

Fluorescencja chlorofilu jako narzędzie do oceny stopnia eutrofizacji ekosystemów wodnych na przykładzie stawów na obszarze gminy Raszyn

Nikodem Szymański¹, Irena Burzyńska¹, Hazem Kalaji^{1,2}, Grażyna Mastalerczuk²

¹ Instytut Technologiczno-Przyrodniczy w Falentach, Al. Hrabka 3, 05-090 Raszyn

² Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

* Autor do korespondencji: Nikodem.Szymanski@wp.pl

STRESZCZENIE

Obecnie dostępne metody oceny stopnia eutrofizacji są kosztowne, czasochłonne i wymagają posiadania zaawansowanej aparatury laboratoryjnej oraz wiedzy. Celem niniejszej pracy było określenie prostej i uzasadnionej ekonomicznie metody monitorowania skutków eutrofizacji wody na obszarze rolniczym oraz powiązanie wyników monitorowania parametrów fizykochemicznych wody z fluorescencją chlorofilu jako potencjalnego zagrożenia dla zdrowia na podstawie ustalonych poziomów alarmowych. Badania prowadzono w zbiornikach wodnych zlokalizowanych na obszarze wiejskim, różniących się intensywnością eksploatacji terenów przyległych: znajdujących się w otoczeniu obszarów intensywnie uprawianych rolniczo oraz w obszarze chronionym rezerwatu przyrody. W pracy określono wydajność aparatu fotosyntetycznego glonów oraz właściwości fizykochemiczne wody. Badania wykazały, że wzrost intensywności fluorescencji chlorofilu związany jest ze zwiększonym ładunkiem substancji biogennej oraz ze wzmożonym wzrostem mikroorganizmów zawierających chlorofil. Wyniki wskazują, że możliwość zastosowania pomiarów fluorescencji chlorofilu do oceny stopnia eutrofizacji wód. Zaprezentowana metoda ma szansę na nieinwazyjną, szybką i precyzyjną ocenę stanu fizjologicznego ekosystemów wodnych na obszarach wiejskich, szczególnie narażonych na procesy eutrofizacji.

Słowa kluczowe: eutrofizacja, fluorescencja chlorofilu, obszary wiejskie

Fluorescence of chlorophyll as a tool to assess the degree of eutrophication of aquatic ecosystems on the example of ponds in the area of Raszyn commune

ABSTRACT

The currently available methods for the assessment of the eutrophication degree are expensive, time-consuming and require advanced laboratory equipment and knowledge. The aim of this work was to determine a simple and economically justified method of monitoring the effects of eutrophication of water in the agricultural area and linking the results of monitoring physicochemical parameters of water with chlorophyll fluorescence as a potential health risk on the basis of established alarm levels. The research was conducted in water reservoirs located in the rural area, differing in the intensity of exploitation of adjacent areas: located in the vicinity of intensively cultivated areas and in the protected area of the nature reserve. The work determined the efficiency of the photosynthetic apparatus of algae and physicochemical properties of water. The studies have shown that the increase in the chlorophyll fluorescence intensity is associated with an raised biogenic load and an increased occurrence of chlorophyll-containing micro-fractions. The results indicate the possibility of using chlorophyll fluorescence measurements to assess the degree of water eutrophication. The presented method can be used for a non-invasive, quick and precise assessment of the physiological status of water ecosystems in rural areas, particularly vulnerable to the eutrophication processes.

Keywords: eutrophication, chlorophyll fluorescence, rural areas

WSTĘP

Eutrofizacja jest problemem występującym w wielu krajach, szczególnie tych silnie zurbanizowanych jak: Japonia, Chiny czy USA. Niesie ze sobą skutki nie tylko ekologiczne, ale i gospodarcze z powodu malejącej dostępności do czystej i przydatnej do spożycia wody [Adamczyk 2013]. Wieloletnie badania prowadzone na całym świecie, nad wzbogaceniem zbiorników wodnych w substancje biogenne dowodzą, że ekosystemy różnią się między sobą nie tylko pod względem hydrodynamicznym, czy hydromorfologicznym ale i pod względem ich możliwości adaptacji do zmieniających się warunków antropogenicznych [Baban 1996].

Zgodnie z Ustawą z dnia 18 lipca 2001 roku Prawo wodne [Dz. U. Nr 115 poz. 1229] proces eutrofizacji określany jest jako wzbogacenie wody w związki biogenne, w szczególności azotu lub fosforu, które powodują przyspieszony wzrost glonów oraz wyższych form życia roślinnego. W wyniku tego procesu następują niepożądane zakłócenia stosunków biologicznych w środowisku wodnym oraz pogorszenie jakości tych wód.

Eutrofizacja zachodzi w ekosystemach wodnych i może trwać kilkadziesiąt, a nawet kilkaset lat [Managing lakes and reservoirs, 2001]. Przy niezachwianym stanie równowagi ekologicznej rezerwuaru, jest procesem powtarzalnym co roku. Nasila się w czasie wegetacji, słabnie w okresie jesienno-zimowym i powraca ze zwiększoną intensywnością w okresie wiosenno-letnim [Jarosiewicz 2007]. Sprawnie działający ekosystem jest w stanie poradzić sobie z tymi fluktuacjami i utrzymać poziom troficzności na bezpiecznym poziomie w wyniku samooczyszczania się.

Zjawisko eutrofizacji jest skomplikowanym procesem przyrodniczo-antropogenicznym zachodzącym w ekosystemach wodnych, w którym główną rolę odgrywają czynniki przyrodnicze. Szereg obserwacji i badań naukowych wskazuje jednak, że znaczący wpływ na postępowanie procesu eutrofizacji w ostatnich dziesięcioleciach ma działalność człowieka [Karydis 2009]. Jest ona niejako katalizatorem eutrofizacji zachodzącej w sposób naturalny poprzez dostarczanie ładunku zanieczyszczeń odprowadzanych ze ściekami komunalnymi, gospodarczymi, przemysłowymi oraz spływami z terenów użytkowanych rolniczo na obszarach wiejskich [Europejska Agencja Środowiska]. Ma to znaczący wpływ na procesy eutrofizacji zbiorników wodnych na obsza-

rach wiejskich jak i znajdujących się w bliskim sąsiedztwie terenów prawnie chronionych, jak parki narodowe, rezerваты przyrody czy miejsca rekreacji i wypoczynku [Soszka 2009].

O ile ekosystemy wodne na obszarach aglomeracji miejskich, będące miejscem aktywnej rekreacji, są najczęstszym przedmiotem badań oraz monitoringu, o tyle ekosystemy wodne na obszarach wiejskich są jedynie w skrajnych przypadkach przedmiotem zainteresowania i ochrony. Pomimo, iż ładunek zanieczyszczeń ze źródeł punktowych z gospodarstw rolnych uległ zmniejszeniu na skutek ograniczenia produkcji rolnej i podniesienia standardów w gospodarstwach rolnych, w dalszym ciągu obserwowany jest zwiększający się udział spływów obszarowych z terenów użytkowanych rolniczo [Wałęga i in. 2009].

Proces eutrofizacji jest przedmiotem badań i obserwacji wielu badaczy szukających odpowiedzi na dokładne poznanie mechanizmu tego procesu i do podjęcia właściwej decyzji w przypadku stwierdzenia jego potencjalnych skutków. Brakuje jednak uniwersalnej klasyfikacji stanów troficzności wód [Lopez-Bernal 2003]. Wielu badaczy podejmuje się oceny stanu troficzności wód bazując na różnych wskaźnikach i metodologiach. Już pod koniec lat sześćdziesiątych XX stulecia opracowany został, przez szwajcarskiego naukowca Richarda Vollenweidera [Vollenweider 1970], system oparty na wartościach granicznych fosforu ogólnego i azotu nieorganicznego. W kolejnych latach powstawały jego modyfikacje mające na celu dostosowanie do lokalnych warunków [Zurlini 1996, White 1983] oraz wprowadzające nowe narzędzia pomiaru m.in. ocenę zawartości chlorofilu *a* [Sulu 2004]. Z uwagi na ogromną ilość parametrów poddawanych analizie, trudności w badaniach sprawia fakt, iż nie ma jednoznacznie zdefiniowanej metody do oceny stopnia troficzności ekosystemów wodnych. Dodatkowym problemem jest niezadawalająca organizacja systemu monitoringu ekosystemów a dostępne metody są czasochłonne, kosztowne i wymagające zaawansowanej aparatury badawczej. Szansą na opracowanie szybkiego i prostego sposobu oceny stopnia eutrofizacji wód może być nowoczesna metoda pomiaru stanu fizjologicznego aparatu fotosyntetycznego glonów za pomocą sygnału fluorescencji chlorofilu *a* [Kalaji i in. 2016].

Zbiorniki wodne na obszarach wiejskich stanowią ważny element w gospodarce rolnej ze względu na swoje funkcje ekonomiczne, środo-

wiskowe oraz przyrodnicze. Dlatego konieczne jest poszukiwanie skutecznych i prostych metod do ochrony ich przed eutrofizacją. W związku z powyższym, celem niniejszej pracy było określenie prostej i uzasadnionej ekonomicznie metody monitorowania skutków eutrofizacji wody na obszarze rolniczym oraz powiązanie wyników monitorowania parametrów fizykochemicznych wody z fluorescencją chlorofilu jako potencjalnego zagrożenia dla zdrowia na podstawie ustalonych poziomów alarmowych.

METODY PROWADZONYCH BADAŃ

Do badań wybrano pięć zbiorników wodnych położonych w województwie mazowieckim, w powiecie pruszkowskim w gminie Raszyn. Wszystkie zbiorniki zlokalizowane są na obszarze wiejskim i różnią się intensywnością eksploatacji terenów przyległych. Trzy z nich znajdują się w otoczeniu obszarów intensywnie uprawianych rolniczo a dwa w obszarze chronionym Rezerwatu Przyrody „Stawy Raszyńskie” (rys. 1, 2).

Zbiorniki nr 1 ($52^{\circ}07'32.7''N$ $20^{\circ}57'16.0''E$) i nr 2 ($52^{\circ}07'38.3''N$ $20^{\circ}57'14.6''E$) zlokalizowane są we wsi Łady, otoczone zabudowaniami gospodarczymi i obszarami o intensywnej uprawie rolniczej. Przyjmują spływy powierzchniowe odpowiednio z południowej (zbiornik nr 1) i

północnej (zbiornik nr 2) części obszaru. Zbiornik nr 3 położony jest w miejscowości Puchały ($52^{\circ}09'10.7''N$ $20^{\circ}54'12.2''E$) i także otaczają go obszary intensywnie uprawiane rolniczo. Stanowi on miejsce spływów powierzchniowych z południowo wschodniej części rejonu. Kolejne dwa zbiorniki: nr 4 ($52^{\circ}08'28.3''N$ $20^{\circ}55'06.0''E$) i nr 5 ($52^{\circ}08'17.4''N$ $20^{\circ}54'57.8''E$) zlokalizowane są w miejscowości Falenty i należą do kompleksu rezerwatu „Stawy Raszyńskie”.

Badania właściwości fizykochemicznych wody oraz wydajności aparatu fotosyntetycznego glonów prowadzono w roku 2016 od marca do października. Próby pobierano raz w miesiącu z każdego zbiornika w pięciu punktach (z różnych stron zbiornika).

Badania wydajności aparatu fotosyntetycznego glonów za pomocą sygnału fluorescencji chlorofilu *a* w wodzie wykonywane zostały w Katedrze Fizjologii Roślin Wydziału Rolnictwa i Biologii SGGW w Warszawie. Określono:

- fluorescencję minimalną (początkową) – F_o ,
- fluorescencję maksymalną – F_m .

Wydajność aparatu fotosyntetycznego glonów oceniono po 30 min inkubacji prób w ciemności do całkowitego utlenienia wszystkich centrów reakcji i gotowości przyjęcia przez nie elektronów. Do badań wykorzystywano specjalistyczny fluorometr Handy PEA (firmy Hansatech Instruments Ltd.), który zarejestrował blisko 70



Rys. 1. Lokalizacja zbiorników wodnych położonych w województwie mazowieckim, w powiecie pruszkowskim w gminie Raszyn [maps.google.com]

Fig. 1. Location of water reservoirs located in the Masovian Voivodeship, in the Pruszków Poviát in the Raszyn commune [google.maps.com]

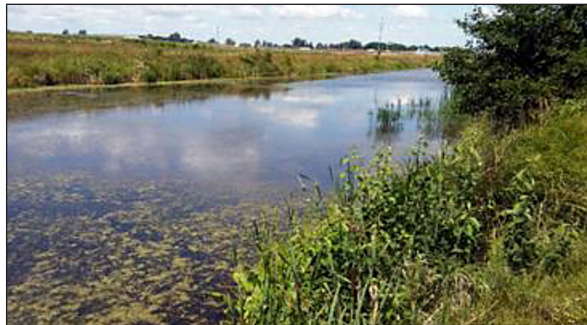
Zbiornik nr 1



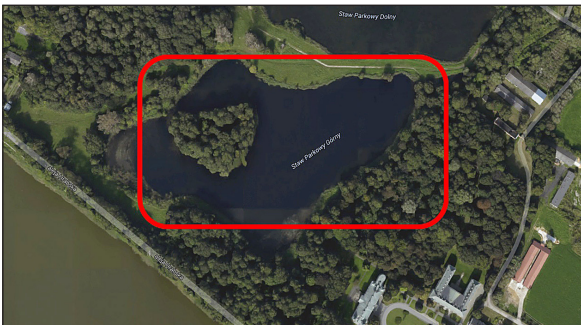
Zbiornik nr 2



Zbiornik nr 3



Zbiornik nr 4



Zbiornik nr 5



Rys. 2. Lokalizacja i otoczenie zbiorników wodnych z których pobierano próby do badań
Fig. 2. Location and surroundings of water reservoirs for examination [maps.google.com, Photo. N. Szymański]

parametrów fizjologicznych (rys. 3a i b). Uzyskane dane poddane zostały analizie oprogramowaniem Pocket PEA Plus V1.10 (firmy Hansatech Instruments Ltd.). Na podstawie otrzymanych wyników, bazując na teście OJIP, sporządzono krzywe indukcji fluorescencji Kautsky`ego.

Badania fizyko-chemiczne wody wykonywane zostały w Laboratorium Badawczym Chemii Środowiska Instytutu Technologiczno-Przyrodniczego w Falentach. Określono zawartość (mg/dm^3) związków fosforowych (P-PO_4 , Pog), azotowych (N-NO_3 , N-NH_4), tlenu (O_2) oraz pH wody. Pomiarów zawartości N-NO_3 , N-NH_4 wykonano automatyczną metodą z segmentowanym przepływem strumienia (SFA) za pomocą przyrządu firmy Skalar. Zawartość P-PO_4 i Pog określono automatyczną metodą z segmentowanym przepływem strumienia (CFA) za pomocą analizatora przepływowego firmy Skalar (wg. normy PN-EN ISO 15681-2:2006). Ilość tlenu rozpuszczonego w wodzie wykonano sondą tlenową firmy HACH a pH metodą potencjometryczną za pomocą pH-metra firmy Mettler-Toledo.

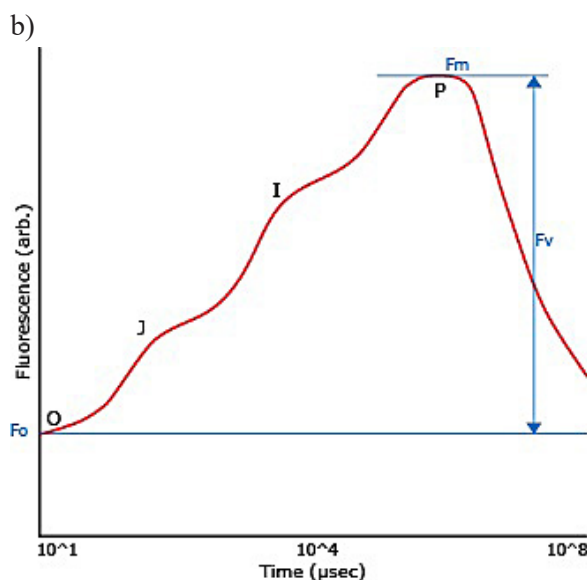
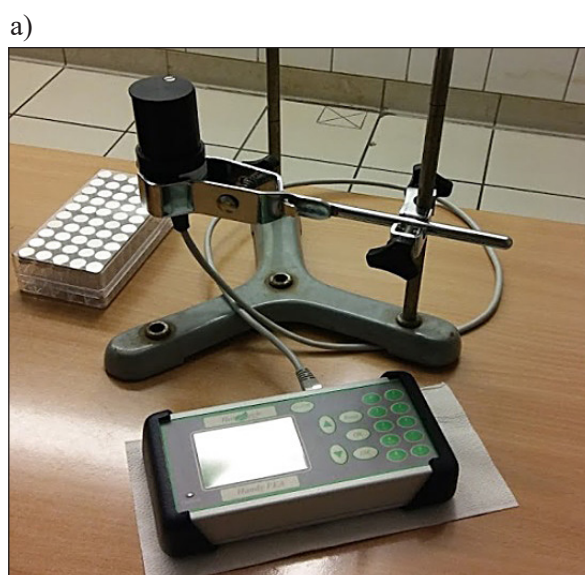
WYNIKI

Przeprowadzone połączone badania fluorescencji chlorofilu *a* i właściwości fizyko-chemicznych wody pozwoliły na porównanie zawar-

tości głównych składników odpowiedzialnych za eutrofizację, (tj. fosforu i azotu) i odniesienie ich do krzywych indukcji fluorescencji chlorofilu.

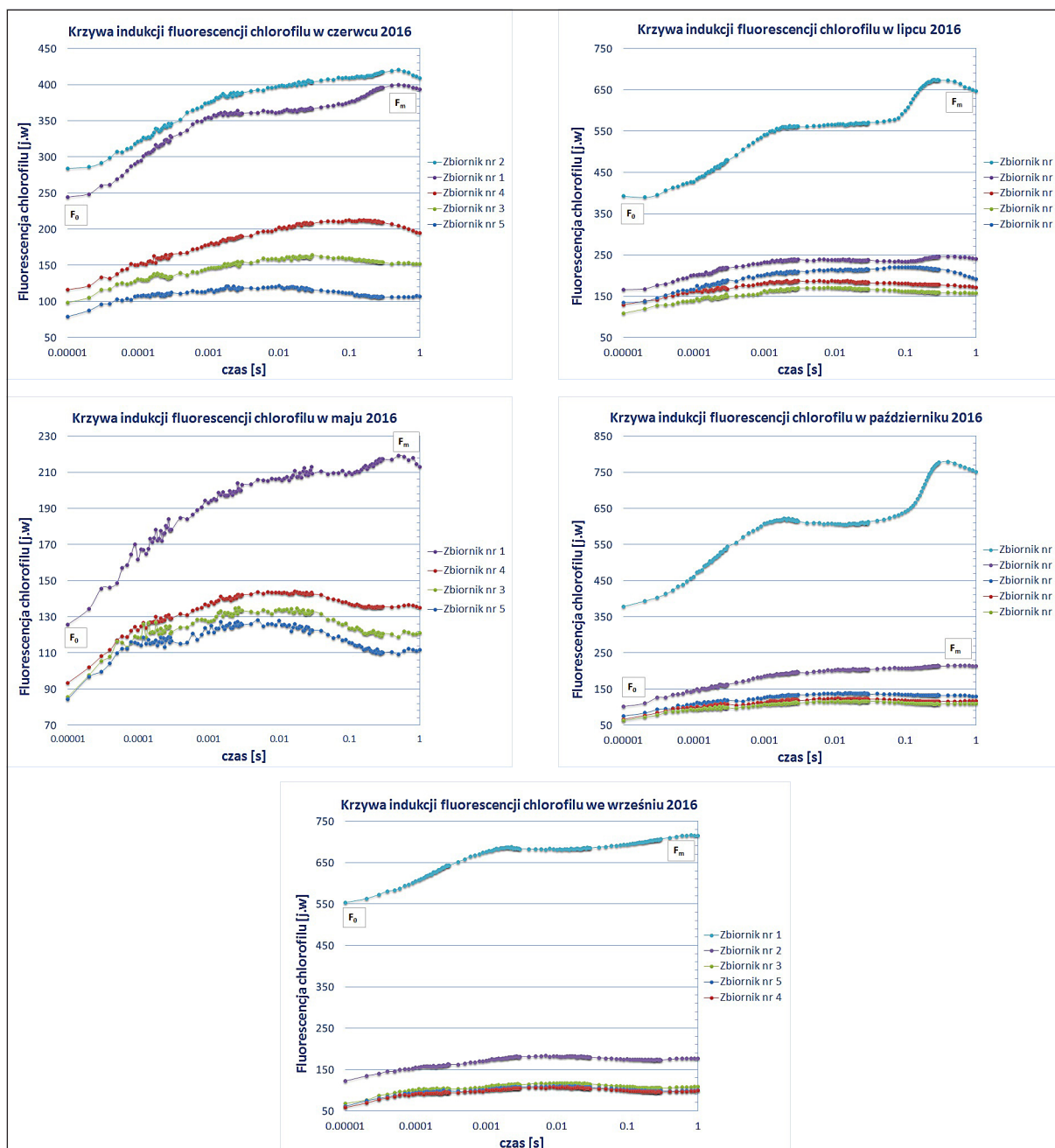
Otrzymane wyniki wskazują na wysoki stopień intensywności fluorescencji chlorofilu *a*, w miesiącach letnich dla zbiorników wodnych zlokalizowanych na obszarach o intensywnej gospodarce rolnej (zbiorniki nr 1 i nr 2). Szczególnie wysoką intensywność fluorescencji chlorofilu zaobserwowano w zbiorniku nr 2 od maja do września (rys. 4). Krzywe indukcji fluorescencji chlorofilu *a* w zbiornikach 4-5 położonych na obszarach chronionych wykazywały minimalną intensywność fluorescencji chlorofilu. Nie zaobserwowano znaczących zmian w całym okresie badań.

Przeprowadzone analizy fizyko-chemiczne wody wykazały znaczące wzrosty podstawowych wskaźników eutrofizacji i ich odchylenia od obowiązujących dla klasy I i II wód norm zawartych w Ustawie z dnia 18 lipca 2001 Prawo Wodne [Dz.U. nr 257 poz.1545]. Największymi odchyleniami od norm charakteryzowała się zawartość fosforu fosforanowego (P-PO_4), fosforu ogólnego (Pog) oraz zawartość tlenu (rys. 5). Związki fosforowe przewyższały wielokrotnie przyjęte normy w miesiącach letnich. W okresie tym stwierdzono także wyraźnie mniejszą ilość tlenu w wodzie. Było to szczególnie widoczne w zbiorniku nr 2, położonym w sąsiedztwie terenów intensywnie eksploatowanych rolniczo. Zarówno pH wody jak



Rys. 3. a) Fluorymetr HandyPEA (Handy Plant Efficiency Analyzer) firmy Hansatech Instruments Ltd. do pomiarów bezpośredniej fluorescencji chlorofilu, b) Krzywa indukcji fluorescencji chlorofilu z zaznaczonymi fazami (O-J-I-P) oraz poziomem fluorescencji początkowej (F_0) i maksymalnej (F_m)

Fig. 3. a) Handy PEA fluorometer (Handy Plant Efficiency Analyzer) from Hansatech Instruments Ltd. For direct chlorophyll fluorescence measurements, b) Induction curve of chlorophyll fluorescence with marked phases (O-J-I-P) and initial (F_0) and maximum (F_m) [<http://www.hansatech-instruments.com>, Photo: N. Szymański]



Rys. 4. Dynamika zmian indukcji fluorescencji chlorofilu w okresie badań (maj–październik) (F_0 – fluorescencja minimalna (początkowa), F_m – fluorescencja maksymalna)

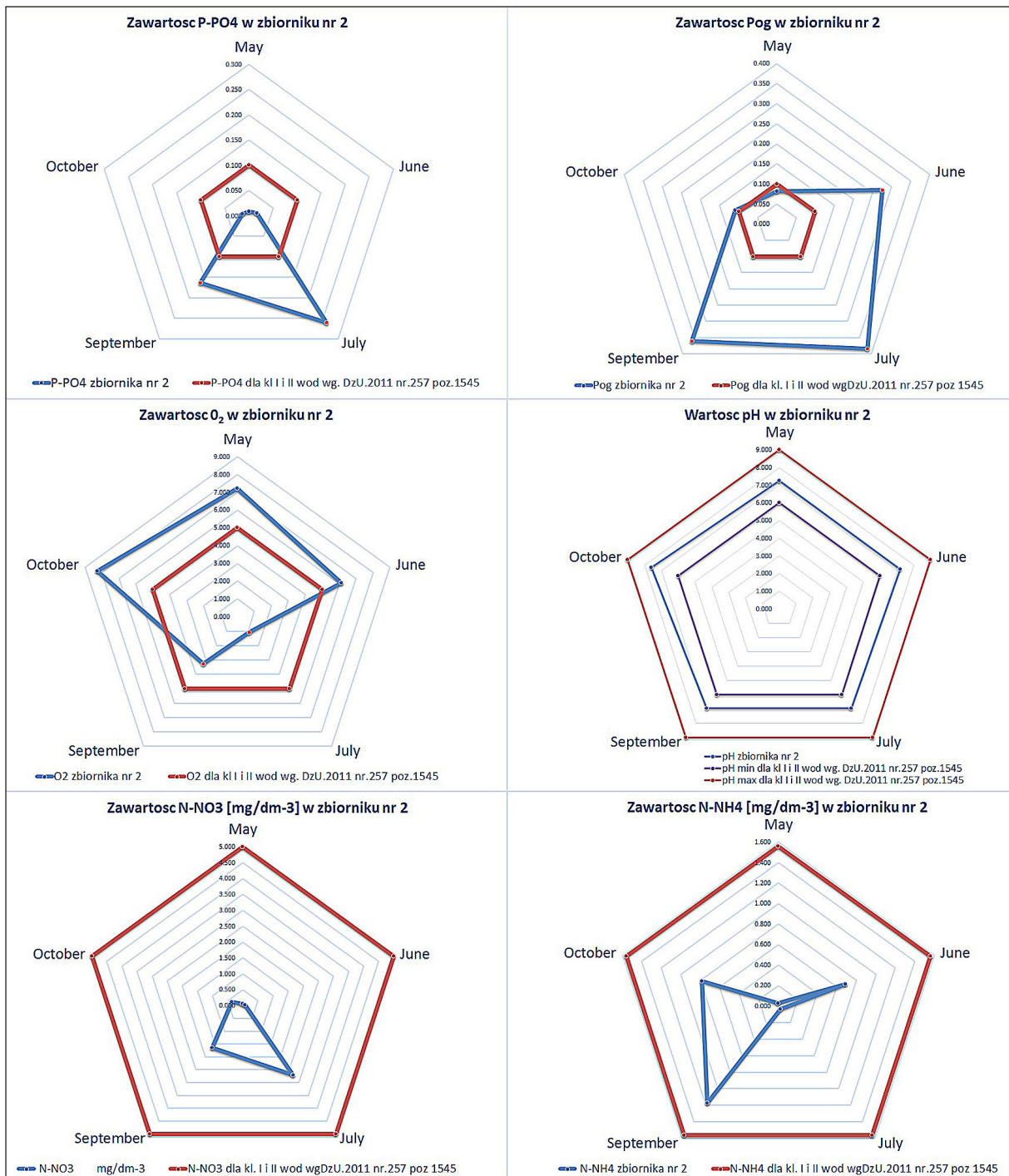
Fig. 4. Dynamics of changes in chlorophyll fluorescence induction during the study period (May–October) (F_0 – minimum of fluorescence (initial), F_m – maximum of fluorescence)

i zawartość związków azotowych mieściły się w granicach przyjętych norm w badanym okresie.

PODSUMOWANIE

Na podstawie prowadzonych badań stwierdzono, że znaczący wzrost sygnału maksymalnej fluorescencji chlorofilu (F_m) związany jest ze zwiększonym ładunkiem substancji biogennej

oraz ze wzmożonym wzrostem mikroorganizmów zawierających chlorofil. Zwiększone wartości fluorescencji maksymalnej obserwowane były w okresie wegetacji w miesiącach letnich. Proces wzbogacania wód w substancje biogenne rozpoczyna się wiosną, po zimowych roztopach, kiedy do wód trafia znaczna ilość biogenów zakumulowanych w glebach. Okres letni, o zmiennie skrajnych temperaturach, sprzyja zmniejszeniu zawartości tlenu w wodzie oraz intensyfikacji procesów beztlenowych.



Rys. 5. Właściwości fizykochemiczne wody pochodzącej z badanych zbiorników wodnych
Fig. 5. Physicochemical properties of water originating from examined water reservoirs

Podjęty kierunek badań wpisuje się we współczesne tendencje prowadzenia badań stanu fizjologicznego ekosystemów włączając do badań ocenę fluorescencji chlorofilu. Niniejsze badania mają przyczynić się do znaczącego uproszczenia monitoringu i szybszego podejmowania działań naprawczych w zakresie ochrony ekosystemów wodnych.

LITERATURA

1. Ustawa z dnia 18 lipca 2001r. Prawo Wodne (Dz.U. Nr 115, poz. 1229).
2. Adamczyk W. Jachimowski A., 2013. Wpływ składników biogennych na jakość i eutrofizację powierzchniowych wód płynących, stanowiących źródło wody pitnej Krakowa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 6(91), 175–190.

3. Baban S.M., 1996. Trophic classification and ecosystem checking of lakes using remotely sensed information. *Hydrological Sciences Journal*, 41(6), 939–957.
4. Jarosiewicz A., 2007. Proces samooczyszczania w ekosystemach rzecznych. *Slupskie Prace Biologiczne*, 4, 27-41.
5. Karydis M., 2009. Eutrophication assessment of coastal waters based on, *Global NEST Journal*, 11(4), 373–390.
6. Europejska Agencja Srodowiska: Eutrophication Glossary, <http://glossary.pl.eea.europa.eu/>.
7. Soszka H., 2009. Problemy metodyczne zwiazane z ocena stopnia eutrofizacji jezior na potrzeby wyznaczania stref wrażliwych na azotany. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*, 151-159.
8. Wałęga A., Chmielowski K., Satora S., 2009. Stan gospodarki wodno-ściekowej w polsce w aspekcie wdrażania ramowej dyrektywy wodnej. *Infrastruktura i Ekologia Terenów Wiejskich*, 4, 57-72.
9. Lopez-Bernal K., 2003. Design of a watershed-based nitrogen trading system or the Big and Little Wood Rivers Watershed. Massachusetts Institute of Technology.
10. Zurlini G., 1996. Multiparametric classification of trophic conditions. The OECD methodology extended: combined probabilities and uncertainties-application to the North Adriatic Sea. *The Science of the Total Environment*, 169-185.
11. White E., 1983. Lake eutrophication in New Zealand. A comparison with other countries of the Organization for Economic Cooperation and Development. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 17, 437-444.
12. Sulu R., 2004. Status of Coral Reefs in the Southwest Pacific. Publications University of South Pacific.
13. Kalaji H.M., Sytar O., Brestic M., Samborska I.A., Cetner M.D., Carpentier C., 2016. Risk assessment of urban lake water quality based on in-situ cyanobacterial and total chlorophyll-*a* monitoring. *Pol. J. Environ. Stud.*, 25(2), 655-661.
14. Richard A. 1969. *Vollenweider: A Manual on Methods for Measuring Primary Production in Aquatic Environments*. IBP Handbook No. 12. – Oxford and Edinburgh: Published for the International Biological Programme by Blackwell Scientific Publications, pp. 45.