie ruchem wykazywały się jedynie pojedyncze osobniki w stężeniach herbicydu (od 1 do 3 μM), niższych aniżeli zalecane stężenie polowe - 7 μM .

Analiza stężeń efektywnych EC_{50} wykazała, że tempo wzrostu glonów *Selenastrum capricornutum* i rzęsy drobnej (*Lemna minor* L.) zostało zahamowane w 50% odpowiednio przez 2,97 i 5,62 μM glifosatu.

Inhibicja wzrostu siewek łubinu o połowę, nastąpiła gdy gleba zawierała 7,91 μM herbicydu.

Ponad dwukrotnie niższe stężenie 3,33 μM w czasie 180 minut ograniczyło ruch skorupiaków (*Daphnia magna*) o połowę. Ten sam efekt po jednej dobie spowodowało 0,9 μM glifosatu.

Odnotowane reakcje organizmów pozwalają stwierdzić ich wysoką wrażliwość na herbicyd, która klasyfikowała się następująco: łubin żółty < rzęsa drobna < glony < rozwielitki. Dowiedziono także, że stężenie połowe glifosatu (7 μM) zalecane przez producenta do zwalczania chwastów w uprawach rolniczych i sadowniczych oraz zbiornikach wodnych, było toksyczne wobec organizmów roślinnych i zwierzęcych będących ważnym ogniwem w łańcuchu troficznym. Wykonana bateria biotestów potwierdza, że do oceny zanieczyszczenia słodkowodnych zbiorników i gleby glifosatem z powodzeniem mogą być użyte jako biowskaźniki glony (ALGATOXKIT FTM), rzęsa drobna (LEMNA TEST), łubin żółty (PHYTOTOXKITTM) oraz rozwielitki (DAPHTOXKIT F MAGNA).

Praca wykonana w ramach projektu badawczego UMO-2011/01/B/NZ9/02646 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w Krakowie.

Lemna Test w ocenie działania fluorochinolonów w środowisku wodnym

M. BACIAK, Ł. SIKORSKI, M. DOBIESZ*, A. ZIÓLKOWSKA*,
A. I. PIOTROWICZ-CIEŚLAK*, B. ADOMAS

Katedra Toksykologii Środowiska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
Prawocheńskiego 17, 10-720 Olsztyn

*Katedra Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 1 A, 10-719 Olsztyn

e-mail: badomas@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: woda, florochinolony, fitotoksyczność, Lemna Test

Polska znajduje się w pierwszej dziesiątce wśród krajów europejskich pod względem ilości stosowanych chemioterapeutyków. Stosowanie coraz większych dawek znanych od lat antybiotyków i wprowadzanie nowych do lecznictwa weterynaryjnego oraz zwiększanie liczby wielostanowiskowych ferm przemysłowych powoduje zwiększone zanieczyszczenie środowiska naturalnego tymi związkami i ich metabolitami.

Do najczęściej stosowanych chemioterapeutyków należą leki z grupy chinolonów. Jako jedne z najsilniejszych chemioterapeutyków o szerokim działaniu bakteriobójczym, stosowane są w leczeniu różnych typów schorzeń. Fluorochinolony w odróżnieniu od innych leków przeciwbakteryjnych, takich jak beta-laktamy, makrolidy, tetracykliny lub aminoglikozydy, działają intensywniej wobec drobnoustrojów. Mechanizm działania bakteriobójczego fluorochinolonów polega na hamowaniu enzymów topoiizomerazy II (DNA gyrazy) i topoiizomerazy IV, których aktywność niezbędna jest do replikacji DNA bakterii oraz procesów transkrypcji, naprawy i rekombinacji.

W większości wpływ leków w środowisku jest nieznany, bądź oceniany jako niski. Jednak ich obecność może wiązać się z zaburzeniami, które mogą mieć znaczące i długotrwałe skutki na stabilność ekosystemów.

Celem pracy było oznaczenie fitotoksyczności trzech fluorochinolonów: ofloksacyny, enrofloksacyny i lomefloksacyny w środowisku wodnym. Testowano następujące stężenia leków: ofloksacyny (0,31; 0,63; 1,25; 2,5; 5; 10; 20; 40, 80; 100; 160 mM), enrofloksacyny (0,31; 0,63; 1,25; 2,5; 5; 10; 20; 40, 80; 100; 160; 200 mM) oraz lomefloksacyny (0,31; 0,63; 1,25; 2,5; 5; 10; 20; 40 mM). Toksyczność fluorochinolonów oceniano za pomocą 7 dniowego LEMNA TEST, poprzez określenie tempa wzrostu rzęsy drobnej (*Lemna minor* L.), świeżej i suchej masy roślin oraz zawartości chlorofilu w liściach.

Wykazano, że najniższe z testowanych stężeń trzech fluorochinolonów (0,31 mM) zmniejszyło tempo wzrostu rzęsy średnio o 74%, w porównaniu do kontroli. Natomiast stężenia 10, 20 i 200 mM, odpowiednio lomefloksacyny, ofloksacyny i enrofloksacyny były wysoce fitotoksyczne, co przyczyniło się do obumierania roślin. Fluorochinolony lomefloksacyna i ofloksacyna w stężeniach 5 mM istotnie obniżyły zawartość chlorofilu w liściach rzęsy, natomiast enrofloksacyna w 40 mM.

Powwyższe parametry, w tym obniżająca się wraz ze wzrostem zawartości leku w pożywce świeża masa rzęsy pozwalają stwierdzić, że najwyższą fitotoksycznością wobec rzęsy drobnej (*Lemna minor* L.) wykazała się lomefloksacyna (EC_{50} 0,552 mM), następnie ofloksacyna (EC_{50} 0,239 mM), zaś najniższą - enrofloksacyna (EC_{50} 0,195 mM). Wykonane badania potwierdzają, że LEMNA TEST może być z powodzeniem wykorzystany w ocenie wpływu chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych na ekosystem wodny.

Praca wykonana w ramach projektu badawczego UMO-2011/01/B/NZ9/02646 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w Krakowie.

Genotoksyczne i proapoptotyczne oddziaływanie cyjanotoksyn na komórki karpia (*Cyprinus carpio* L.)

A. SIEROSŁAWSKA, A. RYMUSZKA

Katedra Fizjologii i Ekotoksykologii, Instytut Biotechnologii, Katolicki Uniwersytet Lubelski
Jana Pawła II, Konstantynów 1I, 20-708 Lublin
ansie@kul.lublin.pl

Słowa kluczowe: sinicowe zakwity wód, cyjanotoksyny, apoptoza, genotoksyczność, test kometowy, test mikrojądrowy, karp

Cyjanotoksyny, będące wtórnymi metabolitami cyjanobakterii, zdolne są do wywierania różnorodnych niekorzystnych efektów wobec intoksykowanych organizmów. Ryby, z uwagi na środowisko bytowania, w sposób szczególny narażone są na oddziaływanie tych toksyn.

Celem pracy była ocena oddziaływania *in vitro* trzech cyjanotoksyn: mikrocystyny-LR, cylindrospermopsyny oraz anatoksyny-a na leukocyty izolowane z krwi karpia. Leukocyty należą do głównych komórek układu immunologicznego, i jako takie, uczestniczą w najważniejszych reakcjach decydujących o odporności organizmu wobec czynników patogennych. Zaburzenia ich prawidłowego funkcjonowania mogą zatem przekładać się na obniżenie odporności całego ustroju.

Populacja wyizolowanych komórek składała się głównie z limfocytów (ok. 75%). Komórki eksponowano na toksyny w postaci czystej, w stężeniu 0,5 µg/ml, przez 18 godz. Odsetek komórek nekrotycznych i apoptotycznych ustalany był na podstawie zmian w obrębie błon komórkowych. Komórki nekrotyczne wybarwiane były jodkiem propidyny, natomiast komórki apoptotyczne, w których doszło do translokacji fosfatydyloseryny w obrębie błony, identyfikowane były poprzez aneksynę V skoniugowaną z fluoresceiną. Analizę stopnia uszkodzenia DNA w komórkach wykonano poprzez elektroforezę DNA jądrowego w środowisku alkalicznym (test kometkowy).

W drugim etapie pracy ryby poddano *in vivo* ekspozycji na ekstrakt uzyskany z komórek sinic, zawierający mikrocystynę-LR. Po pięciu dniach od ryb pobrano krew i wykonano test mikrojądrowy. Test ten, wykrywający uszkodzenia chromosomów, przeprowadzono na erytrocytach ryb. Zliczano mikrojądra, przewężenia w strukturze jąder oraz wszelkie inne odchylenia od prawidłowego kształtu jąder.

Na podstawie analizy mikroskopowej stwierdzono, że spośród trzech badanych cyjanotoksyn w użytym stężeniu wyraźne działanie proapoptotyczne wykazuje mikrocystyna-LR. Żadna z badanych toksyn nie spowodowała wzrostu liczebności komórek nekrotycznych w eksponowanej populacji, w stosunku do komórek kontrolnych. Znaczący wzrost uszkodzeń DNA obserwowany był z kolei w komórkach eksponowanych na mikrocystynę-LR oraz cylindrospermopsynę. Szczególnie wysoki stopień fragmentacji DNA w przypadku mikrocystyny-LR mógł jednak częściowo wynikać z zachodzącego w obrębie badanej populacji komórek procesu apoptozy. Również ekspozycja *in vivo* ryb na toksyczny ekstrakt spowodowała wzrost odsetka komórek z widocznymi zmianami cytogenetycznymi.

Przeprowadzone badania wskazują na możliwość negatywnego oddziaływania mikrocystyny-LR oraz cylindrospermopsyny na karpia, w tym efektów genotoksycznych.

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

Cylindrospermopsyna w wodach Lubelszczyzny

A. SIEROSŁAWSKA, E. SŁOWIKOWSKA, A. RYMUSZKA

Katedra Fizjologii i Ekotoksykologii, Instytut Biotechnologii, Katolicki Uniwersytet Lubelski
Jana Pawła II, Konstantynów 1I, 20-708 Lublin
ansie@kul.lublin.pl

Słowa kluczowe: sinicowe zakwity wód, cyjanotoksyny, cylindrospermopsyna

Wzrastająca eutrofizacja wód powierzchniowych oraz zmiany klimatyczne uważane są za główne przyczyny obserwowanych od kilku ostatnich dziesięcioleci masowych sinicowych zakwitów wód. Jednym z niekorzystnych następstw tych zjawisk jest uwalnianie do wód wtórnych metabolitów sinic, cyjanotoksyn, wywierających różnorodne efekty toksyczne w ekspozowanych organizmach. Z uwagi na fakt, iż te gatunki sinic, które mogą wytwarzać toksyny są bardzo rozpowszechnione, w ok. 75% wód objętych zakwitami stwierdza się także obecność toksyn (Ernst, 2008). Większość cyjanotoksyn uwalniana jest do środowiska w momencie obumierania zakwitu.

Do cyjanotoksyn, których obecność wykrywano w wodach Lubelszczyzny należą hepatotoksyczne mikrocystyny, wraz z najbardziej toksyczną izoformą, mikrocystyną-LR oraz neurotoksyna, anatoksyna-a (Pawlik-Skowrońska et al., 2004; Sierosławska et al., 2010). Do chwili obecnej brak jest informacji na temat występowania w tym rejonie Polski innej cyjanotoksyny, cylindrospermopsyny.

Cylindrospermopsyna jest trójcyklicznym alkaloidem, zawierającym w swej strukturze grupę guanidynową, połączoną mostkiem hydroksylowym z grupą uracylową oraz grupę sulfonową (Othani et al., 1992). Toksyna ta jest dobrze rozpuszczalna w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych, jest również odporna na działanie temperatury i zmiany wartości pH, co czyni ją bardzo stabilną w środowisku wodnym. Głównym narządem docelowym dla cylindrospermopsyny jest wątroba, lecz zmiany patologiczne w intoksykowanych organizmach mogą obejmować także nerki, przewód pokarmowy, grasicę, płuca, nadnercza i serce (Masten, 2000).

Oprócz *Cylindrospermopsis raciborskii*, będącego głównym producentem cylindrospermopsyny, uważa się, że źródłem tej toksyny mogą być także sinice z gatunków *Anabaena bergii*, *Raphidiopsis curvata*, *Aphanizomenon ovalisporum*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena lapponica*, *Lyngbya woleli* czy *Umezakia natans*. Ponieważ *Cylindrospermopsis raciborskii* jest gatunkiem wywodzącym się z wód strefy tropikalnej i subtropikalnej Australii, początkowo cylindrospermopsyna identyfikowana była głównie w tych rejonach. Obecnie coraz więcej doniesień wskazuje na występowanie tej toksyny również w wodach Europy (Fastnet et al., 2003; Blahova et al., 2009; Messineo et al., 2010). W Polsce po raz pierwszy zidentyfikowano ją w próbkach pochodzących z jezior na terenie Wielkopolski (Kokociński et al., 2009).

Celem pracy było zbadanie, czy w ekstraktach uzyskanych z komórek sinic pobranych ze zbiorników wodnych z terenu Lubelszczyzny jest obecna cylindrospermopsyna. Łącznie pobrano i zbadano 14 próbek, złożonych z zagęszczonych komórek sinicowych pobranych z warstw przypowierzchniowych zbiornika.

W badanych próbkach określano skład gatunkowy cyjanobakterii. Następnie próbki poddawano homogenacji ultradźwiękowej i wirowaniu. Skriningowe badania na obecność

cylindrospermopsyny wykonywano testem ELISA (Abraxis, USA). Obecność cylindrospermopsyny w wytypowanych próbkach potwierdzano metodą HPLC.

Na podstawie przeprowadzonych oznaczeń stwierdzono obecność toksyny w dwóch próbkach, pochodzących z Zalewu Zemborzyckiego, w stężeniach rzędu 0,51-0,89 µg/L. W próbce o wyższym stężeniu toksyny, dominowały sinice należące do *Dolichospermum* spp. (*D. flos-aquae*, *D. planctonicum*), obecne jednak były również cyjanobakterie z gatunków *Aphanizomenon flos-aquae*, *Planktothrix agardhii* oraz *Microcystis aeruginosa*. W drugiej próbce dominowały sinice należące do *Aphanizomenon flos-aquae*, liczne były również komórki *Dolichospermum* sp.

Niniejsze badania są, według wiedzy autorów, pierwszym doniesieniem dokumentującym obecność cylindrospermopsyny w wodach Lubelszczyzny.

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

Piśmiennictwo:

- Bain, P., Burcham, P., Falconer, I., Fontaine, F., Froscio, S., Humpage, A., Neumann, C., Patel, B., Shaw, G., Wickramasinghe, W., 2010. Cylindrospermopsin mechanisms of toxicity and genotoxicity. Research Report No 61, ISBN 18766 16873.
- Bláhová L, Oravec M, Marsálek B, Sejnohová L, Simek Z, Bláha L. The first occurrence of the cyanobacterial alkaloid toxin cylindrospermopsin in the Czech Republic as determined by immunochemical and LC/MS methods. *Toxicon* 53, 519-24.
- Ernst B., 2008. Investigation on the impact of toxic cyanobacteria on fish. Dissertation, Konstanzer Online-Publications-System (KOPS).
- Fastner J, Heinze R, Humpage AR, Mischke U, Eaglesham GK, Chorus I. 2003. Cylindrospermopsin occurrence in two German lakes and preliminary assessment of toxicity and toxin production of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolates. *Toxicon* 42, 313-21.
- Kokociński M, Dziga D, Spoof L, Stefaniak K, Jurczak T, Mankiewicz-Boczek J, Meriluoto J.. 2009. First report of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in the shallow, eutrophic lakes of western Poland. *Chemosphere* 74, 669-75.
- Masten S. 2000. Cylindrospermopsin [CASRN 143545-90-8]. Review of Toxicological Literature. Final Report. Integrated Laboratory Systems.
- Messineo V, Melchiorre S, Di Corcia A, Gallo P, Bruno M. 2010. Seasonal succession of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Aphanizomenon ovalisporum* blooms with cylindrospermopsin occurrence in the volcanic Lake Albano, Central Italy. *Environ. Toxicol.* 25, 18-27.
- Othani J., Moore R.E., Runnegar M.T.C. 1992. Cylindrospermopsin, a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *J. Am. Chem. Soc.* 114, 7941 – 7942.
- Pawlik-Skowrońska B, Skowroński T, Pirszel J, Adamczyk A., 2004. Relationship between cyanobacterial bloom composition and anatoxin-a and microcystin occurrence in the eutrophic dam reservoir (SE Poland). *Pol. J. Ecol.* 52, 479-490.
- Sierosławska A, Rymuszka A, Skowroński T, Bownik A, 2010. Toxicity of cyanobacterial bloom in the eutrophic dam reservoir (SE Poland). *Environ Toxicol Chem*, 29, 556-560

Zastosowanie biotestu *Microtox*® do oceny toksyczności ścieków na kolejnych etapach oczyszczania w Grupowej Oczyszczalni Ścieków „Dębogórze”

W. RATAJCZYK¹, M. CIESZYŃSKA¹, K. SZYCHOWSKA¹, L. WOLSKA^{1,2}

¹ 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, tel. 58 349 1935

Cieszynskam@gumed.edu.pl

² Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk

Słowa kluczowe: mikrobiotesty, Microtox®, toksyczność ostra, ścieki

Powszechnie praktykowanym sposobem wprowadzania ścieków oczyszczonych do środowiska jest ich punktowy zrzut do wód powierzchniowych. W Polsce, zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 24 lipca 2006 r. (z późniejszymi zmianami z dnia 28 stycznia 2009 r.) kontrola jakości ścieków oczyszczonych wprowadzanych do wód powierzchniowych opiera się na fizykochemicznych wskaźnikach zanieczyszczeń. Różnorodność działalności prowadzonej w ramach współczesnej gospodarki sprawia, że do oczyszczalni docierają nie tylko substancje, których oznaczenie jest wymagane przez prawodawstwo, ale także związki o nieznanym składzie i właściwościach, ich mieszaniny oraz produkty przemian. W związku z tym zasadnym staje się pytanie: czy współczesne oczyszczalnie radzą sobie z usuwaniem ze ścieków szerokiej gamy związków i jaki jest/może być wpływ ścieków oczyszczonych na odbiornik, zwłaszcza gdy jest nim ekosystem morski.

W szeregu państw europejskich (Francja, Holandia, Anglia, Irlandia, Włochy, Niemcy, Hiszpania, Portugalia) dostrzeżono już wagę badań ekotoksykologicznych, które pozwalają uzyskać kompleksową informację o wpływie zanieczyszczeń (z uwzględnieniem ich współdziałania) na ożywioną część przyrody i stanowią cenne dopełnienie informacji płynących z badań parametrów fizykochemicznych i biologicznych.

Celem pracy było wykonanie pilotażowych badań efektywności pracy Grupowej Oczyszczalni Ścieków „Dębogórze” przy zastosowaniu biotestu *Microtox*®. Materiał do badań stanowiły próbki ścieków średniodobowych z kolejnych etapów oczyszczania oraz na ujściu kolektora do Zatoki Puckiej w Mechelinkach. Próbkę ścieków były pobierane wyrywkowo w październiku, listopadzie i grudniu 2011 roku oraz systematycznie w maju i czerwcu 2012 roku. Badania obejmowały ocenę wpływu procesu oczyszczania na zmianę parametru toksyczności ostrej ścieków wobec bakterii *Vibrio fischeri*. Ponadto określono wpływ mętności ścieków na ich toksyczność oraz pH. W obrazie testu *Microtox*, stosowana w oczyszczalni „Dębogórze” technologia oczyszczania ścieków (w badanym okresie czasu) wykazywała dużą skuteczność usuwania toksycznych związków wprowadzanych do sieci kanalizacyjnej przez różnych użytkowników. Ścieki oczyszczone nie wykazywały efektu toksycznego wobec bakterii *Vibrio fischeri*.