

**Marlena Piontek \***

## **ROZWÓJ BIOLOGICZNYCH METOD OCENY STOPNIA TOKSYCZNOŚCI TRUCIWN W ŚRODOWISKU WODNYM**

### *Streszczenie*

*Z rozwojem cywilizacji zagadnienia toksykologiczne stają się powszechne i obejmują niemal każdą dziedzinę życia. Pojawiły się specjalistyczne gałęzie toksykologii nastawione na poszczególne grupy trucizn ( toksykologia pestycydów, leków, żywności), na działalność człowieka ( toksykologia przemysłowa, rolnicza i inne) i na skutki tej działalności - toksykologia środowiskowa. Ta ostatnia została wyodrębniona w związku z narastającym zagrożeniem toksykologicznym dla żywych organizmów, wywołanym rozwojem przemysłu, rolnictwa i innych dziedzin życia człowieka. Praca przedstawia rozwój badań biotoksykologicznych w środowisku wodnym.*

### **1.**

Toksykologia środowiskowa zajmuje się skażeniem atmo-, lito-, hydro-, i biosfery, bada skutki ich działania na żywe organizmy oraz określa dopuszczalne ilości mimowolnie wchłoniętych trucizn.

Skutki niewłaściwego postępowania człowieka w stosunku do środowiska dobitnie wystąpiły w ekosystemach wodnych. Zatruciami w środowisku wodnym zajmuje się toksykologia wody. Podstawową tej dyscypliny jest określenie stopnia toksyczności trucizn i dopuszczalnych ich stężeń w wodach powierzchniowych. Opracowano wiele metod, oceniających wpływ trucizn na określone poziomy organizacyjne życia w środowisku wodnym. Mimo wyraźnych postępów w tej dziedzinie pozostają one ciągle niedoskonałe. Do najważniejszych przyczyn należy

---

\* Marlena PIONTEK – Zakład Odnowy Środowiska Politechnika Zielonogórska

złożoność zjawisk towarzyszących procesom trucia, mechanizmy działania trucizn oraz trudności stworzenia badaniom (prowadzonym in vitro), warunków zbliżonych do naturalnych.

## 2.

Działanie trujących związków na organizm jest zależne od właściwości fizyczno-chemicznych samego związku, obiektu działania i wielu innych czynników. Z tego względu trudno jest sformułować ścisłą i stosowną do wszystkich przypadków definicję trucizny. Wszystkie lub prawie wszystkie znane nam substancje chemiczne mogą wywołać objawy zatrucia. Wystąpienie ich zależy od stężenia, rodzaju i postaci trucizny a także gatunkowej i indywidualnej wrażliwości. Dlatego nie straciło na aktualności twierdzenie wypowiedziane w roku 1525 przez T.B. Paracelsusa: „sola dosis vacit venenum” - ilość jest decydującym czynnikiem o szkodliwości substancji. Dziś wiemy, że o toksyczności decyduje nie tylko stężenie lub dawka lecz wiele innych czynników: fizycznych, chemicznych, i biologicznych.

Dokładne określenie pojęcia trucizny nie jest możliwe. Ogólna definicja brzmi: „trucizna jest to substancja, która po wniknięciu do ustroju w jego niewielkich ilościach powoduje skutek swych właściwości toksykologicznych zaburzenia w funkcjonowaniu lub śmierć”. Definicja ta, oddaje nasze potoczne wyobrażenie o substancjach trujących, które mogą dostać się do ustroju z zewnątrz. Jest to słabą stroną podanej definicji trucizny. W wielu przypadkach niektóre związki chemiczne mogą powstać wewnątrz organizmu wskutek nieprawidłowej przemiany materii, wywołanej np. chorobą.

Zatrucia spowodowane związkami toksycznymi produkowanymi przez sam ustrój nazywamy autointoksykacjami.

W związku z różnorodnością działania związków toksycznych na organizm wyodrębniono działanie miejscowe i ogólne, przeciwstawiając wybiórcze w pewnym stopniu działanie trucizn na poszczególne narządy, układy lub funkcje - działaniu ogólnemu, które rozkłada się jakby równomiernie na wszystkie tkanki i narządy. Substancje działające ogólnie trująco na organizm nazwano truciznami protoplazmatycznymi. W przypadku wybiórczego działania trujących substancji można wyróżnić trucizny układu nerwowego, trucizny układów enzymatycznych, krwi,

narządów mięszowych. Każda niekorzystna zmiana miejscowa wywołuje zaburzenia ogólne a uszkodzenia w obrębie poszczególnych narządów prowadzą do zaburzeń obejmujących cały ustrój.

Bodźce wywołane przez trucizny niezależne od miejsca powstania są przenoszone i znajdują odbicie w ośrodkowym układzie nerwowym, który sam nieraz ulega bezpośredniemu trującemu wpływowi związków chemicznych o działaniu neurotropowym, jak dwusiarczek węgla, etanol, rtęć.

Żywy organizm dysponuje pokaźną liczbą procesów biochemicznych, dlatego też trujące działanie różnych związków chemicznych zaburzających te procesy odznacza się dużą różnorodnością. Synapsy, pośredniczą w przekazywaniu impulsów nerwowych. W większości synaps zasadniczą rolę w przekazywaniu pobudzenia z jednego neuronu na drugi odgrywa transmitter - acetylocholina. Po wzbudzeniu impulsu w neuronie podrzędnym, wydzielona acetylocholina jest rozkładana przez enzym esterazę cholinową. Zablokowanie tego enzymu powoduje ustawiczne drażnienie zakończeń nerwowych i zlewanie się bodźców. Badania nad wpływem trucizn neurotropowych na organizmy wodne (*Asellus aquaticus*) prowadził Kamiński [21., 1966].

Kolejnym przykładem może być krwinka czerwona. Obecność tlenku węgla (CO) - czadu powoduje powstanie karboksyhemoglobiny i prowadzi do uduszenia z powodu zablokowania hemoglobiny oraz enzymów oddechowych (cytochromy, oksydaza cytochromowa, katalazy).

Mechanizm działania poszczególnych trucizn jest przeważnie skomplikowany. Zagadnienie to należy rozpatrywać przy uwzględnieniu wielu czynników, wywierających istotny wpływ na powstający ostateczny obraz zatrucia. Jest on określony wypadkową działania wszystkich czynników, z których nie wszystkie są nam znane.

Czynniki warunkujące kierunek działania trucizny, odnoszą się do właściwości samego związku toksycznego i do reakcji ustroju na związek toksyczny.

W pierwszej grupie należy wymienić właściwości fizyczne trucizny jak rozpuszczalność w wodzie, lipidach oraz chemiczne właściwości, określające zdolność reagowania trucizny ze składnikami ustroju. Często wymienia się dwa sposoby trującego działania: jeden obejmujący zjawisko fizyczne i drugi - chemiczne. Podział ten jest sztuczny, ponieważ najczęściej występują równocześnie oba sposoby działania.

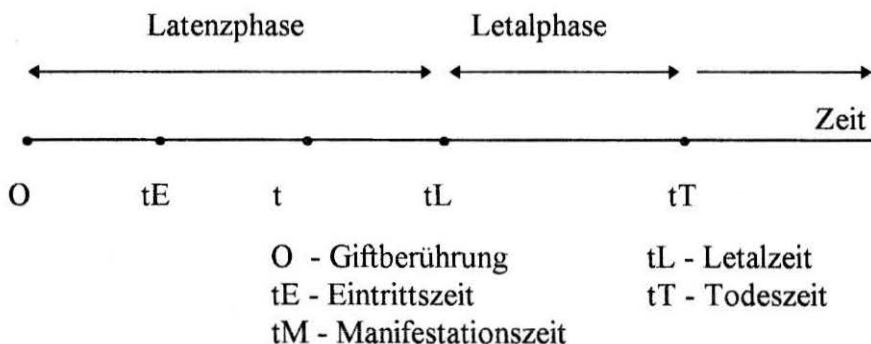
Do drugiej grupy zjawisk określających sposób działania trucizny należą przemiany związków toksycznych w ustroju (metabolizm trucizn) a także czynniki biologiczne wpływające na powstawanie zatruc, jak wrażliwość gatunkowa, wiek, itp.

Często substancje trujące występują nie pojedynczo lecz w mieszaninach i wówczas organizm może być narażony na działanie dwu i więcej trucizn jednocześnie. Występuje wtedy sumowanie się działania toksycznego. Zdarzają się jednak przypadki, kiedy toksyczność mieszaniny jest większa od sumy toksyczności trucizn wchodzących w skład tej mieszaniny. Taki wzrost toksycznego działania jednej trucizny wywołany obecnością innej nazywamy synergizmem.

W ocenie zjawiska synergizmu należy być ostrożnym, gdyż możemy mieć do czynienia z powstawaniem nowych bardziej toksycznych związków w wyniku zachodzących reakcji chemicznych w wodach zanieczyszczonych. Przykładem powyższego zjawiska mogą być wyniki badań nad toksycznością etyloksantogenu sodu (odczynnik używany do wzbogacania rud miedzi) w obecności wolnego chloru (woda wodociągowa o zawartości 0.1 - 0.2  $Cl_2 / dm^3$ ) dla organizmów wodnych [46. Solski i inni, 1972].

Odwrotnym zjawiskiem do synergizmu jest antagonizm, który wyraża się osłabieniem działania trucizny w obecności innego związku toksycznego. Antagonizm może być wynikiem reakcji chemicznych, w których wskutek zobojętniania powstają mniej szkodliwe związki (kwasy zobojętniają zasady i odwrotnie), procesów fizycznych (sorpcja metali ciężkich przez substancje organiczne) i innych.

W procesie trucia, zwierzęta (organizm testowy) przechodzą szereg faz, wg. Wuhrmanna i Wokera [58., 1958] obejmuje on następujące etapy:



Zdaniem tych autorów najbardziej uchwytnym momentem w procesie trucia jest „Manifestationszeit”. Oznacza on stan organizmu charakteryzujący się utratą równowagi, zdolności swobodnego poruszania się i osłabioną reakcją na bodźce zewnętrzne. Organizm przeniesiony w tym czasie do wody czystej powraca do stanu normalnego, pozostawiony w środowisku zatrutym ginie. Stan fizjologiczny zwierząt odpowiadający „Manifestationszeit” został nazwany przez Kamińskiego [20., 1964] i Solskiego [41., 1968] „porażeniem”.

Porażenie i śmierć - dwa charakterystyczne stany fizjologiczne w procesie trucia uznane zostały za podstawowe symptomy toksycznego oddziaływania trucizn na organizmy testowe.

Stężenie trucizn, wywołujące u zwierząt niekorzystne zmiany odpowiadające „porażeniu” nazywamy subletalnymi, natomiast stężenia powodujące ich śmierć - letalnymi.

W obrębie stężeń subletalnych wyróżnia się:

- **stężenie graniczne** - najwyższe stężenie trucizny w którym nie stwierdzono ujemnego wpływu (wystąpienia reakcji porażenia) na organizmy testowe,
- **stężenie progowe** - najniższe stężenie trucizny w którym stwierdza się pojawienie pierwszych szkodliwych objawów (wystąpienie reakcji porażenia) u organizmów testowych,

Ze stężeniem progowym wiąże się pojęcie i symbol PC (paralysis concentration), który oznacza najwyższe stężenia trucizny powodujące objawy porażenia.

Ponadto istnieje pojęcie stężenia efektywnego, wyrażonego symbolem EC (effective concentration), wywołującego określony skutek:

- **u zwierząt** - odchylenia w rytmie pracy serca, w ruchach pokryw skrzelowych u ryb, zaburzenia w poborze tlenu do oddychania itp.,
- **u roślin** - obniżenie fotosyntezy, zmniejszenie turgoru, zmiany w zawartości chlorofilu itp.

Pełne wyrażenie wyżej scharakteryzowanych stanów, wywołanych określonymi stężeniami trucizn przedstawia się następująco:

- EC 10/24 - stężenie trucizny powodujące określony skutek u 10% organizmów testowych po 24 godz. trwania doświadczenia,

- PC 50/48 - najwyższe stężenie trucizny, wywołujące objawy porażenia u 50% organizmów testowych po 48 godzinach trwania doświadczenia,
- LC 50/96 - stężenie trucizny, wywołujące śmierć 50% organizmów testowych po 96 godz. prowadzonych doświadczeń.

### 3.

Zasadniczym celem badań biotoksykologicznych jest ochrona wód przed toksycznym zanieczyszczeniem. Na podstawie biotestów dokonuje się oceny toksyczności trucizn i stopnia ich zagrożenia dla biocenozy wodnej. Stosując testy biologiczne można dokonać również identyfikacji oraz ilościowego oznaczenia toksycznych związków w wodzie. Np. Kamiński [21., 1964] określił grupową przynależność określonych trucizn na podstawie objawów symptomatologicznych a do jakościowego ich rozpoznania zastosował tzw. klucz wielotestowego oznaczania granicznych stężeń oraz klucz wskaźników toksykodynamicznych. W pewnych przypadkach stwierdzono wyższość metody biologicznej nad chemiczną, jest czulsza i pozwala na bardziej ścisłe ilościowe określenie badanego związku chemicznego.

Za właściwe podejście do ochrony gleby, wód powierzchniowych i gruntowych przed zanieczyszczeniem odpadami należy uznać wykorzystanie metod biologicznych do oceny trucizn, przedostających się ze składowisk odpadów do otaczającego środowiska [23. Kempa i inni, 1989].

Ujemne skutki zanieczyszczeń można najłatwiej stwierdzić na rybach, stąd też uznawano je najczęściej jako podstawowy wskaźnik wpływu trucizn na biocenozę zbiornika wodnego.

Na potrzebę uwzględnienia w badaniach toksykologicznych przedstawicieli innych organizmów, odgrywających ważną rolę we właściwym funkcjonowaniu całego ekosystemu zwracali uwagę Bringmann i Kühn [5., 6., 1959], König [25., 1964] i inni. Stąd też pojawiło się wiele prac, zmierzających do poszerzenia listy organizmów testowych o nowe gatunki: *Fontinalis antipyretica* [16. Hanuska, 1963], larwy *Aedes aegypti* [8. Byrdy, 1963], kijanki *Xenopus laevis* Daudin [9. Cabejszek J., Wójcik J. 1968], *Lemna minor* [43. Solski, 1977, 45. Solski i inni, 1971], *Sphaerotilus natans* [32. Pawlaczyk-Szpilowa i inni, 1975], *Dugesia*

tigrina [36. Piontek, 1985], *Gammarus varsoviensis* [40. Słomczyńska, 1985].

Z dotychczasowych publikacji traktujących o metodach badań biotoksykologicznych w środowisku wodnym na wyróżnienie zasługują: *Ausgewählte Methoden* [2., 1970], *Standard methods* [52., 1971], *Unificiowane metody badania jakości wody* [55., 1983].

Z licznych prac wynika, że rezultaty badań zależą nie tylko od gatunku, lecz również od stanu fizjologicznego organizmów testowych. Np. Bringmann i Kühn [7., 1960] stwierdzili, że wrażliwość na trucizny młodych rozwielitek jest większa i w związku z tym zalecali używania do doświadczeń populacji w wieku 24 godzin. Podobnie Schäperclaus [39., 1954] podaje, że larwy *Cyclops* były bardziej czułe na chlor niż osobniki dorosłe. Do interesujących należą obserwacje Pfaffa [33., 1955], który stwierdził, że rozwielitki wylęgłe na wiosnę były około 1000 razy bardziej wrażliwe od populacji letnich.

Iyatom i inni [20., 1958] stwierdzili, że Endrin (pestycyd) działał na karpia odmiennie niż należało oczekiwać, gdyż ich wrażliwość oceniana na podstawie LC 50 wzrastała z wiekiem: ikra -  $19.9 \text{ mg} / \text{dm}^3$ , larwa (4 dni) - od  $10.7$  do  $4.2 \text{ mg} / \text{dm}^3$ , larwa (5 - 6 dni) - od  $0.061$  do  $0.046 \text{ mg} / \text{dm}^3$ , mała rybka (5 cm) -  $0.005 \text{ mg} / \text{dm}^3$ . Badania Pickeringa i innych [34., 1962] wykazały największą wrażliwość *Phoxinus* sp. na dwa insektycydy fosforoorganiczne w wieku 17 dni, podczas gdy w pozostałych okresach rozwoju osobniczego układały się różnie. Jednak ryby w stadium młodocianym są mniej odporne od ryb dorosłych. Wyniki badań Neuholda i Singlera [30., 1960], Liebmann [26., 1960], Kamler i innych [22., 1974] potwierdzają dużą wytrzymałość ikry na wysokie stężenia trujących substancji. Solski [41., 1968] w badaniach nad stopniem toksyczności Atrazyny (herbicyd) na rozwój embrionalny i postembrionalny *Cyprinus carpio* i *Esox lucius* wykazał największą wrażliwość tych ryb w wieku około 5 dni, zaś najmniejszą w stadium rozwoju embrionalnego.

W celu określenia wpływu subtelnego stężenia trucizn na organizmy wodne opracowano wiele metod. Na uwagę zasługują metody, polegające na rejestracji zachowania się odruchów ryb. Halsband [15., 1962] zbudował odpowiednie akwarium w którym istniały dwa środowiska: czyste i zatrute. Wpuszczone tam ryby w ilości 6 szt. miały możliwość

swobodnego poruszania się i wyboru miejsca. Na podstawie 4 godz. obserwacji zachowania się ryb i wystąpienia u nich „Fluchtreaktion” tj. ucieczki ze środowiska zatrutego ustalał wielkość stężenia progowego. Sprague i Drury [51., 1968] skonstruowali aparat, który pozwalał na prowadzenie obserwacji zachowania się ryb i pojawienia się reakcji unikania tzw. „avoidance reaction”. W przeprowadzonych badaniach nad toksycznością chloru stwierdzili wystąpienie zjawiska chemotaksji; stężenie  $0.1 \text{ mg} / \text{dm}^3$  chloru było dla ryb „nęcające” a równocześnie zabójcze (powodowało po 4 dniach śmierć ryb) podczas gdy stężenia chloru niższe i wyższe od  $0.1 \text{ mg} / \text{dm}^3$  odstraszały ryby.

Warner i inni [56., 1966] zbudowali bardziej skomplikowany aparat „CARA” (Conditional Avoidance Response Apparatus). Ryby umieszczono w odpowiednich stężeniach trucizn i poddawano bodźcom świetlnym, elektrycznym i fonetycznym. Wpływ trucizn oceniano na podstawie reakcji ryb na odpowiednio ułożony program bodźców, który rejestrowano na taśmie filmowej.

Do grupy metod określających wielkość subletalnych trucizn kwalifikują się metody, polegające na rejestracji procesów metabolicznych, zachodzących w organizmie testowym (zapis pracy serca w elektrokardiografie, pomiar zużytego tlenu w respirometrze, pomiar zawartości hemoglobiny, methemoglobiny i cukru we krwi, zawartości białek w surowicy, poziomu esterazy cholinowej i innych wskaźników) [27. Łukanienko, 1973]. Ocenę stopnia toksyczności na podstawie procesów oddychania (pobór tlenu, ilość oddechów) u ryb i innych organizmów wodnych prowadzili: Denzer [11., 1952], Halsband [13., 1954], Solski [41., 1968], Wróblewski [57., 1977] i inni. Reakcja zwierząt na trujące substancje może się wyrażać zarówno wzrostem, jak też zmniejszeniem ilości pobieranego tlenu w porównaniu z próbą kontrolną. Intensywność oddychania zależy od rodzaju i stężenia trucizny i jak wykazały badania nad wpływem atrazyny na kielża (*Gammarus pulex* L.) i płoci (*Rutilus rutilus* L.) pomiar zużytego tlenu okazał się mniej czułym kryterium niż zapis „porażenia” prowadzony przez doświadczonego obserwatora [41. Solski, 1968].

Określenie granicy między stężeniem subletalnym i letalnym na podstawie makroskopowych obserwacji organizmu testowego jest sprawą trudną. Okazuje się, że u larw karpia uznanych za martwe z powodu zaniku



odruchów i zmian zabarwienia ciała, biło jeszcze serce oraz krążyły czerwone ciała krwi w centralnej - głowowej części ciała, co można było stwierdzić pod szkłem powiększającym. Należy jednak podkreślić, że zaobserwowane zmiany u larw karpia prowadziły do ich śmierci [41. Solski, 1968].

Proces trucia jest procesem ciągłym [58. Wuhrmann i Woker, 1958]. Kamiński [21., 1966] w badaniach nad działaniem inhibitorów esterazy cholinowej na *Daphnia magna*, analizując przebieg reakcji organizmu na truciznę wyróżnił 3 fazy: ataksję (RT-I), porażenie toniczne (RT-II) i śmierć (RL). W przypadku, gdy obserwacje procesu trucia trwają kilka dni (4-5 dni) mówi się o toksyczności ostrej. Nie we wszystkich jednak sytuacjach zachowanie tego terminu jest możliwe i uzasadnione [49. Solski i Piontek, 1987]. W badaniach krótkotrwałych dąży się do ustalenia wartości: EC, PC i LC, co wymaga przygotowania szeregu stężeń badanych trucizn.

Prowadzenie zapisu reakcji porażenia umożliwia dokonanie oceny stopnia toksyczności substancji słabo trujących przez wyznaczenie stężenia progowego lub granicznego. Nie u wszystkich organizmów testowych proces trucia przebiega na tyle wyraźnie, by można było stan porażenia określić w sposób definitywny i nie budzący wątpliwości. Przyjęcie zatem przez badaczy niemieckich [54. Tscheu-Schlüter, 1983] za stężenie progowe (Schwellenwert) wartości LC 10 wydaje się być rozwiązaniem uzasadnionym.

Zdarza się, że niskie stężenia trucizn ujemny wpływ ujawniają po dłuższym okresie działania na organizm lub dopiero u jego potomstwa. Mówimy wówczas o toksyczności chronicznej. Ponieważ toksyczność chroniczną można określić na podstawie obserwacji, prowadzonych przez okres całego życia zwierząt doświadczalnych a następnie przez 2-3 pokolenia, dotrzymanie tego warunku napotyka na poważne trudności ze względu na długi czas trwania badań. Pickering i Gast [35., 1972] oceniali wpływ toksyczności kadmu na ryby (*Pimephales promelas*) po dwuletnim okresie badań. Aby uniknąć długotrwałych obserwacji wykorzystano organizmy wodne, charakteryzujące się krótkim okresem życia i dużą zdolnością reprodukcyjną. Do takich należy rozwielitka (*Daphnia magna*), która dojrzałość płciową osiąga w 11-12 dni a średni okres życia wynosi u niej ok. 40 dni [38. Puszczejewa, 1976]. Używając do badań chronicznych rozwielitki, czasokres ich trwania wynosi 70-80 dni [44. Solski, 1983]. Za

interesującą propozycję należy uznać metodę, w której jako organizmu testowego wykorzystano przedstawiciela robaków - wyplawka *Dugesia tigrina* Girard [49. Solski i Piontek, 1987].

Jako kryterium oceny w badaniach toksyczności chronicznej przyjmuje się przeżywalność, przebieg rozwoju osobniczego i reprodukcję [29. Mount i Stephan 1969, 28. Macek i inni, 1976]. Rozwój i wzrost organizmów testowych określa się na podstawie pomiarów ciężaru ciała, zmian morfologicznych oraz fizjologicznych, jak np. całkowitej zawartości protein [4. Biesinger i Glenn, 1972] i innych wskaźników. Nie bez znaczenia są badania anatomopatologiczne zwierząt a w przypadku roślin ocena ich stanu fizjologicznego na podstawie pomiaru fotosyntezy, oddychania i zawartości chlorofilu. Niektóre substancje trujące mogą wywołać u zwierząt testowych zmiany morfologiczne ciała, typowe dla danej trucizny. Występowanie tego rodzaju zmian symptomatologicznych u organizmów testowych obserwował Kamiński [21., 1964], sugerując wykorzystanie tego rodzaju zjawiska do rozpoznawania trucizn. Solski [41., 1968] stwierdził pojawienie się u larw karpia wygięcia brzuszego ciała pod wpływem Atrazyny oraz wygięcia grzbietowego ciała larw i równocześnie nadmiernego „rozwoju” tkanki nerwowej (mózgu) pod wpływem etyloksantogenu sodu [42. Solski, 1971].

Badania toksykologiczne dotyczyć mogą różnych poziomów organizacyjnych życia. Zwirgds i Bałynia [59., 1969] użyli do doświadczeń nad toksycznością soli sodowej 2,4-D (herbicyd) mitochondria (poziom subkomórkowy), wyizolowane z wątroby karpia, śledząc ich aktywność w procesie utleniania kwasu bursztynowego. Kornatowska i Szczepański [24., 1972], określali stopień toksyczności tej samej substancji dla roślin na podstawie ruchu chloroplastów u *Elodea canadensis*. Badania na poziomie komórki prowadzili między innymi: Halsband [14., 1961], który poddawał działaniu trucizn krew pobraną u ryb z arteria dorsalis, śledząc pod mikroskopem powierzchnię czerwonych ciałek krwi i zmian w ich jądrach, Bałbarzdis i inni [3., 1968], którzy do podobnych celów użyli krwi ludzkiej, przyjmując jako kryterium toksycznego działania czas w którym hemolizie ulegało 50% czerwonych ciałek krwi (tzw. metoda erytrogramów) i inni. Badania Halsbanda [13., 1954], Warnera i innych [56., 1966], Sprague i Drury [51., 1968], Solskiego [41., 1968] i inne, polegające na doświadczeniu

z jednym lub kilkoma osobnikami, dotyczą wyższego poziomu życia - poziomu organizacyjnego.

Znaczna ilość metod opiera się o doświadczenia z większą ilością osobników danego gatunku (sięgające kilkuset). Zaliczamy je do poziomu populacji. Wyższość metod tego poziomu nad poprzednimi polega na reprezentatywności zaś uzyskane wyniki mogą być poddane analizie statystycznej.

Każdy wyższy poziom organizacyjny życia nie jest sumą elementów poziomu niższego, lecz stanowi odrębną jednostkę, którą rządzą i kierują inne prawa [31. Odum, 1963]. Z tych względów zwraca się uwagę na potrzebę wykorzystania w badaniach nad toksycznością trucizn zespołów organizmów wodnych, tworzących ekosystem [53. Stroganow, 1977]. Prób wykorzystania ekosystemu do badań toksykologicznych jest niewiele. Należą do nich prace: Hentricha i innych [17., 1978], Solskiego [44., 1983], Solskiego i Erndt [47. 1987, 48. 1987]. Do tej grupy metod można zakwalifikować metodę w której obiektem badań jest osad czynny [37. Praca zbiorowa, 1977].

Z dokonanego przeglądu metod toksykologicznych wynika, że w zależności od czasokresu trwania doświadczeń wyróżniamy metody określające toksyczność ostrą i chroniczną. Z kolei z uwagi na podmiot badań wyróżniamy metody, dotyczące kilku poziomów organizacyjnych życia: organelle (elementy komórki), komórkę, populację i ekosystem. W zależności od sposobu przeprowadzania doświadczeń, polegającego na różnej częstotliwości wymiany roztworów trucizn, wyróżniamy metody statyczne, półstatyczne i ciągłe. Wielu autorów podkreśla, że badania toksyczności ostrej są niewystarczające i należałoby się zająć bliżej efektami subletalnymi [1. Aldredice 1967, 10. Carins 1966, 12. Fujiya 1965].

Istnieje zatem duża ilość propozycji w określeniu toksycznego wpływu trucizn na biocenozę wodną.

Badania toksykologiczne powinny być prowadzone w wielu kierunkach i zmierzać do:

- poznania wpływu trucizn na mniejsze elementy żywej komórki (poziom molekularny i subkomórkowy),
- poszukiwania nowych organizmów wskaźnikowych, odznaczających się dużą wrażliwością na trucizny (również oddziaływanie selektywne),

- opracowanie metod, umożliwiających prześledzenie wpływu trucizny na określone elementy łańcucha pokarmowego (poziom ekosystemu).

## LITERATURA

- [1] **ALDREDICE D.D.:** *The detection and measurement of water pollution-biological assays.* Canada Dep. Fisheries; Can. Fish. Rep., 9, 33-39. 1967.
- [2] *Ausgewahlte Methoden der Wasseruntersuchung.* Bd II, VEB, Gustav Fischer Verlag, Jena. 1970.
- [3] **BALBARZDIS Z.J., SŁAWA E.E., SANSA W.K.:** *Izuczenie diejstwija niekotorych gierbucidow kak strukturno-razruszajuszczich faktorow.* Saint. Godrob. i Wodn. Tokas., T. II, Riga, 11-17. 1968.
- [4] **BIESINGER K.E., GLENN M.CH.:** *Effects of various metals on survival, growth, reproduction and metabolism of Daphnia magna.* J.Fish. Res. Board Can., 29 (12), 1691-1700. 1972.
- [5] **BRINGMANN G., KUHN R.:** *Wassertoxikologische Untersuchungen mit Protozoen als Testorganismen.* Gesundheits-Ing., 80, 8, 239-242. 1959b.
- [6] **BRINGMANN G., KUHN R.:** *Vergleichende Wassertoxikologische Untersuchungen an Bakterien, Algen und Kleinkrebsen.* Gesundheits.-Ing., 80, 4, 115-120. 1959a.
- [7] **BRINGMANN G., KUHN R.:** *Zum Wassertoxikologischen Nachweis von Insektiziden.* Gesundheits. Ing., 81, 8, 234-244. 1960.
- [8] **BYRDY S.:** *Larwy komara egipskiego - Aedes aegypti L. jako bioindykatorów przy oznaczaniu pozostałości w materiale roślinnym.* Polskie Pismo Entomol., 3-4, 14, 129-151. 1963.
- [9] **CABEJSZEK J., WÓJCIK J.:** *Próba zastosowania kijanek Xenopus laevis Daudin przy badaniach pestycydów w wodzie.* Roczn. PZH, 19, 499-506. 1968.
- [10] **CARINS J.:** *Dont be half-safe-the current revolution in bioassay techniques.* Proc. 21-st ind. Waste Conf. Pardue Unif. Eng. Extn. Ser. 121, 559-557. 1966.

- [11] **DENZER H.A.:** *Aktue Hypoxie und Atemfrequenz bei Regenbogenforellensetzlingen.* Fischwirt. Jhrg., 2, 7. 1952.
- [12] **FUJIYA M.:** *Physiological estimation on the effects of pollutants upon aquatic organisms.* Adv. Wat. Pollut. Res., Proc. Second Internat. Conf. held in Tokyo, 1964, Pergamon Press, Oxford, 3, 315-331. 1965.
- [13] **HALSBAND E.:** *Untersuchungen uber Störungsschwellen in Stoffwechsel der Fische und Fischnahrtiere nach Einwirkung verschiedener Abwassergifte.* Arch. f. Fischereiwiss., 5, 119-132. 1954.
- [14] **HALSBAND E.:** *Die Veranderungen der Blutkorpchen von Fischen durch den Einfluss verschiedener Toxine.* Fischwirt. Eng., 11, 10, 336-340. 1961.
- [15] **HALSBAND E.:** *Störungsschwelle und Fluchtreaktion bei Fischen unter der Einwirkung von Abwassergiften.* Inf. F. Fischwirt., 112, 23-24. 1962.
- [16] **HANUSKA L.:** *Bestimmung der Toxizitat in Wasser mit Hilfe des Quellmoses-Fontinalis antipyretica L.,* Biologia, Bratislava, 23, 9, 728-730. 1963.
- [17] **HENTRRICH C., SCHMALAND G., KRAMER D.:** *Moglichkeiten zur Einschätzung der praxie relevanten Toxizitat Von Wasserschadstoffen durch Verwendung von Laboratoriumsmodellen mit Okosystem-charakter.* Acta Hydrochim. Hydrob., 6(3), 183-190. 1978.
- [18] **IYATOMI H., TAMURA T., IZATAWA J.:** *Toxicity of endrin to fish.* Prog. Fish. Cult., 20, 4, 155-162. 1958.
- [19] **KAMINSKI A.:** *Wielotestowa charakterystyka toksykodynamiczna trucizn owadobójczych na zwierzętach zimnokrwistych.* Zasz. Probl. Post. Nauk Roln., 51, 137-140. 1964a.
- [20] **KAMIŃSKI A.:** *Zastosowanie wskaźników przyrostu reakcji i trwałości działania do testowego rozpoznawania trucizn owadobójczych w ilościach śladowych.* Zesz. Probl. Podst. Nauk Roln. 51, 141-145. 1964b.

- [21] **KAMIŃSKI A.:** *Biologiczna analiza testowa śladowych ilości trucizn esterazy cholinowej na hodowlanych skorupiakach wodnych.* Wojsk. Inst. Hig. Epid., Warszawa, 19-49. 1966.
- [22] **KAMLER E., MATLAK O., SROKOSZ K.:** *Further observations on the effect of sodium salt 2,4-D on early developmental stages of carp (*Cyprinus carpio* L.).* Pol. Arch. Hydrobiol., 21, 34, 481-502. 1974.
- [23] **KEMPA E.S., JĘDRCZAK A., PIONTEK M., SOLSKI A.:** *Toxicity of water extracts of hazardous waste. Proc. Watershed 89 - „The future of water quality in Europe”, Guildford Surrey 17-20 April, pp.9.* 1989.
- [24] **KORNATOWSKA R., SZCZEPAŃSKI A.:** *The influence of 2,4\_d on chloroplast movement in *Elodea canadensis* Rich.* Bull. Acad. Pol. Scienc. Cl. II, XX, 5, 293-296. 1972.
- [25] **KONIG D.:** *Gewässerkundlich biologische Bemerkung zur Grabenentrautung mit chemischen Mitteln.* Wasser u. Boden, 10, 345-349. 1964.
- [26] **LIEBMAN L.:** *Handbuch der fischwasser und Abwasserbiologie.* Bd II, 5, Jena. 1960.
- [27] **ŁUKANIENKO W.J.:** *Fizjologiczeskij Kriterij i metody opredielenija toksiczności w ichtiotoksikologii.* Eksp. Wodnaja Toksikologija, Riga, 9-29. 1973.
- [28] **MACEK K.J., BUXTON K.S., DERR S.K. DEAN J.W., SANTER S.:** *Chronic toxicity of Lindanae to selected aquatic invertebrates and fishes.* EPA-600/3-76-045, 58. 1976.
- [29] **MOUNT D.J., STEPHAN C.E.:** *Chronic toxicity of copper to fathed minnows (*Pimephales promelas*) in soft water.* J. Fish. Res. Board Can., 26, 2449-2457. 1969
- [30] **NEUHOLD J.M., SINGLER W.F.:** *Effects sodium fluoride on carp and rainbow trout.* Trans. Amer. Fisch. Soc., 89, 4, 358-370. 1960.
- [31] **ODUM E.P.:** *Podstawy ekologii.* PWRL, Warszawa. 1963.
- [32] **PAWLACZYK-SZPIŁOWA M., MOSKAL J.:** *Badania nad biodegradacją i toksycznością niektórych fosforanów organicznych*

- (cz. II). Raport nr 152, Inst. Inż. Ochr. Środ..Polit. Wrocławskiej (typescript). 1975.
- [33] **PAFF W.:** *Der Daphnientest zum Nachweis von Kontaktinsektiziden.* Zeit. f. Pflanzenkrankheiten, 62, 361-370. 1955.
- [34] **PICKERING Q.H., HENDERSON C., LEMKE A.E.:** *The toxicity of organic phosphorus insecticides to different species of warm-water fishes.* Trans. Amer. Fish. Soc., 9, 175-184. 1962.
- [35] **PICKERING Q.H., GAST M.H.:** *Acute and chronic toxicity of casmium to the fathed minnow (Pimephales promelas).*J. Fish. Res. Board Can. 29, 8, 1099-1106. 1972.
- [36] **PIONTEK M.:** *Wykorzystanie wyplawka Dugesia tigrina (Girard) jako organizmu testowego do badań toksykologicznych.* Ph. D. Thesis, Wrocław, Inst.Inż.Ochr.Środ., Politechniki Wrocławskiej. 1985.
- [37] **PRACA ZBIOROWA** - *Przebadanie różnych metod i ujednoczenie metod pomiaru biodegradacji.* Inst.Meteorologii i Gosp.Wodnej, Gdańsk (typescript). 1977.
- [38] **PUSZAJEWA T. JA.:***Biologija Daphnia magna Straus i produkcja jego populacji w cz. Bugajewo (Krasnojarskij kraj).*Gidrob. żurnał, XII, 1, 105-108. 1976.
- [39] **SCHAPERCLAUS W.:** *Fischkrankheiten.* Berlin. 1954.
- [40] **SŁOMCZYŃSKA B.:** *Aktywność pokarmowa kielża Gammarus varsoviensis jako parametr pomiarowy toksyczności chronicznej wybranej substancji toksycznej.* Inst.Meteorologii i Gosp. Wodnej Warszawa (typescript). 1985.
- [41] **SOLSKI A.:** *Ocena herbicydów dla celów rybackich.* Zesz.Nauk.OTPN, 8, 61-126. 1968.
- [42] **SOLSKI A.:** *Wpływ toksyczny ksantogenu etylowo-sodowego na niektóre organizmy wodne.* Mat. Bad. IGW, Warszawa, Seria: ochrona wód przed zanieczyszczeniam, nr. 4, 1-25. 1971.
- [43] **SOLSKI A.:** *Metodyka badań biotoksykologicznych w środowisku wodnym.* Inst. Meteorologii i Gosp. Wodnej, Wrocław (typescript). 1977.

- [44] **SOLSKI A.:** *Ocena stopnia toksyczności trucizn w badaniach modelowych ekosystemu wodnego. „Bioindykacja skażeń przemysłowych i rolniczych”*. Konf. 14-15.XI.1980, PAN, Wrocław, 237-249. 1983.
- [45] **SOLSKI A., RZEWUSKA E., WERNIKOWSKA-UKLEJA A.:** *Zastosowanie rzęsy drobnej (*Lemna Minor L.*) jako organizmu testowego do badań toksykologicznych*. Imst. Gosp. Wodnej, Wrocław (typescript). 1971.
- [46] **SOLSKI A., ŁYSKAWA K., RZEWUSKA E.:** *Wzrost toksycznego działania ksantogenianu etylowo-sodowego na organizmy wodne pod wpływem wolnego chloru*. Mat. Bad., IGW, Warszawa, Seria: Ochrona wód przed zanieczyszczeniem, nr 9, 1-26. 1972.
- [47] **SOLSKI A., ERNDT E.:** *An assesment of Rokanol toxicity to a population and to an aquatic ecosystem*. Pol. Arch. Hydrobiol., 34, 4, 551-556. 1987.
- [48] **SOLSKI A., ERNDT E.:** *Application of tests at population and ecosystem levels for estimation of toxicity of selected non-ionic detergents*. Acta Hydrob., 29, 4, 387-402. 1987b.
- [49] **SOLSKI A., PIONTEK M.:** *The use of the planarian *Dugesia tigrina* Girard for the assesment of chronic intoxications*. Pol. Arch. Hydrobiol. 34, 4, 543-550. 1987.
- [50] **SPRAGUE J.B.:** *Measurement of pollutant toxicity to fish*. III. Wat. Res. Pergamon Press, 5, 245-266. 1971.
- [51] **SPRAGUE J.B., Drury D.E.:** *Avoidance reaction of salmonid fish to representative pollutants*. Inf. Conf. Water Pollut. Res., Prague. 1968.
- [52] *Standard methods for examination of water and wastewater*. 13-th edition, Amer. Public Health Assoc., 1015, Eighteenth Street, N.W., Washington. 1971,
- [53] **STROGANOW N.S.:** *Razwitije i uspiechi wodnoj toksikologii w SSSR*. Hidrob. żurnal, XIII, 5, 47-57. 1977.
- [54] **TSCHEU-SCHUTER M.:** - *Zur Toxizitat einfacher und komplexer Cyanide gegenuber Wasserorganismen*. Acta hydrochim. et hydrobiol., 11, 2, 169-179. 1983.



- [55] *Unificirowannyje metody issledowanija kaczestwa wod. czast III, Metody biologiczeskogo analiza wod*, Sowiet Ekonomiczeskoj wzaimopomoszczzi, Moskwa. 1983.
- [56] **WARNER R.E., PETERSON K.K., BORGMANN L.:** *Behavioral pathology in fish: a quantitative study of sublethal pesticide toxication*. J. App. Ecology, 3 (suppl.), 223-247. 1966.
- [57] **WRÓBLEWSKI R.J.:** *Fizjologiczna i behawioralna charakterystyka wpływu chlorfenwinfosu na ryby (Lebistes reticulatus Peters.)*. Ph. D. Thesis, Zakład Bioenergetyki Ekologicznej, Inst. Ekologii, PAN, Dziekanów Leśny k/Warszawy. 1977.
- [58] **WUHRMANN K., WOKER H.:** *Vergiftungen der aquatischen Fauna durch Gewasserverunreinigungen*. Verh. Int. Verein. Limnol., XIII, 557-583. 1958.
- [59] **ZWIRGDS J., BAŁYNIA Z.M.:** *Podawlenije sukcinatoksidaznoj aktiwnosti mitochondrij pieczeni karpa natrijowej solu 2,4-D*. Biologija, Izd. Akad. Nauk ŁSSR, 12, 30-33. 1969.