

Agnieszka Wachalowicz, Anna Czaplicka-Kotas, Ewa Szalińska

Biodostępność chromu z osadów dennych dla larw *Chironomus riparius*

Znaczącą gałęzią przemysłu w zlewni górnego Dunajca jest garbarstwo. Powszechnie stosowanymi garbnikami mineralnymi są związki chromu(III), które stabilizują białko skóry tworząc z nim związki kompleksowe. Wyczerpane brzezki garbarskie zawierają maksymalnie 30% początkowej ilości chromu, czyli ok. $5 \text{ kgCr}_2\text{O}_3/\text{m}^3$. W małych garbarniach ścieki chromowe są nierzadko odprowadzane bezpośrednio do odbiornika [1–3]. Związki chromu w środowisku wodnym ulegają strąceniu i akumulacji w osadach dennych w postaci nierozpuszczalnych tlenków. Chrom pochodzący ze ścieków garbarskich ma silną tendencję do wiązania się z substancjami organicznymi [4]. Badania opisane w pracy [3] wykazały, że w zlewni górnego Dunajca wody są okresowo (od listopada do stycznia) zanieczyszczane związkami chromu, przez co dochodzi do okresowej kumulacji chromu w osadach dennych – w szczególności w rejonach zrzutu nieoczyszczonych ścieków. Z tego względu szczególnie dobrym wskaźnikiem biodostępności chromu (dostępności dla organizmów żywych) powinny być organizmy bytujące w osadach – bezkręgowce bentosowe.

Do bezkręgowców bentosowych zaliczane są m.in. organizmy z rodziny *Chironomidae*, w skład której wchodzi gatunek *Chironomus riparius*. Jest to grupa bardzo liczna, ale i najszerszej spotykana – do obszarów występowania można zaliczyć zarówno potoki, rzeki, jeziora i morza jak i wody bardzo zanieczyszczone – np. obecność larw *Chironomus riparius* stwierdzono w kanale ściekowym [5]. Oprócz tego larwy *Chironomidae* mają ogromne znaczenie w środowisku, gdyż stanowią bardzo ważny element łańcucha pokarmowego. Pożywienie ochotkowatych stanowią obumarłe szczątki roślinne znajdujące się w osadach dennych, podczas gdy larwy te są pokarmem dla wielu gatunków ryb, kilku gatunków pijawek, wszystkich widelnicowatych i otwornicowatych [6,7]. Cechy te decydują o wykorzystaniu gatunku *Chironomus riparius* do badania biodostępności zanieczyszczeń zakumulowanych w osadach dennych.

Celem pracy była ocena biodostępności chromu zawartego w osadach dennych dla larw bezkręgowca *Chironomus riparius*.

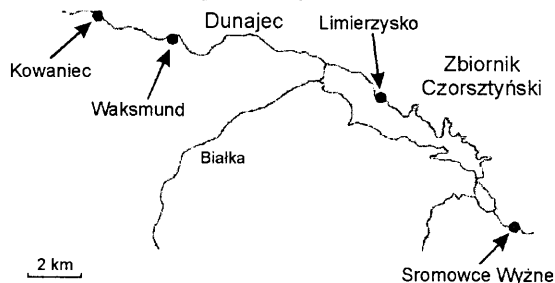
Materiały

Do badań wykorzystano larwy (2–3 stadium larwalne) z gatunku *Chironomus riparius* pochodzące z hodowli laboratoryjnej oraz larwy z rodzin *Chironomidae* i *Oligochaeta* pobrane w terenie. Podczas prowadzenia hodowli laboratoryjnej

wykorzystano standardowy protokół opracowany przez Eatona i wsp. [8]. Jaja do zapoczątkowania hodowli pochodziły z Instytutu Forela Uniwersytetu Genewskiego. Do badań wykorzystano także larwy z rodziny *Chironomidae* i *Oligochaeta* o nieznanym gatunku pobrane w terenie, będące w trzecim lub czwartym stadium larwalnym.

Osady wykorzystane do badań pochodziły z czterech punktów w zlewni Dunajca w rejonie Zbiornika Czorsztyńskiego (przekroje Waksmund, Kowaniec i Sromowce Wyżne na Dunajcu) oraz z potoku Limierzysko (przekrój ok. 50 m powyżej ujścia potoku do zbiornika). Osady zostały przesiane przez sito o średnicy oczek 1 mm w celu usunięcia grubych zanieczyszczeń i drapieżników oraz wyselekcjonowania organizmów z rodzin *Chironomidae* i *Oligochaeta*. Po przewiezieniu do laboratorium osady poddano napowietrzaniu i niezwłocznie wykorzystano do badań.

Próbki wody pobrano w punktach poboru osadu do pojemników wymytych kwasem azotowym (10%) i trzykrotnie wodą zdejonizowaną oraz wypłukanych przed pobraniem próbki wodą z punktu poboru (rys. 1).



Rys. 1. Lokalizacja punktów poboru próbek
Fig. 1. Location of sampling sites

Próbki kontrolne stanowił osad sztuczny przygotowany z dwutygodniowym wyprzedzeniem. W tym celu do 1 dm^3 czystego piasku kwarcowego o drobnym uziarnieniu ($120 \div 250 \mu\text{m}$) dodano 1 g pokarmu dla ryb TetraMin[®] (prod. Tetra) oraz 1 dm^3 wody wodociągowej zdechlorowanej za pomocą środka do dechloracji AquaSafe[®] (prod. Tetra), a następnie umieszczono w butli i poddano napowietrzaniu przy użyciu pompki akwarystycznej.

Metodyka badań

Przebieg testów laboratoryjnych

Osad naturalny został pobrany 2 d przed rozpoczęciem badań. W jednym z eksperymentów wykorzystano osady zmieszane otrzymane przez wymieszanie osadu naturalnego zanieczyszczonego ściekami garbarskimi pobranego w terenie z osadem niezanieczyszczonego metalami pochodzącym

z punktu referencyjnego. Proporcje ilości osadu zanieczyszczonego i niezanieczyszczonego oznaczono jako 0%, 30%, 50%, 70% i 100% (zawartość w % oznacza odpowiednio, że do otrzymania próbki oznaczonej 0% użyto wyłącznie osadu niezanieczyszczonego, do otrzymania próbki oznaczonej 30% użyto 3 części osadu zanieczyszczonego i 7 części osadu niezanieczyszczonego itp., natomiast w przypadku próbki oznaczonej 100% użyto wyłącznie osadu zanieczyszczonego).

Badania przeprowadzono w szklanych naczyniach testowych o pojemności 1000 cm³. W każdym umieszczono 150 cm³ osadu i dopełniono wodą (pobraną w punkcie poboru osadu) do 900 cm³. Każdą próbkę poddano napowietrzaniu przez 2 d. W badaniach wykorzystano larwy sześciodniowe, które przełożono do pojemników testowych za pomocą plastikowej pipety. W każdym z pojemników umieszczano po dwadzieścia osobników, wkładając je delikatnie pod powierzchnię zwierciadła wody. Larwy karmione były roztworem pokarmu (płatki dla ryb TetraMin[®] w wodzie zdechlorowanej o stężeniu 4 kg/m³) podczas pierwszej, trzeciej i czwartej doby testu. Badania zakończono po upływie czterech dob pobraniem larw z próbki osadu – w tym celu osad przesiano przez sito o średnicy oczek 1 mm.

Przebieg testu terenowego

W dniu rozpoczęcia badań pobrano osad naturalny. Do przeprowadzenia badań zastosowano klatki pionowe opisane w pracy [9]. W każdej z klatek umieszczono przesiany osad do wysokości dolnej krawędzi okien i dopełniono wodą (pobraną w punkcie poboru osadu). W badaniach wykorzystano larwy sześciodniowe, które przełożono do klatek za pomocą plastikowej pipety umieszczając je delikatnie pod powierzchnią wody (po 20 osobników do każdej klatki). Nie stosowano dodatkowego karmienia – źródłem pokarmu były substancje organiczne zawarte w osadach i dopływające w postaci zawiesiny przez okna w klatkach. Badania zakończono po upływie czterech dob pobraniem larw z próbki osadu, w tym celu osad przesiano przez sito o średnicy oczek 1 mm.

Mycie osobników

Wyjęte larwy wstępnie wypłukano w wodzie wodociągowej. Następnie przełożono je do wody zdejonizowanej na 5 min, potem umieszczono na 10 min w 0,001 molowym roztworze EDTA i na koniec ponownie umieszczono je na 5 min w wodzie zdejonizowanej. Po wykonaniu pełnej sekwencji mycia osobniki wysuszone na papierze, umieszczono w odpornej na mrożenie tubce i zamrożono w ciekłym azocie. Tak przygotowane próbki przechowywano w zamrażarce w temperaturze -13 °C do momentu wykonania ekstrakcji przez czas nie dłuższy niż dwa miesiące.

Oznaczenie zawartości chromu w *Chironomidae* i *Oligochaeta*

W celu przeprowadzenia ekstrakcji zamrożone próbki *Chironomidae* i *Oligochaeta* umieszczono w suszarce w temperaturze 50 °C na jedną dobę. Po tym czasie zważono próbki i dodano odczynniki – 0,5 cm³ kwasu azotowego cz.d.a. o stężeniu 65% (POCH) oraz 0,1 cm³ perhydrolu cz.d.a. o stężeniu 40% (Chempur), a następnie pozostawiono na dobę. Na koniec próbki umieszczono na 40 min w temperaturze 100 °C. Po wystudzeniu odwirowano je (15 min, 4000 obr./min) i rozcieńczono 50-krotnie.

Zawartość chromu w próbkach *Chironomidae* i *Oligochaeta* oznaczono metodą ICP-MS z użyciem spektrofotometru

emisyjnego z plazmą wzbudzoną OPTIMA 2000 (Perkin Elmer), przy długości fali 267,716 nm, czasie integracji 20 s i granicy oznaczalności 0,002 g/m³, w akredytowanym laboratorium Wojewódzkiego Inspektoratu Ochrony Środowiska w Krakowie.

Oznaczenie zawartości chromu w osadach

Przesiany wstępnie osad wysuszone a następnie roztarto w moździerzu. Pobrano 0,5 g osadu do tygielka i prażono w temperaturze 450 °C przez 8 h. Potem próbkę wystudzone i umieszczono w kolbie okrągłodennej wraz z 30 cm³ wody dwukrotnie destylowanej dodając 2,5 cm³ kwasu azotowego cz.d.a. 65% (POCH). Próbkę ogrzewano przez ok. 40 min (do odparowania połowy wody) i dodano 1 cm³ perhydrolu cz.d.a. 33% (POCH). Następnie ogrzewano kolbę do zmiany koloru próbki na żółtooliwkowy. Dodano 35 cm³ wody podwójnie destylowanej i gotowano próbkę przez minutę. Próbkę ostudzono i poddano sączeniu przez sączki myte trzykrotnie wodą destylowaną i raz wodą podwójnie destylowaną. Przesącz uzupełniono wodą dwukrotnie destylowaną do uzyskania 50 cm³ próbki.

Podczas prowadzenia ekstrakcji posłużono się metodyką podaną w katalogu IOŚ [10], zmodyfikowaną przez Instytut Zaopatrzenia w Wodę i Ochrony Środowiska Politechniki Krakowskiej. Analizę zawartości chromu w osadach wykonano z wykorzystaniem aparatury pomiarowej stosującej metodę FAAS w laboratorium Politechniki Krakowskiej.

Oznaczenie zawartości substancji organicznych

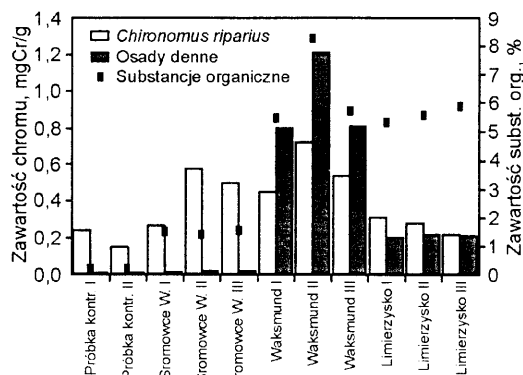
Do tygielków odważono po 2 g przesianego osadu (średnica ziaren do 1 mm), wysuszonego i roztartego w moździerzu. Próbki następnie prażono w temperaturze 550 °C przez 6 h. Po wystudzeniu próbki zważono. Masę substancji organicznych obliczono jako różnicę mas próbki przed i po prażeniu. Na końcu obliczono zawartość substancji organicznych w %.

Wyniki badań

Średnia zawartość chromu w suchej masie osadów z próbek kontrolnych wyniosła 0,007 ±0,002 mgCr/g, natomiast średnia zawartość chromu w suchej masie *Chironomus riparius* z próbek kontrolnych wyniosła 0,195 ±0,064 mgCr/g. Średnia zawartość substancji organicznych w próbkach kontrolnych wyniosła 0,22 ±0,01%.

Eksperyment pierwszy

Zawartość chromu w osadach mieściła się w granicach od 0,014 mgCr/g do 1,206 mgCr/g, natomiast w *Chironomus riparius* była w znacznie węższych granicach – od 0,217 mgCr/g do 0,720 mgCr/g. Zawartość substancji organicznych w omawianych próbkach wahała się od 1,40% do 8,26%. Wyniki eksperymentu pierwszego przedstawia rysunek 2. Z analizy tej zależności wynika, że duża zawartość chromu w *Chironomus riparius* nie zawsze odpowiadała dużej zawartości chromu w osadach. Zawartość chromu w osadach z punktu referencyjnego (Sromowce Wyżne) oraz w próbce kontrolnej była bardzo mała (0,006±0,015 mgCr/g), a mimo to w dwóch próbkach *Chironomus riparius* pochodzących z tych punktów zawartość chromu była bardzo duża (0,493 mgCr/g i 0,575 mgCr/g) – zbliżona do jego ilości w *Chironomus riparius* z próbek najbardziej zanieczyszczonych. Znacznie mniejszą zawartość chromu (0,198±0,217 mgCr/g) stwierdzono natomiast w *Chironomus*



Rys. 2. Zawartość chromu w osadach i w *Chironomus riparius* (eksperyment 1)

Fig. 2. Chromium content in the bottom sediments and in the *Chironomus riparius* organisms (experiment 1)

riparius poddanych działaniu średnio zanieczyszczonych osadów z Limierzyska. W próbkach ze Sromowiec Wyżnych zaobserwowano bardzo małą zawartość substancji organicznych (1,40÷1,53%), podczas gdy zarówno w próbkach z Limierzyska, jak i z Wąksmundu zawartość substancji organicznych była znacznie większa (od 5,31% do 8,26%).

Eksperyment drugi

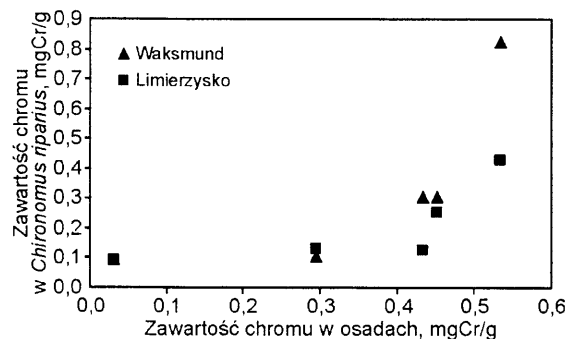
Wyniki drugiego eksperymentu podzielono na dwie serie (tab. 1):

- pierwszą, gdzie osad zanieczyszczonym stanowiła próbka z Wąksmundu,
- drugą, gdzie osad zanieczyszczony stanowiła próbka z Limierzyska.

W pierwszej serii eksperymentu maksymalna zawartość chromu w osadach wyniosła 0,534 mgCr/g – w przypadku tej próbki uzyskano również maksymalną zawartość chromu w *Chironomus riparius* wynoszącą 0,823 mgCr/g. Minimalna zawartość chromu była natomiast równa 0,031 mgCr/g, przy jednoczesnym minimum w *Chironomus riparius* wynoszącym 0,092 mgCr/g. Podobnie kształtowały się wyniki w drugiej serii eksperymentu – jedynie maksymalna ilość chromu była znacznie mniejsza – przy zawartości w osadach wynoszącej 0,215 mgCr/g uzyskano 0,431 mgCr/g w *Chironomus riparius*.

Tabela 1. Wyniki pomiarów (eksperyment 2)
Table 1. Results of measurements (experiment 2)

Zakładany udział osadów z punktu zanieczyszczonego %	Zawartość chromu w osadach mgCr/g	Zawartość chromu w <i>Chironomus riparius</i> mgCr/g	Współczynnik korelacji	Zawartość substancji organicznych w osadach %	Rzeczywisty udział osadów z punktu zanieczyszczonego %
Seria pierwsza – osady z Wąksmundu					
0	0,0309	0,0919	0,86 (ANOVA, p>0,4)	17,72	0
30	0,2950	0,1045		10,08	52,46
50	0,4329	0,3041		5,96	79,84
70	0,4524	0,3052		6,23	83,72
100	0,5343	0,8229		3,90	100
Seria druga – osady z Limierzyska					
0	0,0309	0,0919	0,86 (ANOVA, p>0,4)	17,72	0
30	0,1314	0,1303		10,14	54,44
50	0,1715	0,1271		6,11	76,18
70	0,1837	0,2538		6,73	82,81
100	0,2154	0,4306		4,81	100



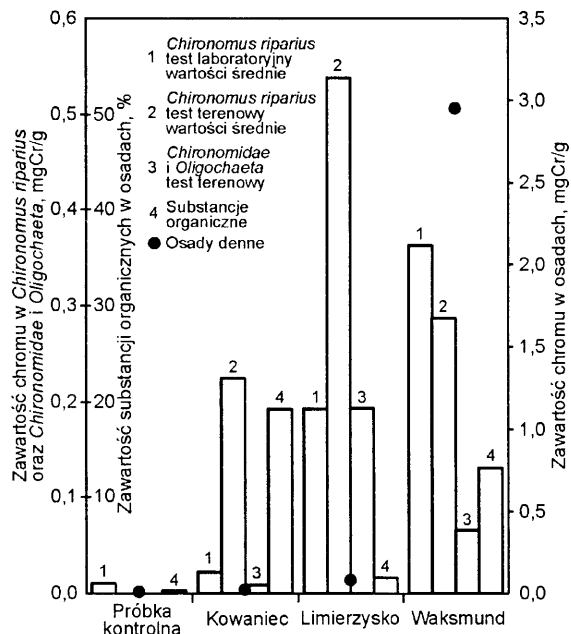
Rys. 3. Zależność zawartości chromu w *Chironomus riparius* od ilości chromu w osadach z Wąksmundu i Limierzyska (eksperyment 2, seria pierwsza i druga)

Fig. 3. Chromium content in the *Chironomus riparius* organisms related to the chromium quantity in the bottom sediments

Zależność zawartości chromu w *Chironomus riparius* od jego ilości w osadach w obydwu seriach obrazuje rysunek 3. W obu seriach stwierdzono współczynnik korelacji pomiędzy ilością chromu w osadach i *Chironomus riparius* równy 0,86 jednakże w żadnej z tych serii nie był on statystycznie znaczący (ANOVA, p>0,4). Było to spowodowane faktem, że do pewnej ilości chromu w osadach zawartość chromu w *Chironomus riparius* nie zmieniała się znacząco, natomiast po jej przekroczeniu zawartość chromu w *Chironomus riparius* uległa zwiększeniu. Wartość ta nie była jednak stała – w przypadku osadów z Limierzyska wyniosła ok. 0,15 mgCr/g, natomiast osadów z Wąksmundu była dwukrotnie większa i wyniosła ok. 0,3 mgCr/g.

Eksperyment trzeci

Wyniki oznaczeń chromu w osadach uzyskane w eksperymencie trzecim mieściły się w granicach od 0,024 mgCr/g do 2,953 mgCr/g, podczas gdy w dwóch próbkach kontrolnych średnia zawartość chromu wyniosła 0,005 mgCr/g. Zawartość chromu w *Chironomus riparius* w teście laboratoryjnym mieściła się w znacznie węższych granicach – od 0,023 mgCr/g do 0,362 mgCr/g, przy czym średnia zawartość z dwóch próbek kontrolnych wyniosła 0,010 mgCr/g. Ilość chromu w *Chironomus riparius* uzyskana w teście terenowym kształtowała się w podobnych granicach (0,224÷0,538 mgCr/g). Ilość chromu w *Chironomidae* (z Limierzyska i Kowańca)



Rys. 4. Zawartość chromu w osadach, w *Chironomus riparius*, *Chironomidae* i *Oligochaeta* oraz zawartość substancji organicznych w osadach (eksperyment 3)

Fig. 4. Chromium content in the bottom sediments, in the *Chironomus riparius*, *Chironomidae* and *Oligochaeta*, as well as organic matter content in the bottom sediments (experiment 3)

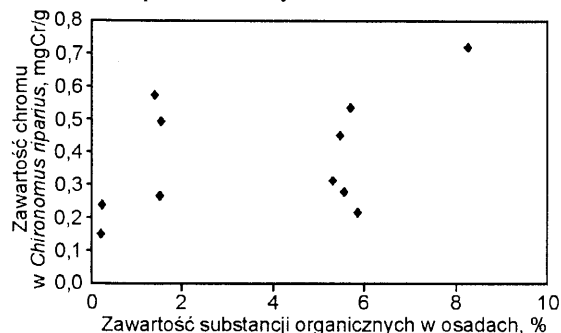
i *Oligochaeta* (z Wąskmundu) występujących in-situ mieściła się w zakresie $0,009 \pm 0,193$ mgCr/g. Zawartość substancji organicznych w omawianych próbkach wahała się od 1,59% do 19,27%, przy czym średnia z dwóch próbek kontrolnych wyniosła 0,23%. Wyniki eksperymentu trzeciego przedstawia rysunek 4, przy czym zawartość substancji organicznych przedstawiono w %, natomiast zawartość chromu w *Chironomus riparius* z testu terenowego i laboratoryjnego reprezentowana jest przez wartości średnie.

Dyskusja

Zawartość chromu w osadach w przekrojach Sromowce Wyżne i Kowaniec (przyjętych za punkty referencyjne) była tylko 3÷5-krotnie większa niż w próbce kontrolnej. Wartości te były znacznie mniejsze od przeciętnie spotykanych w skałach osadowych ilastych wynoszących $0,06 \pm 0,12$ mgCr/g [11]. W punktach przyjętych jako zanieczyszczone (przekroje Wąskmund i ujście potoku Limierzysko) wartości te były kilkakrotnie przekroczone, przy czym najwyższy poziom zanieczyszczenia stwierdzono w próbkach z Wąskmundu (eksperyment drugi – 1,21 mgCr/g i eksperyment trzeci – 2,95 mgCr/g) (rys. 3 i 4). Mimo że osady z Dunajca w przekroju Wąskmund (nieopodal zrzutu ścieków garbarskich) były dobrze wymieszane, to po wymieszaniu ich z osadami niezanieczyszczonymi w stosunku 0%, 30%, 50%, 70% i 100% ilość chromu w osadach nie potwierdziła założonej proporcji (tab. 1). Należy przypuszczać, że rozkład ilości chromu w pobranej próbce był niejednorodny (sugestię tę potwierdzają wyniki badań [12]). Pobrano dziewięć próbek osadów z Wąskmundu z powierzchni 1 m^2 nieopodal zrzutu ścieków garbarskich i wykazano duży rozrzut zawartości chromu w osadach – od 0,132 mgCr/g do 1,497 mgCr/g [12]. Wydaje się, że niejednorodność rozkładu ilości chromu w osadach w punktach poboru próbek może powodować rozbieżność wyników badań nad biodostępnością chromu.

Dane literaturowe podają, iż między zawartością metalu w organizmie bentosowym i osadach dennych zachodzi bezpośrednia zależność [13]. Wyniki badań biodostępności chromu (rys. 2 i 3) potwierdzają, że istnieje zależność pomiędzy zawartością chromu w *Chironomus riparius* i w osadach. Dane z eksperymentu pierwszego pokazały, że duża ilość chromu w osadach przekładała się na jego większą zawartość w *Chironomus riparius* w Wąskmudzie i Limierzysku. Ponadto w eksperymencie drugim wykazano, że w każdym punkcie pomiarowym wystąpiła zależność ilości chromu w osadach i w *Chironomus riparius*, powyżej której miała miejsce zwiększona bioakumulacja chromu w *Chironomus riparius* (rys. 3). Wykonane testy wykazały, iż do pewnej zawartości chromu nie było znaczącej różnicy pomiędzy badanymi próbkami i próbką kontrolną, natomiast powyżej tej ilości zawartość chromu w organizmach zwiększyła się. Przeprowadzone badania nie pozwalają jednak na jednoznaczne wskazanie progowej zawartości chromu w osadach. W dotychczasowych badaniach nad biodostępnością i bioakumulacją metali przez *Chironomidae* nie stwierdzono uniwersalnej zawartości progowej danego metalu. Biodostępność chromu i każdego innego metalu była zawsze związana z rodzajem osadu i jego uziarnieniem, zawartością frakcji organicznej, formą metalu i innymi czynnikami [14–18].

W dwóch próbkach z pierwszego eksperymentu (rys. 2) ze Sromowce Wyżnych zawartość chromu w *Chironomus riparius* była duża (0,575 mgCr/g i 0,493 mgCr/g) pomimo małej ilości chromu w osadach ($0,014 \pm 0,002$ mgCr/g). Przypuszczano, że zawartość substancji organicznych w osadach z tych dwóch punktów była bardzo mała, co spowodowało znaczny wzrost ilości chromu w pokarmie. W celu sprawdzenia tej tezy zbadano, czy występuje korelacja pomiędzy ilością substancji organicznych w osadach a zawartością chromu w *Chironomus riparius*. Współczynnik korelacji w obu seriach wynosił $R=0,43$ i świadczył o braku korelacji pomiędzy zawartością substancji organicznych a obecnością chromu w badanych organizmach. Badania nad bioakumulacją chromu w *Chironomus riparius* powinny być kontynuowane, gdyż liczba danych jest zbyt mała i nie pozwala na jednoznaczną ocenę wpływu zawartości substancji organicznych w osadach na mechanizm bioakumulacji chromu. Zależność zawartości chromu w *Chironomus riparius* od ilości substancji organicznych w osadach przedstawia rysunek 5.



Rys. 5. Zależność zawartości chromu w *Chironomus riparius* od ilości substancji organicznych w osadach

Fig. 5. Chromium content in the *Chironomus riparius* organisms related to the quantity of organic substances in the bottom sediments

Wyniki porównania badań terenowych i laboratoryjnych (eksperyment trzeci) nie są jednoznaczne. Zawartość chromu w *Chironomus riparius* uzyskana z testu laboratoryjnego potwierdziła omawianą wcześniej zależność – do pewnej zawartości chromu nie było znaczącej różnicy pomiędzy badanymi

próbkami i próbką kontrolną. Powyżej tej ilości zawartość chromu w organizmach uległa zwiększeniu. Wzrost ilości chromu w osobnikach wraz ze wzrostem zawartości chromu w osadach zaobserwowano w przypadku *Chironomus riparius* z testu terenowego i *Chironomidae* pochodzących z terenu w punktach Kowaniec i Limierzysko (rys. 4).

Osady z Waksmundu okazały się znacznie bardziej zanieczyszczone, niż się spodziewano. Podczas testu terenowego przeprowadzonego z użyciem osadów z Waksmundu przeżywalność larw była bardzo mała – zaledwie 30%. Wydaje się, że na tak małą przeżywalność organizmów *Chironomus riparius* mogło mieć wpływ przede wszystkim oddziaływanie dużych ilości chromu, a także inna forma jego występowania, przepływ wody i różnice w temperaturze wody na skutek odprowadzania ścieków o podwyższonej temperaturze. Tak duża toksyczność środowiska sugeruje możliwość wystąpienia zaburzeń funkcjonowania u osobników, które przeżyły i zostały użyte do badania bioakumulacji chromu. Przy tak dużej ilości chromu w środowisku wodnym bardziej celowe wydaje się przeprowadzenie testu toksyczności z badaniem zarówno deformacji larw jak i DNA. Nie odnotowano natomiast toksycznego działania chromu w osadach podczas testu laboratoryjnego – średnia przeżywalność larw w osadach ze wszystkich punktów była jednakowa i wyniosła 95%. Maksymalna zawartość chromu w *Chironomus riparius* uzyskana w teście laboratoryjnym w przypadku próbki z Waksmundu była jednak większa od spodziewanej. Fakt różnic w toksyczności zanieczyszczonych osadów w stosunku do organizmów wskaźnikowych w warunkach terenowych i laboratoryjnych potwierdzają dane literaturowe [19]. Różnice w wynikach pomiędzy testami laboratoryjnymi i terenowymi są najprawdopodobniej związane z tym, że do badań laboratoryjnych używano próbek wody i osadów pobranych w określonym czasie oraz podczas prowadzenia testu utrzymywano stałe warunki zewnętrzne, przez co osobniki podczas testu narażone były przez cały czas na jednakowe zanieczyszczenie. Na organizmy hodowane w terenie miały natomiast wpływ zmieniające się warunki środowiska związane z ciągłym dopływem ścieków garbarskich o zmiennej jakości, przez co ich narażenie na zanieczyszczenie zmieniało się podczas prowadzenia testu. Badania przeprowadzone w pracy [20] wykazały, że więcej informacji na temat toksyczności środowiska dostarczają wyniki testów terenowych niż laboratoryjnych.

Zawartość chromu uzyskana w badaniach jego bioakumulacji w osobnikach występujących in-situ była znacznie mniejsza od uzyskanej w wyniku testu terenowego z wykorzystaniem *Chironomus riparius*. Warto zauważyć, iż osobniki użyte do testu terenowego należały do jednego gatunku i były w jednakowym wieku. W terenie natomiast pobrano osobniki z różnych gatunków, będące w trzecim lub czwartym stadium larwalnym. Ponadto w osadach pobranych w Waksmundzie nie odnaleziono osobników z rodziny *Chironomidae*, a jedynie z rodziny *Oligochaeta*. W pozostałych punktach (Kowaniec i Limierzysko) jako osobniki występujące in-situ wykorzystano jedynie *Chironomidae*. Dane literaturowe podkreślają, że czynniki osobnicze, takie jak gatunek i wiek mają bardzo duży wpływ na bioakumulację metali w organizmach [18].

Porównanie wyników pomiaru zawartości chromu w osobnikach *Chironomidae* i *Oligochaeta* bytujących w osadach (in situ) z zawartością chromu w *Chironomus riparius* z testu terenowego i laboratoryjnego (rys. 4) pokazało, iż mniejsze

ilości chromu ($0,009 \pm 0,193$ mgCr/g) w poszczególnych punktach odnotowano w osobnikach występujących in-situ. W teście terenowym z wykorzystaniem gatunku *Chironomus riparius* uzyskano $0,092 \pm 0,642$ mgCr/g, a w teście laboratoryjnym $0,008 \pm 0,510$ mgCr/g. Można przypuszczać, iż fakt ciągłego bytowania w zanieczyszczonym środowisku zmniejsza reakcję organizmu na zanieczyszczenie. Fakt mniejszej bioakumulacji chromu w osobnikach pobranych w terenie odnotowano również w pracy [15]. Z badań opisanych w pracy [21] wynika, że organizmy wykorzystywane w bioteście stykają się z zanieczyszczeniami po raz pierwszy, dlatego ich reakcje są wyraźniejsze niż organizmów zasiedlających zanieczyszczone zbiorniki wodne.

Znacznie większą zawartość chromu uzyskano w *Chironomus riparius* podczas testu laboratoryjnego, pomimo braku wpływu czynników abiotycznych. Duże wartości uzyskano również w teście terenowym w punktach o mniejszym zanieczyszczeniu (przekroje Kowaniec i Limierzysko) (rys. 4). Nie stwierdzono bezpośredniej zależności pomiędzy zawartością chromu w *Chironomus riparius* uzyskaną w badaniach laboratoryjnych i terenowych. Brak porównania pomiędzy biotestami terenowymi i laboratoryjnymi potwierdzono w pracy [20], przy czym jako jedną z metod zwiększenia poprawy tego stanu podano potrzebę modyfikacji standardowych procedur prowadzenia testów.

Wnioski

♦ Chrom obecny w osadach jest biodostępny dla larw *Chironomus riparius*, przy czym niejednorodność rozkładu jego zawartości w próbkach osadów może powodować rozbieżności w wynikach badań biodostępności.

♦ Stwierdzono zależność, że do pewnej ilości chromu w osadach (charakterystycznej w danym punkcie pomiarowym) jego zawartość w *Chironomus riparius* była niewielka, a powyżej tej ilości chromu w osadach jego zawartość w *Chironomus riparius* uległa zwiększeniu.

♦ Potwierdzono, że organizmy w warunkach laboratoryjnych są bardziej podatne na działanie zanieczyszczeń niż organizmy występujące in-situ. Wydaje się, że na biodostępność chromu dla organizmów bytujących w warunkach naturalnych mają wpływ zmieniające się warunki środowiskowe, wskutek czego nie można porównać wyników uzyskanych w badaniach laboratoryjnych i terenowych.

LITERATURA

1. R. ŚWIETLIK, B. TRACZYK, M. TROJANOWSKA: Poziom chromu na obszarze bezpośredniego oddziaływania garbarni. Mat. konf. „Chrom w środowisku”, Wyższa Szkoła Inżynierska w Radomiu, Radom 1994.
2. M. BASTA-GRZYWACZ, B. BEDNARCZUK, W. BLASCHKE, Z. BLASCHKE, A. BOLEWSKI, T. DOMASZEWSKA, H. GRUSZCZYK, J. NOWAKOWSKI, A. OSTROMĘCKI, B. OSZACKA-KORCZYŃSKA, W. PARACHONIAK, A. PAULO, S. PAWLIKOWSKI, W. PTAK, W. ŻABIŃSKI: Mangan – Mn, Chrom – Cr. Wydawnictwo Geologiczne, Warszawa 1981.
3. E. SZALIŃSKA: Przemiany chromu w środowisku wodnym zanieczyszczonym ściekami garbarskimi. Politechnika Krakowska, Monografie 283, Seria Inżynieria Środowiska, Kraków 2002.

4. B. KOZIOROWSKI: Oczyszczanie ścieków przemysłowych. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 1980.
5. P.D. ARMITAGE, P.S. CRANSTON, L.C.V. PINDER [Eds.]: *The Chironomidae: Biology and Ecology of Non-biting Midges*. Chapman & Hall, London 1995.
6. A. KOŁODZIEJCZYK, P. KOPERSKI: Bezkręgowce słodkowodne Polski. Klucz do oznaczania oraz podstawy biologii i ekologii makrofauny. Wydawnictwa Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa 2000.
7. W. ROMANISZYN: Klucze do oznaczania owadów Polski. Część XXVIII. Muchówki – *Diptera*. Zeszyt 14a Ochotkowate – *Tendipedidae*. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1958.
8. A.D. EATON, L.S. CLESCEN, E.W. RICE, A.E. GREENBERG [Eds.]: *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*. 21st edition, centennial edition, American Public Health Association, Washington 2005.
9. P.J. DEN BESTEN, A. NABER, E.M.M. GROOTELAAR, C. VAN DE GUCHTE: In situ bioassays with *Chironomus riparius*: Laboratory-field comparisons of sediment toxicity and effects during wintering. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 2003, 6(2), pp. 217–228.
10. A. OSTROWSKA, S. GAWLIŃSKI, Z. SZCZUBIAŁKA: Metody analizy i oceny właściwości gleb i roślin. Katalog. Instytut Ochrony Środowiska, Warszawa 1991 (praca niepublikowana).
11. A. KABATA-PENDIAS, H. PENDIAS: Biogeochemia pierwiastków śladowych. Wydawnictwa Naukowe PWN, Warszawa 1999.
12. E. SZALIŃSKA, A. CZAPLICKA-KOTAS, D.A.L. VIGNATI, B.J.D. FERRARI, J. DOMINIK: Spatial variability of sedimentary chromium as a limitation for determining its bioavailability for benthic invertebrates in the upper Dunajec River (Southern Poland). SETAC Europe 18th Annual Meeting, Warsaw 2008, p. 137.
13. K.L. GOODYEAR, S. McNEILL: Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macro-invertebrates of different feeding guilds: A review. *The Science of the Total Environment* 1999, 229, pp. 1–19.
14. J.R. BIDWELL, J.R. GORRIE: The influence of salinity on metal uptake and effects in the midge *Chironomus maddeni*. *Environmental Pollution* 2006, 139, pp. 206–213.
15. B. FERRARI, D. VIGNATI, K. REGIS, J. DOMINIK, E. SZALIŃSKA, A. CZAPLICKA-KOTAS: Chromium bioaccumulation in chironomids exposed to sediments contaminated by tannery effluents. SETAC North America, 27th Annual Meeting, Montreal 2006.
16. J. BURGER, F. DAIZ-BARRIGA, E. MARAFANTE, J. PUNDS, M. ROBSON: Methodologies to examine the importance of the host factor in bioavailability of metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2003, 56, pp. 20–31.
17. P.S. RAINBOW: Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: Why and so what? *Environmental Pollution* 2002, 120, pp. 497–507.
18. D. PEAKALL, J. BURGER: Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals and ecological host factors. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2003, 56, pp. 110–121.
19. S. CHARLES, M. FERROL, A. CHAUMOT, A.R.R. PÉRY: Food availability effect on population dynamics of midge *Chironomus riparius*: A Leslie modeling approach. *Ecological Modelling* 2004, 175, pp. 217–229.
20. D.A.L. VIGNATI, B.J.D. FERRARI, J. DOMINIK: Laboratory-to-field extrapolation in aquatic sciences. *Environmental Science & Technology* 2007, 41(4), pp. 1067–1073.
21. T. BEDNARZ, H. BUCKA: Zastosowanie testów glonowych do oceny żywności i zanieczyszczenia wód dorzecza górnego biegu Wisły. *Wiadomości Botaniczne* 1995, 39 (3/4), ss. 27–32.

Wachalowicz, A., Czaplicka-Kotas, A., Szalińska, E. Bioavailability of Chromium from Bottom Sediments for the Larvae of the species *Chironomus riparius*. *Ochrona Środowiska* 2008, Vol. 30, No. 3, pp. 53–58.

Abstract: Investigations into the bioavailability of chromium from river bottom sediments were conducted under laboratory conditions and *in situ*, using larvae of the species *Chironomus riparius*. Bottom sediments and water samples were collected within the area of the headwater basin of the river Dunajec, at the reference sites of Kowaniec and Sromowce Wyzne, as well as at the sampling sites of Limierzysko and Waksmund contaminated with chromium from tannery effluents. 96-hour chromium bioaccumulation tests were carried out using *Chironomus riparius* larvae obtained from a clean laboratory culture. Two laboratory tests were aimed at investigating the bioavailability of chromium, and one test (involving laboratory and *in situ* methods combined with the examination of the organisms of the family *Chironomidae* (at one sampling point of the family *Oligochaeta*) that occurred *in situ*) was performed with the aim to compare the results obtained under laboratory conditions and *in situ*. Determinations were carried out for chromium content in the organisms of *Chironomidae* and in the bottom sediments,

the latter being also analyzed for the content of organic substances. The experiments have shown that chromium is bioavailable. Analysis of the results suggests that there is a threshold quantity of chromium in the bottom sediments, which is characteristic for the conditions occurring at the given sampling site. Below that quantity, no significant difference in the content of chromium in the *Chironomus riparius* organisms was observed between the samples tested and the control samples. When the threshold quantity was exceeded, chromium content in the organisms of *Chironomus riparius* increased. The findings make it clear that the non-uniform distribution of chromium content in the bottom sediments observed at the sampling sites can account for the discrepancy between the results of the investigations into the bioavailability of chromium. The study has also shown that the laboratory organisms are more sensitive to the polluted environment than the organisms living *in situ*. The data obtained furthermore suggest that the availability of chromium for the *in situ* organisms is influenced by the changing environmental conditions, and this is why no correlation can be found between laboratory and *in situ* tests.

Keywords: Bottom sediments, chromium, bioavailability, *Chironomus riparius*.