

Ryszard Laskowski

Zakład Ekologii Ekosystemów
Instytutu Biologii Środowiskowej
Uniwersytetu Jagiellońskiego
ul. Ingardena 6
30-060 Kraków

**Ekotoksykologia '97 – problemy
i kierunki badawcze**

Ecotoxicology '97 – problems
and trends

1. Czym ekotoksykologia nie jest

Ekotoksykologia, choć niekoniecznie pod tą etykietą, uprawiana jest już od kilkudziesięciu lat. Mimo to do dziś nie doczekała się definicji na tyle precyzyjnej, by można było uznać ją za dziedzinę wiedzy o jasno określonym przedmiocie i aparacie poznawczym. Powstała na styku kilku nauk, czerpiąc początkowo szczególnie obficie z klasycznej toksykologii o nastawieniu bardziej fizjologicznym niż ekologicznym. *Eko* dołączyło do *toksykologii* w pewnej mierze tylnymi drzwiami, gdy zainteresowania toksykologów wykroczyły poza obszar zarezerwowany tradycyjnie dla toksykologii klinicznej i farmakologii, a równocześnie ekolodzy zauważyli, iż w badaniach nad interakcjami między organizmami i ich środowiskiem częstokroć nie sposób pominąć toksycznego oddziaływania niektórych substancji chemicznych (niekoniecznie o antropogenicznym pochodzeniu). Być może za twórcę ekotoksykologii należałoby uznać zatem Shelforda, który formułując swe słynne *prawo tolerancji* zwrócił uwagę na ważki fakt, iż każdy czynnik środowiskowy występujący w nadmiarze może obniżać dostosowanie organizmu (może nie było to powiedziane dokładnie tak, ale o to przecież chodziło). Oznaczałoby to, że ekotoksykologia narodziła się już z początkiem tego wieku. Osobiście byłbym jednak ostrożniejszy: choć Shelford ubrał swą myśl w słowa, które z łatwością można by wykorzystać przy próbie definiowania przedmiotu ekotoksykologii, to wiele lat przyszło jeszcze czekać na wypracowanie w miarę spójnego programu i metod badawczych. Jak będziemy mieli okazję przekonać się w dalszej części artykułu, proces ten trwa zresztą do dziś i wydaje się daleki od zakończenia.

Na tym etapie rozważań daleko nam jeszcze do postawienia precyzyjnej diagnozy, czym ekotoksykologia jest. Możemy jednak pokusić się o odrzucenie tego, co o bycie ekotoksykologią bywa podejrzewane, choć w mojej opinii z pewnością nią nie jest. (W tym miejscu winien jestem czytelnikowi wyjaśnienie: definicji ekotoksykologii jest zapewne tyle, ile osób uważających się za ekotoksykologów – a są ich tysiące na całym świecie. Artykuł ten nie stanowi zatem przeglądu ogólnego stanu wiedzy w bliżej nieokreślonej dziedzinie zwanej ekotoksykologią, lecz jest raczej próbą przedstawienia i – nie ukrywam – przekonania czytelników do

własnego punktu widzenia na tę dość modną obecnie dyscyplinę.) Jeśli ekotoksykologia ma różnić się czymkolwiek od toksykologii, to musi opierać się na podstawowych założeniach ekologii. Zatem przedmiot jej studiów winien wykraczać poza granice pojedynczego organizmu, a już zwłaszcza jego tkanek, komórek, czy struktur subkomórkowych. Nie są zatem ekotoksykologią np. tak licznie prowadzone przez ostatnie ćwierć wieku badania nad rozmieszczeniem metali ciężkich lub biocydów w poszczególnych tkankach organizmów żywych. Nie jest ekotoksykologią badanie wewnątrzkomórkowych struktur wiążących metale, czy też enzymatycznych systemów degradacji toksycznych związków organicznych. Jednak takie właśnie prace przyjęło się dość powszechnie uważać niemal za klasykę ekotoksykologii. Dziwne to zważywszy, iż nikomu zapewne nie przyszłoby do głowy nazwać ekologiem kogoś, kto zajmuje się badaniem, dajmy na to, cyklu Krebsa. Oczywiście cykl Krebsa, podobnie jak wszelkie przejawy życia, nie pozostaje w oderwaniu od środowiska organizmu, jednak nauczyliśmy się odnajdywać tę, przyznaję czasami wąską, granicę między biochemią (fizjologią, neurobiologią, etc.) a ekologią. Z bliżej nie znanych przyczyn takie rozróżnienie okazało się jednak szczególnie trudne właśnie w przypadku ekotoksykologii. Być może zasadniczy problem leży po prostu w młodym wieku dyscypliny i jej bujnym rozwoju w ostatnich latach. Trzeba też pamiętać, iż ekotoksykologia jest bodaj najbardziej interdyscyplinarną dziedziną ekologii, co dodatkowo łatwo może prowadzić do konfuzji.

Nie zamierzam oczywiście negować ogromnego znaczenia, jakie dla ekotoksykologii mają badania prowadzone we wszystkich wspomnianych wyżej dziedzinach. Bez nich wyjaśnienie wielu zjawisk ekotoksykologicznych byłoby po prostu niemożliwe. Podobnie jednak rzecz się ma także z innymi, bardziej już ugruntowanymi działami ekologii, jak np. całą ekologią fizjologiczną. Dopóki jednak nie sprecyzujemy, czym ekotoksykologia jest, czym być powinna, a czym zdecydowanie nie jest, nie liczyłbym na większe postępy w tej dziedzinie badań.

2. Czym ekotoksykologia jest

Przede wszystkim jest dziełem przypadku i konieczności. Konieczności, bo nawet najzagorzalsi puryści ekologii (w dowolnym tego słowa znaczeniu) nie mogli całkowicie odżegnać się od przykrego faktu, iż większość naszego globu została poddana wielkiemu „ekologicznemu” eksperymentowi nad wpływem antropogenicznych substancji toksycznych na organizmy żywe. Jeśli więc ekologia ma się zajmować między innymi (by nie rzec: przede wszystkim) oddziaływaniem środowiska na organizmy, to nie można było dłużej pomijać tak obecnie istotnych jego składników, jak biocydy, gazowe utleniacze, czy metale ciężkie. Przypadku, bo jako dziedzina wiedzy wyrosła z dość losowych mariaży toksykologów

z politykami, ekologów z toksykologami, praktyków z ekologami, etc. Skutek tego przypadku był łatwy do przewidzenia: bałagan pojęciowy, brak sprawnego aparatu matematycznego i statystycznego, często brak wspólnego języka i jasno określonego celu. Problemy te wypływają bezustannie przy okazji każdej konferencji ekotoksykologicznej, przewijają się też przez liczne publikacje (por. L a s k o w s k i 1994, 1995a).

Jest zatem ekotoksykologia dynamicznie rozwijającą się gałęzią wiedzy, ale rozdartą między odmiennym pojmowaniem jej zadań wśród praktyków, toksykologów i ekologów. Praktycy widzą w ekotoksykologii narzędzie do rozwiązywania problemów, przynajmniej niektórych, współczesnego świata. W ich opinii ekotoksykolodzy winni dostarczać jasnych i prostych, a zarazem precyzyjnych metod szacowania zagrożeń płynących z wprowadzania do środowiska substancji chemicznych, by umożliwić podejmowanie racjonalnych gospodarczo i społecznie, a uzasadnionych naukowo decyzji. Przynajmniej dla części ekologów takie czysto utilitarne podejście jest obce. Ci, kierowani ciekawością świata, chcieliby poznać mechanizmy rządzące losami zanieczyszczeń w środowisku i ich skutkami dla funkcjonowania ekosystemów lub przynajmniej ich fragmentów. Wreszcie dla toksykologa-fizjologa ważne są reakcje na substancje toksyczne wykazywane przez poszczególne tkanki, a nawet komórki i struktury subkomórkowe. Mogłoby się wydawać, iż nic prostszego, jak poskładać te różne spojrzenia na ekotoksykologię w jedną spójną całość. Niestety, dotychczas raz po raz okazywało się, że nie takie to proste. Choć z pozoru komplementarne, tak odmienne cele stawiane ekotoksykologii wymuszają często całkowicie odmienne podejście. Dla praktyka bowiem nie jest najważniejsze, czy wybrany gatunek testowy jest np. reprezentatywny dla ekosystemów, o które pyta. Ważne, by test dawał jasne, jednoznaczne odpowiedzi. Tymczasem my, ekolodzy, wiemy doskonale, że dla wielu gatunków takiej prostej odpowiedzi spodziewać się nie można; często właśnie dla gatunków niezwykle ważnych dla funkcjonowania ekosystemu. Poza tym dla testów ekotoksykologicznych o tak sformułowanym zadaniu konieczne staje się przede wszystkim opracowanie standardowych metod i przyjęcie „standardowych” gatunków, by wyniki były porównywalne i mogły być wykorzystywane w procedurach legislacyjnych. Tu zatem duży wysiłek musi być skierowany właśnie na wybór najodpowiedniejszych organizmów i metod oraz ich standaryzację.

Doskonałym przykładem tego typu podejścia, będącego odpowiedzią na zapotrzebowanie praktyków, był realizowany w latach 1993–1995 duży międzynarodowy projekt badawczy o kryptonimie SECOFASE: „*Development, improvement and standardization of test systems for assessing sublethal effects of chemicals on fauna in the soil ecosystem*”. W projekcie uczestniczyło 10 ośrodków naukowych z ośmiu krajów: Czech, Danii (koordynacja projektu), Holandii,

Niemiec, Polski (reprezentowanej przez autora niniejszego tekstu i współpracowników), Szwecji, Węgier i Wielkiej Brytanii. Zadaniem grupy badawczej było opracowanie rozmaitych testów mogących wykazać subletalne efekty intoksykacji (a więc daleko czulszych od większości stosowanych obecnie) u przedstawicieli rozmaitych grup taksonomicznych uznawanych za znaczące dla funkcjonowania subsystemu glebowo-ściółkowego. Projekt zaowocował ogromną liczbą danych, z których część posłużyła do przygotowania standardowych testów zatwierdzanych przez odpowiednią komisję OECD (Europejska Organizacja do spraw Kooperacji i Rozwoju).

Niestety podejście takie częstokroć stoi w sprzeczności zarówno z aktualnym stanem wiedzy, jak i zainteresowaniami ekotoksykologów–ekologów. Zamiast klarownych, falsyfikowalnych hipotez stawia się przed badaczami „proste” zadania; nie jest ważne ani dlaczego skutek jest taki a nie inny, ani czy w ogóle rozumiemy co dzieje się w ekosystemie (populacji). Liczy się jedynie możliwość sprawnego, szybkiego, a do tego najlepiej taniego stwierdzenia, czy dana substancja chemiczna nie doprowadzi do klęski ekologicznej. Takie stawianie problemu przypomina do pewnego stopnia różnicę między fizyką eksperymentalną a budownictwem: dla inżyniera stawiającego wiadukty i mosty nie jest szczególnie ważne, jakie są wzajemne oddziaływania cząstek elementarnych w betonie, ważne, żeby postawiona budowla była na tyle solidna, by z nawiązką spełniała stawiane jej wymagania. Toteż żaden inżynier przy zdrowych zmysłach nie rozpoczyna każdego projektu od dogłębnych studiów w dziedzinie fizyki cząstek elementarnych; jedyną informacją jakiej potrzebuje, to wytrzymałość cementu i zbrojenia. Wykonuje więc niezbędne obliczenia, potem na wszelki wypadek mnoży wszystko na przykład przez 5 (margines bezpieczeństwa) i przekazuje projekt w ręce wykonawców. Tak też mniej więcej wyglądają zadania ekotoksykologii stosowanej: należy dowiedzieć się, jaka jest wytrzymałość organizmów testowych na badane substancje (określić np. LC₅₀, EC₁₀, etc.), podzielić wynik przez 5, może 10 (margines bezpieczeństwa) i oddać sprawę w ręce praktyków. Im prostszy test, im mniej gatunków, im bardziej jednoznaczna odpowiedź, tym lepiej.

Być może więc, korzystając z powyższego przykładu, należałoby przede wszystkim zacząć nie od próby formułowania ogólnej definicji ekotoksykologii, lecz raczej od przeprowadzenia wyraźnego podziału między ekotoksykologią stosowaną i ekotoksykologią – dziedziną badań podstawowych. Ekotoksykologia stosowana byłaby zatem elementem czegoś, co można by nazwać inżynierią środowiska (takie pojęcie już zresztą istnieje) i jako takiej stawialibyśmy jej „inżynierskie” wymagania. Może wówczas udałoby się uniknąć raz po raz powtarzających się bezpłodnych dyskusji między przedstawicielami tych dwu opcji nad przedmiotem ekotoksykologii?

3. Podstawowe pojęcia i wskaźniki

Jak każda dziedzina wiedzy, tak i ekotoksykologia posługuje się właściwym sobie językiem i pojęciami. Ze względu na swą specyfikę, stosuje się tu także szereg rozmaitych wskaźników toksyczności, wśród których tylko niektóre są szerzej znane. Dla zrozumienia dalszego tekstu niezbędna jest znajomość przynajmniej kilku podstawowych pojęć, toteż poniżej wyjaśniam te, na które czytelnik natknie się w dalszej lekturze artykułu:

LC_X – stężenie substancji powodujące śmierć X% osobników w populacji (ang. – *lethal concentration*); np. LC₅₀ – stężenie powodujące 50-procentową śmiertelność. Podobnie można teoretycznie wyznaczać stężenia powodujące śmiertelność dowolnej frakcji populacji, np. LC₁₀ lub LC₅. Należy jednak pamiętać, że rozkład wrażliwości osobników na czynniki środowiskowe jest dla większości populacji w przybliżeniu normalny (lub da się do takiego sprowadzić), czyli najwięcej jest osobników o wartościach przeciętnych. Osobniki o skrajnych właściwościach, np. szczególnie wrażliwe na określoną substancję toksyczną, są w populacji nieliczne, toteż precyzyjne wyznaczenie LC₁₀, a tym bardziej LC₅, wymaga przebadania wielokrotnie większych populacji niż dla LC₅₀. Z tego właśnie powodu jako jedyną miarodajną wartość należy na ogół uznać LC₅₀. Stężenia powodujące niewielką śmiertelność w populacji mogą być wyznaczane albo w oparciu o bardzo duży materiał eksperymentalny, albo szacowane na podstawie LC₅₀ oraz kształtu krzywej opisującej zależność między stężeniem tej substancji a śmiertelnością w populacji.

EC_X – wielkość analogiczna do LC_X, lecz o szerszym znaczeniu: oznacza stężenie substancji, przy którym X% osobników populacji wykazuje badany efekt (ang. *effect concentration*). Tak więc LC_X jest szczególnym przypadkiem EC_X, gdy badaną reakcją jest śmiertelność. W ekotoksykologii można wyznaczać EC_X np. dla tempa respiracji, poziomu aktywności lokomotorycznej, tempa wzrostu, czy rozrodczości. Podobnie jak w przypadku LC_X, najbardziej miarodajną wartością jest oczywiście EC₅₀.

NOEC – najwyższe stężenie substancji toksycznej, przy którym nie obserwuje się jeszcze statystycznie istotnych efektów w będącej przedmiotem badań reakcji organizmu (ang. *no observed effect concentration*). Powszechnie używana miara toksyczności, zwłaszcza w ekotoksykologii stosowanej. Niezależnie od powszechności użycia, miara bardzo niedobra: jej wielkość w stopniu o wiele większym niż ma to miejsce w przypadku EC₅₀ zależy od liczby powtórzeń w eksperymencie, zastosowanego szeregu stężeń, dokładności samego badacza i wreszcie od zastosowanego testu statystycznego oraz przyjętego poziomu ufności. Czytelników zainteresowanych bardziej szczegółową dyskusją problemu odsyłam do własnego artykułu w czasopiśmie „*Oikos*” (Laskowski 1995b).

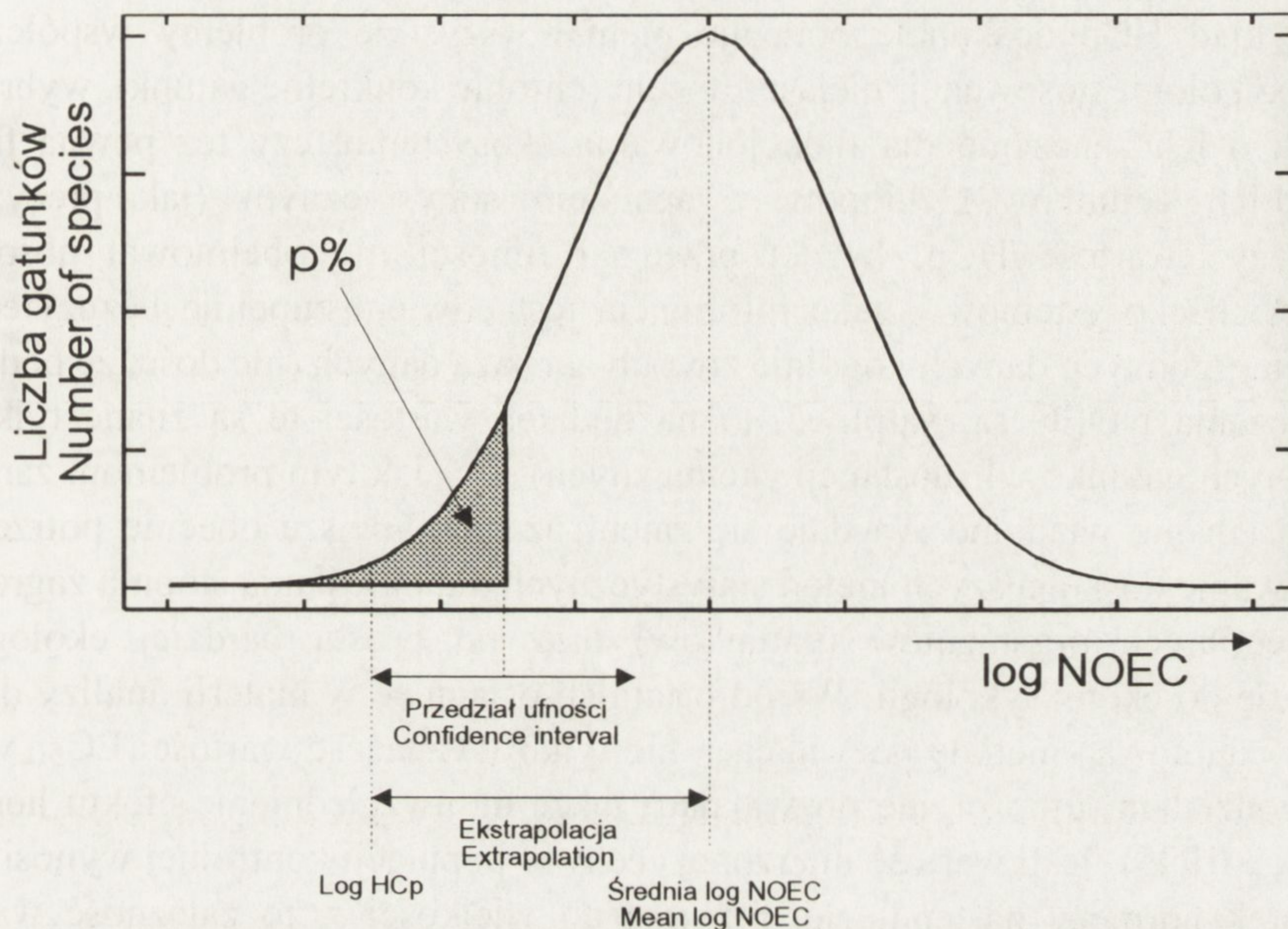
LOEC – najniższe stężenie substancji toksycznej, jakie powoduje statystycznie istotny efekt (ang. *lowest observed effect concentration*). Miara analogiczna do NOEC, równie często w ekotoksykologii stosowana i obarczona tymi samymi wadami.

Hormeza – wzrost ogólnego dostosowania lub niektórych tylko jego elementów, np. rozrodczości czy tempa przyrostu biomasy, pod wpływem niskich dawek (stężeń) substancji toksycznych. Wydaje się, iż zjawisko to jest powszechniejsze niż pierwotnie sądzono: hormezę wykazano obecnie u wielu gatunków dla rozmaitych substancji toksycznych. Mechanizm hormezy do dziś nie został wyjaśniony, a spośród stawianych hipotez można wymienić np. większą podatność na trucizny niektórych pasożytów niż ich gospodarzy, wzmożenie tempa reprodukcji na skutek „wykrycia” przez osobniki zagrożenia wzrostem śmiertelności w populacji oraz fakt, iż niektóre substancje toksyczne, będące równocześnie mikroelementami (np. Zn, Cu), mogą występować w środowisku w stężeniach suboptymalnych.

Macierze projekcji (także „macierze Lesliego”) – macierze stosowane do budowy deterministycznych modeli dynamiki populacji, zawierające niezbędne do tego celu informacje, a więc dane o rozrodczości i przeżywalności charakterystyczne dla poszczególnych klas wieku. Pozwalają na projekcję w przyszłość liczebności populacji oraz oszacowanie jej stabilnej struktury wieku. Dominująca wartość własna takiej macierzy, λ , określa skończone tempo wzrostu populacji o stałym kształcie rozkładu wieku. Liczebność populacji wzrasta wykładniczo, gdy $\lambda > 1$, nie zmienia się gdy $\lambda = 1$, a maleje gdy $\lambda < 1$. Wartość λ jest związana z wewnętrznym tempem wzrostu populacji r zależnością: $r = \ln \lambda$. Podstawy zastosowania rachunku macierzy w modelowaniu dynamiki populacji przedstawił swego czasu w „Wiadomościach Ekologicznych” Dzwonko (1981) (patrz także: Uchmański 1992). Czytelników bardziej zainteresowanych możliwościami stosowania tego niezwykle użytecznego w ekologii populacyjnej narzędzia odsyłam do obszernego dzieła Caswella (1989).

4. Współczesne kierunki w ekotoksykologii stosowanej

Jeśli zgodzimy się na zaproponowany wyżej podział, to możemy już jasno sprecyzować zadania ekotoksykologii stosowanej: opracowanie i stosowanie zestawu testów ekologicznych do badania antropogenicznych zagrożeń środowiska. Doskonałym przykładem próby zaspokojenia potrzeb praktyków w tej materii jest zdefiniowane przez van Straalena i van Gestela (1993b) tzw. HCp (ang. *Hazard Concentration for p%*) – stężenie, poniżej którego leżą wartości NOEC tylko dla nielicznych ($\leq p\%$) gatunków. Zatem np. HC5, proponowane jako wartość standardowa dla praktyków, oznacza stężenie substancji chemicznej, przy którym godzimy się na narażenie $\leq 5\%$ gatunków na szkodliwe oddziaływanie tej substancji.



Rys. 1. Zasada wyznaczania HCp na podstawie znanych wartości NOEC: $p\%$ – frakcja gatunków podlegających ochronie (wg van Straalena i van Gestela 1993b)

The principle of estimating HCp using the known NOEC values: $p\%$ – percentage of protected species (after van Straalen and van Gestel 1993b)

Wartość HCp oblicza się na podstawie wcześniej wyznaczonych wartości NOEC (rys. 1). Tak oszacowana wartość HCp uwzględnia już „margines bezpieczeństwa”, ponieważ za HCp przyjmujemy nie bezpośrednio stężenie, od którego NOEC jest niższe dla $p\%$ gatunków, lecz dolną granicę przedziału ufności tego stężenia.

Natrafiamy tu jednak na kilka problemów. Po pierwsze, wartości NOEC są obecnie znane tylko dla nielicznych gatunków, zatem przed przystąpieniem do wyliczania HCp niezbędne jest wykonanie wielu, częstokroć uciążliwych i czasochłonnych testów. Po wtóre, statystyczne i biologiczne podstawy wyznaczania NOEC są dość wątpliwe, stąd nawet te wyznaczone wartości są wysoce niepewne (Laskowski 1995b). Po trzecie, na co zwrócił uwagę Hopkin (1993), obliczone w ten sposób wartości HC5 dają na ogół stężenia tak niskie, iż trudno znaleźć ekosystemy, w których nie byłyby one przekroczone (co w znacznej mierze wynika z dużej niepewności, z jaką wyznaczane są NOEC)! Po czwarte, metoda ta zupełnie zaniedbuje niewątpliwe różnice w znaczeniu poszczególnych gatunków dla funkcjonowania ekosystemów; cóż bowiem, jeśli ochronimy skutecznie 95% gatunków, lecz wśród zagrożonych wyginięciem pozostałych 5% znajdą się akurat te kluczowe dla np. procesów dekompozycji materii organicznej?

Przykład HCp doskonale obrazuje niemal wszystkie problemy współczesnej ekotoksykologii stosowanej: niejasność celu (chronić konkretne gatunki, wybrane w oparciu o ich znaczenie dla funkcjonowania ekosystemu, czy też pewną frakcję wszystkich gatunków?), kłopoty z aparatem statystycznym (jak precyzyjnie wyznaczyć wartość HCp, by jej przedział ufności nie obejmował absolutnie wszystkich ekosystemów – taka informacja jest bowiem zupełnie bezużyteczna), brak wiarygodnych danych i ogólnie zbyt uboga baza danych (nie dość, że podstawy wyznaczania NOEC są wątpliwe, to na dodatek wartości te są znane tylko dla nielicznych gatunków i substancji chemicznych), etc. Jak tym problemom zaradzić, tymczasem nie wiadomo. Wydaje się zatem, iż najpilniejsze obecnie potrzeby to opracowanie doskonalszych metod statystycznych dla określania stopnia zagrożenia poszczególnych organizmów (gatunków) oraz po prostu bardziej ekologiczne podejście do ekotoksykologii. Wśród ostatnich osiągnięć w materii analizy danych należy odnotować metodę pozwalającą nie tylko wyznaczać wartości EC₅₀ wraz z ich przedziałami ufności, ale pozwalającą także na uwzględnienie efektu hormezy (Løkke 1995). Jeśli wartość mierzonej cechy w populacji kontrolnej wynosi c , zaś na skutek hormezy następuje jej przyrost do wielkości s , to zależność wartości mierzonej cechy y od stężenia x badanej substancji można opisać wzorem (rys. 2):

$$y = (c + s \cdot x) / (1 + e^{\alpha} \cdot x^{\beta}), \quad (1)$$

gdzie α i β są stałymi. Dla $x = EC_{50}$, y z definicji wynosi $c/2$, a zatem:

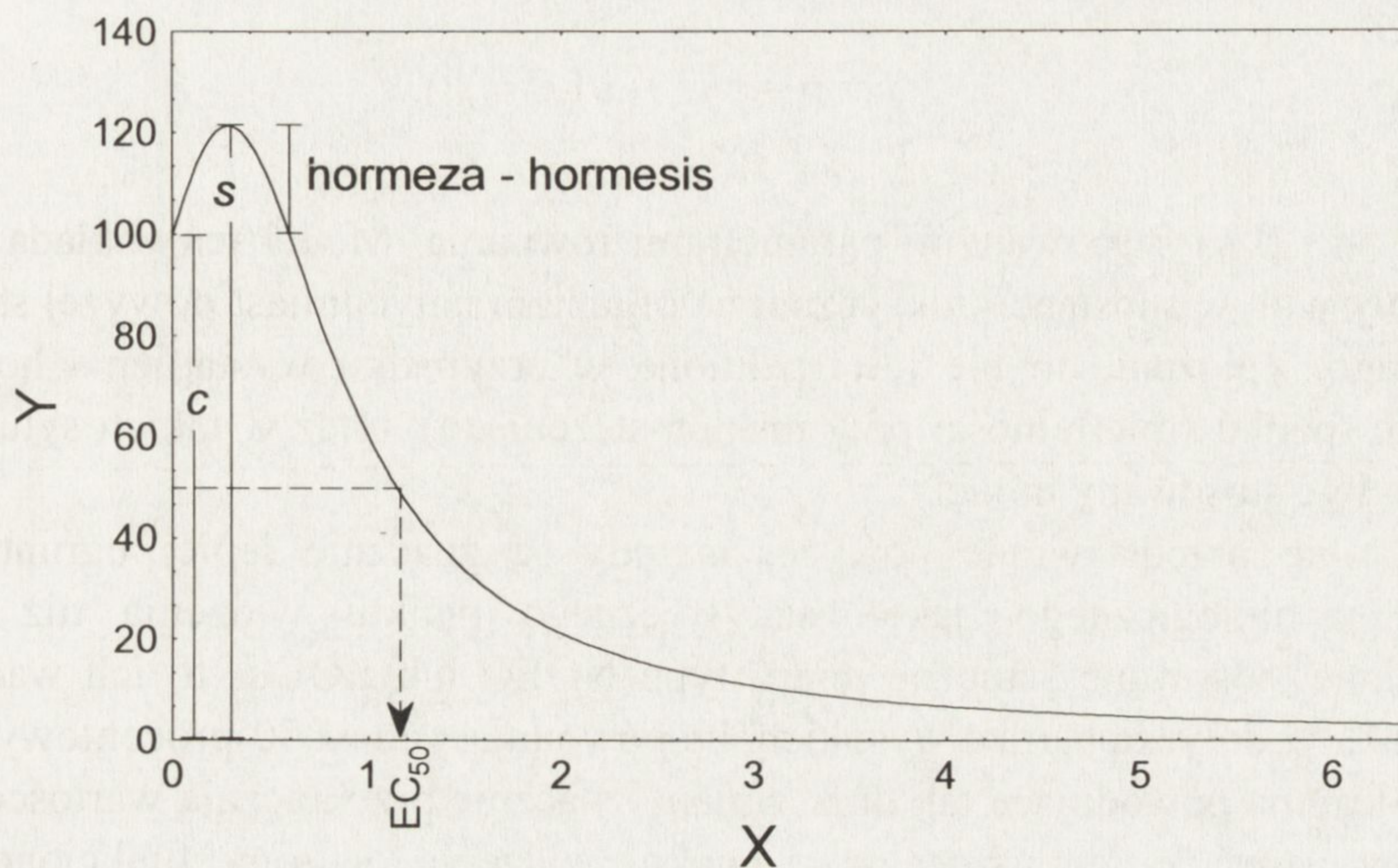
$$c/2 = (c + s \cdot EC_{50}) / (1 + e^{\alpha} \cdot EC_{50}^{\beta}). \quad (2)$$

Ponieważ z eksperymentu znane są bezpośrednio jedynie wartości x oraz y , musimy równanie (2) przekształcić tak, by EC_{50} stało się szacowanym parametrem równania (1):

$$e^{\alpha} = (c/2 + s \cdot EC_{50}) / (EC_{50}^{\beta} \cdot c/2). \quad (3)$$

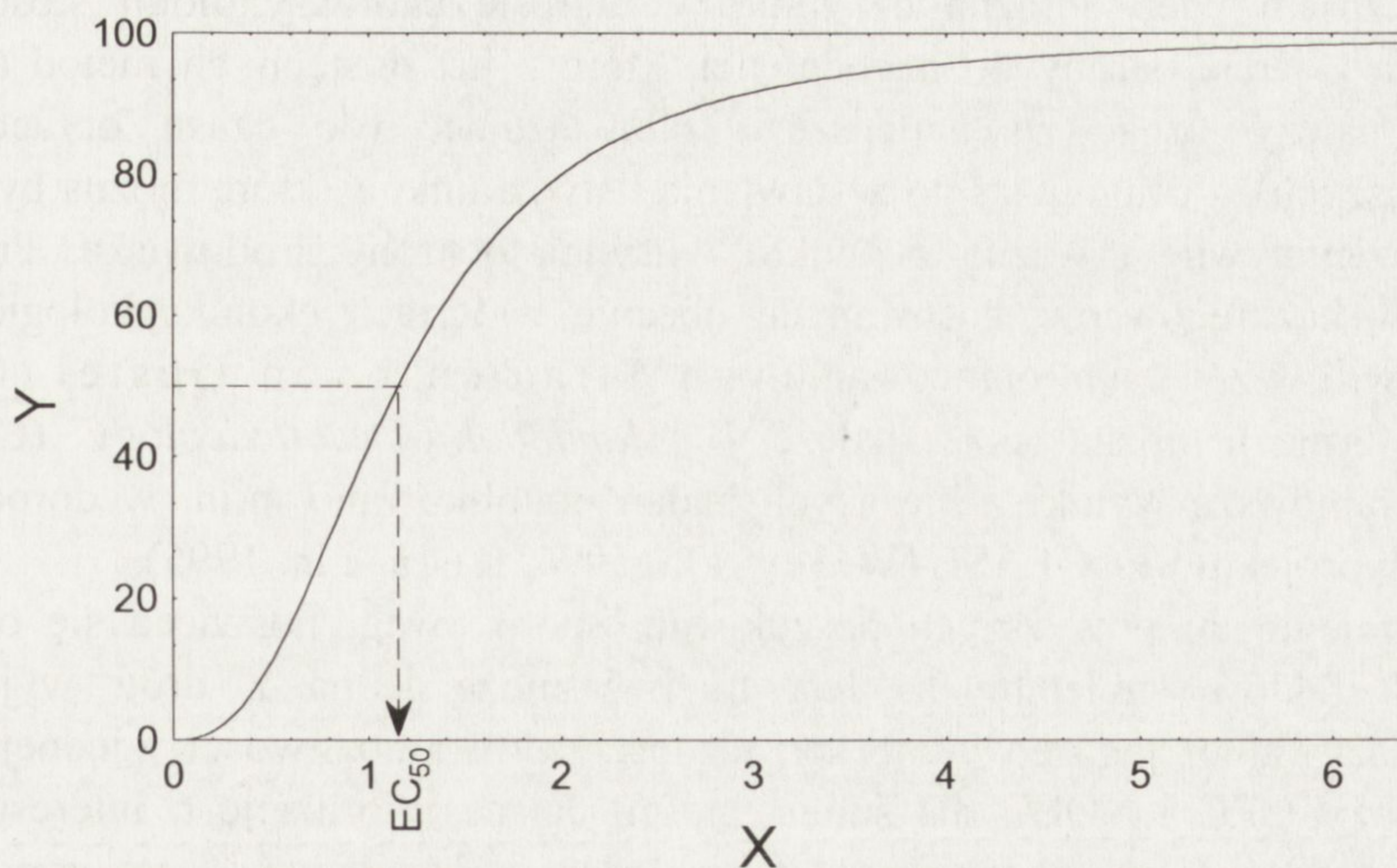
Prawą stroną równania (3) można już teraz podstawić za e^{α} w równaniu (1), co pozwala oszacować EC_{50} wraz z właściwym przedziałem ufności.

Powyższa metoda opiera się na przesłankach podobnych do tych wykorzystywanych w farmakologii przy szacowaniu EC_{50} za pomocą tzw. modelu „*Half Maximal Response*” (CSS-Statistica 1991). Model ten, choć stosowany także w ekotoksykologii, częstokroć okazuje się tu mniej przydatny właśnie ze względu na niemożność uwzględnienia hormezy. Przyjmując, że pod wpływem substancji toksycznej badana cecha może osiągnąć maksymalnie wartość b (np. 100% w przypadku śmiertelności), model ten opisany jest następującą zależnością (rys. 3):



Rys. 2. Szacowanie wartości EC_{50} przy pomocy nieliniowego modelu regresji uwzględniającego możliwość wystąpienia hormezy (równanie 1, patrz tekst); X – stężenie lub dawka badanej substancji toksycznej, Y – wartość mierzonej cechy, c – wartość mierzonej cechy w populacji kontrolnej, s – maksymalna osiągnięta wartość mierzonej cechy

Estimation of the EC_{50} value with use of the nonlinear regression model allowing for hormesis (equation 1, see text); X – concentration or dose of the toxicant tested, Y – value of the characteristic measured, c – value of the characteristic measured in control population, s – maximal value of the characteristic measured reached in the experiment



Rys. 3. Szacowanie wartości EC_{50} przy pomocy nieliniowego modelu regresji typu „Half Maximal Reponse”, nie uwzględniającego hormezy (równanie 4, patrz tekst); X – stężenie lub dawka badanej substancji toksycznej, Y – wielkość reakcji

Estimation of the EC_{50} value with use of the Half Maximal Response nonlinear regression model without hormesis (equation 4, see text); X – concentration or dose of the tested toxicant, Y – reaction

$$y = b - b/(1+(x/LC_{50})^{\beta}), \quad (4)$$

gdzie LC_{50} i β są szacowanymi parametrami równania. Model ten zakłada zatem negatywny wpływ substancji toksycznej na organizm natychmiast powyżej stężenia kontrolnego. Założenie to nie jest spełnione w przypadku wystąpienia hormezy (czyli np. spadku śmiertelności przy niskich stężeniach), toteż w takich sytuacjach powinien być stosowany model (1).

Choć obie przedstawione powyżej metody są znacznie lepiej ugruntowane zarówno z biologicznego, jak i statystycznego punktu widzenia niż wciąż powszechnie stosowane sztuczne miary typu NOEC lub LOEC, to ich wadą jest z kolei fakt, iż dotyczą bardzo wysokich, bo powodujących aż 50-procentowy efekt, stężeń. Stężenia powodujące tak duże zmiany znacznie przekraczają wartości, jakie można by uznać za dopuszczalne z punktu widzenia ochrony funkcjonowania ekosystemów bądź różnorodności gatunkowej. Oczywiście po nieznaczących przeróbkach można użyć tych samych modeli także do wyznaczania niższych stężeń, np. powodujących 10-procentowy (EC_{10}) lub nawet 5-procentowy (EC_5) efekt. Niestety – wówczas wracamy do problemu znanego już z NOEC i LOEC: tak wyznaczone wartości są na tyle niedokładne (co wynika z samego rozkładu reakcji organizmów), że ich stosowanie do szacowania stopnia zagrożenia ekosystemów często mija się z celem.

Tymczasem więc doraźne działania w zakresie ekotoksykologii stosowanej zmierzają z jednej strony do uzgodnienia, które z już dostępnych metod analizy danych należy uznać za najlepsze i obowiązujące (do czasu opracowania doskonalszych), z drugiej zaś do zestawienia listy gatunków, które można by uznać za reprezentatywne i ważne z punktu widzenia ochrony środowiska. Przegląd gatunków bezkręgowców stosowanych obecnie w testach ekotoksykologicznych przedstawili w zwięzłym opracowaniu van Straalen i van Gestel (1993a), sporo informacji można także znaleźć w „*Handbook of ecotoxicology*” (Calow 1993). Najnowsze wyniki z bieżących badań opublikowano m.in. w dorocznych raportach projektu SECOFASE (Wiles i in. 1994, Kula i in. 1995).

Równolegle do powyższych poszukiwań, sporo uwagi poświęca się ostatnio badaniu efektów subletalnych. Jest to być może jedna z dróg wyjścia z nierozwiązywalnej, jak się wydaje, sprzeczności celów i możliwości: z jednej strony LC_{10} oraz LOEC i NOEC dla śmiertelności, dające informację o interesującym zakresie stężeń, ale obarczone zbyt dużym błędem, z drugiej zaś LC_{50} – szacowane względnie dokładnie, ale za to dające mało interesującą z praktycznego punktu widzenia informację. Opracowanie metod pozwalających na badanie najczulszych na działanie substancji toksycznych reakcji organizmów dałoby bowiem do ręki ekotoksykologów narzędzie „wczesnego ostrzegania”. Wiele przemawia za tym, że

zanim jeszcze da się zaobserwować efekty letalne, organizmy przejawiają wyraźne zmiany w fizjologii lub behawiorze, prowadzące do nieznacznych (ale istotnych!), a zatem trudno mierzalnych bezpośrednio zmian w ogólnym dostosowaniu. Takie „biomarkery”, jak przyjęło się je nazywać w ekotoksykologicznym żargonie, obejmują w najszerszym ujęciu wszelkie dające się mierzyć reakcje organizmów poniżej poziomu LC₅₀. Mogą to być zatem zarówno parametry czysto ekologiczne i etologiczne, jak np. tempo wzrostu i reprodukcji lub poziom aktywności lokomotorycznej, poprzez te z pogranicza ekologii i fizjologii, np. tempo respiracji, po czysto fizjologiczne (np. zmiany metabolizmu tkanek), a nawet cytologiczne i cytochemiczne (np. tempo lizy błon komórkowych, czy też ekspresja białek szoku termicznego). Dla tego typu wskaźników można już bezpiecznie wyznaczać EC₅₀, które z kolei winny dać się przełożyć na niewielkie zmiany w historiach życiowych organizmów. Znalezienie takich zależności umożliwiłoby projekcję liczebności zagrożonych populacji w przyszłość (np. przy pomocy rachunku macierzowego), co już pozwoliłoby na bezpośrednią interpretację ekologiczną w postaci zmiany dostosowania organizmów pod wpływem badanych substancji.

Trzecim kierunkiem badań w ekotoksykologii stosowanej, stosunkowo nieźle rozwiniętym w ekotoksykologii ekosystemów wodnych, a cierpiącym na wyraźny niedorozwój w ekotoksykologii lądowej, są prace nad tzw. „*quantitative structure–activity relationships*” (QSAR), czyli nad zależnościami, które pozwalają wnioskować o aktywności ekologicznej (toksyczności, biokoncentracji, biomagnifikacji) danej substancji na podstawie znajomości samej tylko struktury chemicznej. Podejście to skierowane jest przede wszystkim na badanie związków organicznych, choć nie można wykluczyć zastosowania QSAR do całej gamy potencjalnie szkodliwych substancji. Tymczasem jednak oddziaływania między antropogenicznymi a naturalnymi substancjami chemicznymi (np. związki humusowe) w ekosystemach lądowych są na tyle słabo poznane i najprawdopodobniej na tyle skomplikowane, iż w tej dziedzinie nie należy spodziewać się w najbliższych latach szybkiego postępu (ale patrz Nirmalakhandan i Speece 1988).

W ten sposób udało się zwięźle przedstawić ważniejsze problemy dotyczące nie tylko ekotoksykologii stosowanej, ale w znacznej mierze również badań podstawowych. Te ostatnie wymagają jednak rozwiązania jeszcze bardziej podstawowej kwestii: jasnego sprecyzowania przedmiotu badań, do dziś bowiem nie ma co do niego powszechnej zgody.

5. Badania podstawowe w ekotoksykologii

Wydaje się, iż w ciągu ostatnich lat następuje wyraźny zwrot w ekotoksykologii ku badaniom *stricte* ekologicznym. Podczas gdy jeszcze 15–20 lat temu jedynymi

badaniami w tej dziedzinie, którym można było przypisać ewidentnie ekologiczne podstawy, były prace nad transferem substancji toksycznych w łańcuchach troficznych (np. Hunter i Johnson 1982 oraz liczne inne prace tych autorów), obecnie wielu badaczy skierowało swe wysiłki na poznanie wpływu substancji toksycznych na podstawowe parametry historii życiowych. Choć wczesne prace w tej dziedzinie liczą sobie już sporo lat (np. Cook i in. 1972, Bengtsson i in. 1983), to dopiero ostatnio takie spojrzenie na ekotoksykologię zdobyło szerszy grunt. Sporą zasługę należy w tej materii przypisać R. Sibly'emu z Wielkiej Brytanii (np. Sibly i Calow 1989) oraz N. M. van Straalenowi z Holandii (np. van Straalen i in. 1989). Sibly i Calow (1989) zwracają uwagę na fakt, iż obrona przed działaniem stresogennych czynników środowiskowych, np. substancji toksycznych, jest najprawdopodobniej dla każdego organizmu kosztowna. Jeśli koszt syntezy i metabolizmu białek wynosi ok. 15% metabolizmu podstawowego (Sibly i Calow 1989 oraz literatura tam cytowana), to wymiana i naprawa protein uszkodzonych wskutek działania substancji toksycznych musi pociągać za sobą dodatkowe obciążenie. Podobnie kosztowna być musi synteza enzymów detoksykacyjnych i białek wiążących substancje toksyczne. Ponieważ każdy organizm „dokonuje” pewnego kompromisu (ang. *trade-off*) między inwestowaniem w rozród, przyrost własnej biomasy i obronę, specyficznego dla określonych warunków środowiskowych, zmiana tych warunków musi powodować przesunięcia w tych inwestycjach. Przy założeniu stałej dostępności zasobów energii oznacza to, że wzrost kosztów obrony musi pociągać za sobą spadek produkcji, jeśli prawdopodobieństwo dożycia do określonego wieku ma być utrzymane na nie zmienionym poziomie. Z kolei utrzymanie stałego tempa produkcji wymaga zmniejszenia nakładów na obronę (np. detoksykację), prowadzi więc nieuchronnie do skrócenia życia. Tak sformułowaną ogólną teorią stresu Sibly i Calow (1989) otworzyli nowe przestrzenie dla badań ekotoksykologicznych: optymalizacja strategii życiowych w warunkach zagrożeń antropogenicznych.

W przeciwieństwie do ekotoksykologii stosowanej, gdzie przede wszystkim liczy się możliwość wykonywania szybkich testów, badania podstawowe zmierzają coraz bardziej w kierunku poznania wpływu substancji toksycznych na całość historii życiowych organizmów. Coraz częściej przedmiotem badań są podstawowe parametry populacyjne: tempo produkcji i śmiertelności, zaś najbardziej pożądanym wynikiem jest możliwość stwierdzenia, czy i na ile dostosowanie organizmów zmienia się pod wpływem toksycznych substancji. Podstawowym narzędziem matematycznym ekotoksykologa staje się algebra macierzy, umożliwiająca analizę dynamiki liczebności populacji pod wpływem czynnika stresogennego w ciągu wielu pokoleń (np. van Straalen i in. 1989, Laskowski 1996). Choć takie podejście wydaje się obecnie najbardziej obiecujące, to i ono nie jest wolne od wad.

Jednym z głównych problemów jest fakt, iż z jednej strony szacowane w ten sposób wartości λ mogą być obarczone sporym błędem, z drugiej zaś nie jest znana metoda pozwalająca na analityczne obliczenie przedziałów ufności dla λ . Skutkiem tego standardowa statystyka nie daje się tu zastosować do testowania istotności efektów. Caswell (1989) podaje dwie metody przybliżonego szacowania przedziałów ufności dla λ . Pierwsza opiera się na intensywnych metodach obliczeniowych typu *bootstrap*, druga na przybliżonym szacowaniu wariancji dla λ , a następnie obliczaniu przedziałów ufności przy założeniu normalności rozkładu wartości λ . Omówienie obu metod wykracza jednak poza ramy niniejszego artykułu.

Niezwykle ważne dla przyszłości ekotoksykologii mogą okazać się prace Kammengi i współautorów (np. Kammenga 1995, Kammenga i in. 1996). Autorzy ci wykazali, iż fałszywe jest powszechnie przyjmowane w ekotoksykologii założenie, że podatność organizmów na substancje toksyczne jest determinowana przez najbardziej wrażliwe cechy ich historii życiowych. Okazuje się bowiem, iż organizmy charakteryzują się na tyle znaczną plastycznością fenotypową cech historii życiowych, że nawet duże zmiany np. tempa śmiertelności pod wpływem substancji toksycznych niekoniecznie muszą prowadzić do równie wielkich zmian w ogólnym dostosowaniu. Nawiązuje to do ogólnej teorii stresu (Sibly i Calow 1989), zgodnie z którą kompromis między inwestycjami w produkcję i obronę jest optymalizowany tak, aby w danych warunkach maksymalizować ogólne dostosowanie. W praktyce odkrycie to stawia pod znakiem zapytania sensowność wielu powszechnie stosowanych standardowych testów ekotoksykologicznych, które opierają się właśnie na pomiarach najwrażliwszych reakcji organizmów. Dla opracowania nowych, ekologicznie sensownych testów staje się konieczne szczegółowe poznanie historii życiowych organizmów testowych i przeprowadzenie analizy wrażliwości dostosowania (mierzonego jako r lub λ) na zmiany poszczególnych cech pod wpływem czynników stresogennych.

6. Podsumowanie

Ekotoksykologia stała się wyraźnie wyodrębnioną dziedziną wiedzy. Ogromny przyrost literatury przedmiotu w ostatnich latach wskazuje na jej dynamiczny rozwój i zapowiada, mam nadzieję, rychłe znaczne osiągnięcia. Będą jednak one poważnie utrudnione, dopóki trwać będzie, choć nie artykułowany jasno, to jednak wyraźny spór pomiędzy praktykami a teoretykami. Zgódźmy się, że inne zadania stawia przed badaczami ekotoksykologia stosowana, inne zaś ekotoksykologia jako dziedzina badań podstawowych. Pomagajmy w rozwiązywaniu problemów „inżynierii środowiska” najlepiej jak umiemy, nie zapominając równocześnie, że ekotoksykologia, choćby z samej nazwy, jest dziedziną ekologii. Skoro zaś tak, to musi opierać się na solidnych ekologicznych podstawach. W kręgu zainteresowania

ekotoksykologów winny zatem znajdować się takie działy i zagadnienia, jak ekologia populacyjna (wpływ substancji toksycznych na dynamikę populacji, także poprzez plastyczność cech historii życia organizmów), ekologia ewolucyjna (powstawanie odporności na substancje toksyczne i jej skutki dla dostosowania), czy wreszcie ekologia ekosystemowa (transfer substancji toksycznych w sieciach troficznych, udział zanieczyszczeń w cyklach biogeochemicznych, etc.). Może wówczas unikniemy dziwacznych tytułów konferencji, jak „Ekotoksykologia: wymiary ekologiczne” i tytułów referatów w rodzaju „Dodawanie ekologii do toksykologii środowiskowej” (por. Laskowski 1995a).

Piśmiennictwo

- Bengtsson G., Gunnarson T., Rundgren S. 1983 – Growth changes caused by metal uptake in a population of *Onychiurus armatus* (Collembola) feeding on metal polluted fungi – *Oikos*, 40: 216–225.
- Calow P. (red.) 1993 – Handbook of ecotoxicology. 1 – Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Caswell H. 1989 – Matrix population models – Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- Cook S. C. A., Lefebvre C., McNeilly T. 1972 – Competition between metal tolerant and normal plant populations on normal soil – *Evolution*, 26: 366–372.
- CSS-Statistica 1991 – Nonlinear estimation – StatSoft, Tulsa, 423–462.
- Dzwonko Z. 1981 – Modelowanie wzrostu i dynamiki populacji za pomocą macierzy – *Wiad. Ekol.* 27: 263–274.
- Hopkin S. P. 1993 – Ecological implications of '95% protection levels' for metals in soil – *Oikos*, 66: 137–141.
- Hunter B. A., Johnson M. S. 1982 – Food chain relationships of copper and cadmium in contaminated grassland ecosystems – *Oikos*, 38: 108–117.
- Kammenga J. E. 1995 – Phenotypic plasticity and fitness consequences in nematodes exposed to toxicants – Thesis Lanbouwniversiteit Wageningen.
- Kammenga J. E., Korthals G. W., Bongers A. M. T., Bakker J. 1996 – Reaction norms for life-history traits as the basis for the evaluation of critical effect levels of toxicants (W: Ecological principles for risk-assessment of contaminants in soil. Red. N. M. van Straalen, H. Løkke) – Chapman and Hall, w druku.
- Kula H., Heimbach U., Løkke H. (red.) 1995 – Progress report 1994 of SECOFASE, third technical report. Development, improvement and standardization of test systems for assessing sublethal effects of chemicals on fauna in the soil ecosystem – National Environmental Research Institute, Denmark, Silkeborg.
- Laskowski R. 1994 – [Recenzja] Calow P. (red.) 1993 – Handbook of ecotoxicology. 1 – *Wiad. Ekol.* 40: 154–155.
- Laskowski R. 1995a – Konferencja SETAC na temat „Ekotoksykologia: wymiary ekologiczne” (Sheffield, 12–14 IX 1994 r.) – *Wiad. Ekol.* 49: 69–71.
- Laskowski R. 1995b – Some good reasons to ban the NOEC, LOEC and related concepts in ecotoxicology – *Oikos*, 73: 140–144.
- Laskowski R. 1996 – Estimating fitness costs of pollution in iteroparous invertebrates (W: Ecological principles for risk-assessment of contaminants in soil. Red. N. M. van Straalen, H. Løkke) – Chapman and Hall, w druku.
- Løkke H. (red.) 1995 – Effects of pesticides on meso- and microfauna in soil – Ministry of Environment and Energy, Denmark, Danish Environmental Protection Agency, Copenhagen.

- Nirmalakhandan N., Speece R. E. 1988 – Structure-activity relationships: quantitative techniques for predicting the behavior of chemicals in the ecosystem – *Environ. Sci. Technol.* 22: 606–615.
- Sibly R., Calow P. 1989 – A life-cycle theory of responses to stress – *Biol. J. Linn. Soc.* 37: 101–116.
- Uchmański J. 1992 – *Klasyczna ekologia matematyczna* – PWN, Warszawa.
- Van Straalen N. M., Schobben J. H. M., de Goede R. G. M. 1989 – Population consequences of cadmium toxicity in soil microarthropods – *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 17: 190–204.
- Van Straalen N. M., van Gestel C. A. M. 1993a – *Ecotoxicological test methods using terrestrial arthropods* – Report nr. D93002. Department of Ecology and Ecotoxicology, Vrije Universiteit, Amsterdam.
- Van Straalen N. M., van Gestel C. A. M. 1993b – *Soil invertebrates and micro-organisms* (W: *Handbook of ecotoxicology*. 1. Red. P. Calow) – Blackwell Scientific Publications, Oxford, 251–277.
- Wiles J., Kammenga J. E., Løkke H. (red.) 1994 – Progress report 1993 of SECOFASE, second technical report. Development, improvement and standardization of test systems for assessing sublethal effects of chemicals on fauna in the soil ecosystem – National Environmental Research Institute, Denmark, Silkeborg.

Summary

The crucial task for ecotoxicologists nowadays seems to define precisely the subject of ecotoxicological studies and develop appropriate methodology. I am convinced that one of the main reasons for which this has not been accomplished yet, is a significant difference in goals and methods between applied and pure ecotoxicology. A clear distinction between these two approaches is indispensable to avoid further unproductive disputes about tasks and ways to achieve them. The main task of applied ecotoxicology is to supply decision makers with standard ecotoxicological tests, allowing at least rough but easy prediction of undesirable effects of anthropogenic chemicals on natural environments. Such tests should use small number of „standard“ species, and only those characteristics of their life histories should be measured which have significant impact on fitness. The results of such standard tests should be further used in legislative procedures for setting allowable limits for concentrations of particular substances in the environment, e.g. as proposed by van Straalen and van Gestel (1993b; Fig. 1). Unfortunately, the present methods of data analysis are definitely not satisfying and can lead to absurd results (*cf.* Hopkin 1993).

The pure ecotoxicology should be based on strong ecological background: evolutionary, population and ecosystem ecology. The most promising research directions comprise studies on effects of stressing factors on life histories and importance of phenotypic plasticity for fitness (*cf.* Sibly and Calow 1989), analysis of sensitivity of particular life history characteristics to toxic substances (Kammenga 1995, Kammenga *et al.* 1996), and transfer of toxicants in ecosystems. The false measures of toxicity, such as, e.g., NOEC or LOEC, should be replaced with methods of data analysis which are reasonable both from biological and statistical points of view. Among those currently used, the newest techniques of dose-response analysis (*cf.* Løkke 1995; Fig. 2) and matrix algebra (van Straalen *et al.* 1989, Laskowski 1996) should be broadly implemented.