

RAPORT Z BADAŃ

Zastosowanie preparatu SinStop w ograniczaniu zakwitów glonów, w tym złotych alg i sinic w Kanale Gliwickim

(12.06.2024 – 13.08.2024)

Badania realizowane przez Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej – Państwowy Instytut Badawczy oraz przedsiębiorstwo Ecco-Logic sp. z o.o., we współpracy z Państwowym Gospodarstwem Wodnym Wody Polskie

ZESPÓŁ BADAWCZY:

prof. dr hab. Robert Czerniawski (IMGW-PIB, Uniwersytet Szczeciński), prof. dr hab. inż. Małgorzata Kacprzak (Politechnika Warszawska), dr hab. inż. Bogdan Wziątek (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie), dr Dariusz Włoka (GreenBack sp. z o.o.), dr inż. Michał Łopata (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie), Krzysztof Gliński (prezes zarządu spółki Ecco-Logic), mgr inż. Łukasz Bryl (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu), dr hab. Łukasz Sługocki (Uniwersytet Szczeciński), dr Justyna Kobos (Uniwersytet Gdański), laborant Agata Glińska (Ecco Logic), dr inż. Urszula Dmitruk (IMGW- PIB), mgr Weronika Głęb (IMGW- PIB), dr inż. Agnieszka Jancewicz (IMGW- PIB), inż. Michał Mierzejewski (IMGW- PIB), Marianna Narkiewicz (IMGW- PIB), dr Urszula Stawiecka (IMGW- PIB), dr hab. Paweł Wilk, prof. IMGW (IMGW- PIB), dr hab. Paulina Orlińska-Woźniak, prof. IMGW (IMGW- PIB).

Spis treści

1. Cel badań	3
2. Zakres badań	3
3. Uzasadnienie prowadzonych badań	3
4. Opis prac badawczych	4
4.1. Etap 1 – Badania w skali póltechnicznej.....	5
4.1.1. Wyniki badań – etap 1.	8
4.1.2. Podsumowanie wyników z etapu 1.	18
4.2. Etap 2 – Badania w skali operacyjnej.....	18
4.2.1. Metodologia – etap 2.....	19
4.2.2. Wyniki badań.....	25
4.2.3. Obserwacje ogólne i komentarz do przeprowadzonych badań	46
5. Podsumowanie i rekomendacje.....	47
6. Wykaz literatury	50
7. Lista załączników	51

1. Cel badań

Celem badań było opracowanie scenariuszy postępowania w ograniczaniu zakwitów glonów, w tym złotych alg (*Prymnesium parvum*) i sinic (Cyanobacteria) przy użyciu metody SinStop w Kanale Gliwickim w kontekście zapobiegania śnięć ryb. Realizowany cel odnosił się w szczególności do przetestowania strategii, opartej na aplikacji *in-situ* innowacyjnego, polskiego preparatu „SinStop”.

2. Zakres badań

Badania prowadzone były w dwóch etapach, obejmujących kolejno eksperyment w skali półtechnicznej (1 etap badań) oraz eksperyment w skali operacyjnej (2 etap badań). Celem przyjętego podziału prac było ograniczenie ewentualnego ryzyka środowiskowego, mogącego wystąpić na skutek nieprzewidywanych efektów stosowania metody. Dodatkowo przeprowadzenie procedury badawczej w systemie skalowalnym pozwoliło na zwiększenie rzetelności wykonywanych badań, poprzez możliwość prowadzenia obserwacji na różnych stopniach oddziaływania testowanej metody na środowisko wodne.

W pierwszym etapie eksperymentu przeprowadzono ocenę różnych wariantów technologicznych metody w izolowanym środowisku półtechnicznym (zbiorniki o pojemności 1000 l). Poprzez wariant technologiczny rozumiane jest zastosowanie preparatu w jednej z dostępnych form przy zdefiniowanym harmonogramie dawkowania. Działanie to skierowane zostało na optymalizację metody w kierunku wyłonienia najefektywniejszej procedury. Rezultaty uzyskane z tego etapu prac wykorzystane zostały jako rekomendacja do wykonania badań i wyboru najefektywniejszego wariantu w skali operacyjnej (drugi etap).

Drugi etap eksperymentu przeprowadzony został w kontrolowanych warunkach operacyjnych w komorach śluzu usytuowanej na Kanale Gliwickim. Prace wykonane w tym środowisku pozwoliły na dokonanie oceny oddziaływania badanego procesu na ekosystem wodny, w tym na ocenę ewentualnych oddziaływań metody na fitoplankton, zooplankton, mięczaki wodne i ryby. Jednocześnie etap ten pozwolił na zbadanie efektywności działania wariantu technologii „SinStop” w skali mogącej znaleźć przełożenie na stosowanie operacyjne na obiektach o dużej powierzchni. Szczegółowy opis przeprowadzonych badań wraz z wskazaniem harmonogramu wykonywanych działań zawarty został w dalszej sekcji raportu.

3. Uzasadnienie prowadzonych badań

Zjawisko śnięcia ryb w rzekach i zbiornikach wodnych stało się w ostatnich latach ogromnym problemem środowiskowym i społecznym. Badania prowadzone od 2022 roku przez liczne grupy naukowców i organizacje rządowych wykazały, że zanieczyszczenia wody i zrzut wód pokopalnianych w zmieniających się warunkach klimatycznych doprowadziły do intensywnego rozwoju słonolubnego glonu *Prymnesium parvum* zwanego Żółtą algą [Sobieraj i Metelski, 2023]. Specyficzny metabolizm tego gatunku, objawiający się produkcją silnej toksyny - prymnezyny, przy dużych zakwitach prowadzi do masowego śnięcia ryb, co widoczne było w wielu zbiornikach wodnych [Varga i in. 2024; Wagstaff i in. 2021]. Wskazany problem środowiskowy stanowił przesłankę do inicjacji prac badawczych będących przedmiotem

niniejszego raportu. Wybór testowanej metody oparty został natomiast na raportach i rekomendacjach wydanych między innymi przez Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Dział Badań i Rozwoju przedsiębiorstwa GreenBack sp. z o.o. oraz dr hab. Bogdana Wziątka (dokumenty stanowią załącznik do raportu). Informacje zawarte w wymienionych dokumentach zaprezentowane zostały w marcu 2024 r. podczas posiedzenia Senackiego Zespołu ds. Innowacji w Gospodarce, uzyskując pozytywny odbiór środowiska branżowego.

4. Opis prac badawczych

Badania podzielono na dwa etapy. Oba prowadzone były w obrębie śluz Kanału Gliwickiego, przy czym etap 1 realizowany był w obrębie śluzy „Sławięcice”, etap 2 natomiast na śluzie „Rudziniec”. Wybór indywidualnej lokalizacji badań był następstwem wstępnej oceny warunków technicznych dostępnych na obiekcie oraz badaniami fizycznymi, chemicznymi i biologicznymi parametrów wody. W celu uzyskania mierzalnego efektu stosowania badanej metody, konieczny był wybór okresu występowania istniejącego lub rozwijającego się zakwitu *P. parvum*. Okres realizacji doświadczenia mieścił się w zakresie między 1 czerwca 2024 r. a 23 sierpnia 2024 r. Szczegółowy harmonogram prac przedstawiony został w tabeli 1. Zdjęcia lokalizacji eksperymentów umieszczono na rycinie 1.

Tabela 1. Harmonogram prac badawczych

ETAP 1 – Badania w skali półtechnicznej		
L.p.	Data (zakres)	Opis działania
1	1-13.06. 2024	Założenie stanowiska badawczego
2	13.06.2024	Zalanie zbiorników testowych
3	18.06.2024	Pobór próbek zerowych
4	18.06.2024	Rozpoczęcie eksperymentu (pierwsza aplikacja preparatu)
5	18.06.2024 do 25.06.2024	Realizacja eksperymentu (dawkowanie preparatu zgodnie z planem oraz cykliczny pobór prób do analiz)
6	18.06.2024 do 10.07.2024	Realizacja badań laboratoryjnych i opracowanie wyników
7	10.07.2024	Likwidacja stanowiska badawczego
ETAP 2 – Badania w skali operacyjnej		
L.p.	Data (zakres)	Opis działania
1	10.07.2024 - 07.08.2024	Monitoring parametrów wody w celu wybrania terminu badań
2	07.08.2024	Przygotowanie śluzy do badań
3	07.08.2024	Zalanie śluzy badawczej i kontrolnej
4	07.08.2024	Pobór próbek zerowych
5	07.08.2024	Rozpoczęcie eksperymentu (pierwsze dawkowanie preparatu)
6	07.08.2024 - 12.08.2024	Realizacja eksperymentu (dawkowanie preparatu zgodnie z planem oraz cykliczny pobór prób do analiz)
7	07.08.2024 - 12.08.2024	Równoczesna realizacja badań ichtiologicznych
8	03.09.2024	Zakończenie eksperymentu i opracowanie wyników
9	13.08.2024; 15.08.2024	Aplikacja preparatu na próbce kontrolnej (neutralizacja zakwitu w drugiej komorze śluzy będącej dotychczas kontrolą)



Rycina 1. Fotografie przedstawiające stanowiska badawcze: Fot. A – etap 1 śluza Sławęcice; Fot. B – 2 etap, śluza Rudziniec.

4.1. Etap 1 – Badania w skali półtechnicznej.

Badania w skali półtechnicznej obejmowały prace prowadzone w obrębie śluzy Sławęcice. Wykonane zostały one w okresie między 01.06.2024 r. a 10.07.2024 r. Polegały na przygotowaniu 22 zbiorników o pojemności 1000 dm³ każdy. Zbiorniki umiejscowione zostały na obiekcie śluzy w celu uzyskania jak najwierniejszej symulacji warunków środowiskowych. Następnie, do zbiorników wprowadzono ilościowo wodę pobraną bezpośrednio z Kanału Gliwickiego. Skutkiem wskazanego działania było doprowadzenie do częściowego zanurzenia zbiorników w kanale. Fotografie stanowiska badawczego przedstawiono na rycinie 2. W następnej fazie prac do zbiorników aplikowane były różne warianty technologiczne metody SinStop, zgodnie ze schematem przedstawionym w tabeli 2A (opis prób) oraz 2B (schemat dawkowania). Różnicą między poszczególnymi wariantami była przede wszystkim forma aplikowanego środka oraz termin i dawka w jakiej został on zaaplikowany. Zdjęcie przygotowanego stanowiska zaprezentowane zostało na rycinie 2.



Rycina 2. Zdjęcie stanowiska badawczego – śluza Sławęcice.

Zastosowanie wielu wariantów technologicznych, uwzględniających testowanie zróżnicowanych form preparatu, podczas pierwszego etapie badań, skierowane zostało na

uzyskanie szerokiego zakresu informacji dotyczących działania metody w różnych scenariuszach operacyjnych. Do eksperymentu użyto 4 form preparatu SinStop, różniących się właściwościami użytkowymi. Lista badanych wariantów przedstawiona została poniżej:

- SinStop-2 (Si-2) – Podstawowy wariant preparatu,
- SinStop-A (Si-A) – Wariant preparatu o poprawionych właściwościach chemicznych,
- SinStop-B (Si-B) – Wariant preparatu przyspieszający sedymentację,
- SinStop-N (Si-N) – Wariant preparatu o podniesionych właściwościach fizycznych.

Testowane preparaty aplikowane były powierzchniowo, zgodnie ze schematem dawkowania zawartym w tabeli 2 (Każde wymienienie wariantu preparatu oznacza jednorazową aplikację).

Tabela 2a. Schemat 1 etapu eksperymentu. Wyjaśnienie skrótów: Si-2 – podstawowy wariant preparatu; Si-A – wariant preparatu o podniesionych właściwościach chemicznych; Si-N – wariant preparatu o zwiększonych właściwościach fizycznych; Si-B – Wariant preparatu przyspieszający sedymentację; ODP - odpompowanie osadu dennego po procesie.

Nr pr.	Opis próby	Komentarz	
1	Kontrola 1	Próby kontrolne – woda z Kanału Gliwickiego bez dodatkowej ingerencji	
2	Kontrola 2		
3	Si-2 + Si-2 + Si-B	Próby badane w pełnej konfiguracji technologicznej. Metoda zakładająca aplikację podstawowej wersji preparatu w 3 wariantach (Si-2, Si-A oraz Si-N) przy zastosowaniu opcjonalnego czynnika sedymentacyjnego (Si-B – wariant preparatu przyspieszający opadanie podstawowej formy SinStop).	
4	Si-2 + Si-2 + Si-B		
5	Si-N + Si-2 + Si-B		
6	Si-N + Si-2 + Si-B		
7	Si-A + Si-2 + Si-B		
8	Si-A + Si-2 + Si-B		
9	Si-2 + Si-2 + Si-B + Si-2		
10	Si-2 + Si-2 + Si-B + Si-2		
11	Si-N + Si-2 + Si-B + Si-2		
12	Si-N + Si-2 + Si-B + Si-2		
13	Si-A + Si-2 + Si-B + Si-2		
14	Si-A + Si-2 + Si-B + Si-2		
15	Si-2 + Si-2 (ODP)		Próby pomocnicze skierowane na przetestowanie różnych wariantów dawkowania preparatu.
16	Si-2 + Si-2 + Si-B (ODP)		
17	Si-N + Si-2 + Si-B (ODP)		
18	Si-2 + Si-A + Si-B (ODP)		
19	Si-N + Si-2		
20	Si-N + Si-B + 2x Si-2		
21	Si-2 x4 + Si-B		
22	Si-2 (duża dawka) + Si-B		

Tabela 2b. Schemat dawkowania preparatu, realizowany w trakcie 1 etapu eksperymentu.

Nr. próby	Dzień procesu								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 Kontrola	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 Kontrola	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Si-2 /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	-	-	-	-
4	Si-2 /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	-	-	-	-
5	Si-N /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	-	-	-	-
6	Si-n /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	-	-	-	-
7	Si-A /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	-	-	-	-
8	Si-A /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	-	-	-	-
9	Si-2 /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	Si-2 /600g	-	-	-
10	Si-2 /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	Si-2 /600g	-	-	-
11	Si-N /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	Si-2 /600g	-	-	-
12	Si-N /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	Si-2 /600g	-	-	-
13	Si-A /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	Si-2 /600g	-	-	-
14	Si-A /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	Si-2 /600g	-	-	-
15	Si-2 /600g	-	Si-2 /600g	-	-	odpompowanie	-	-	-
16	Si-2 /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	odpompowanie	-	-	-
17	Si-N /600g	-	Si-2 /600g	-	Si-B /50g	odpompowanie	-	-	-
18	Si- 2/600g	-	Si-A /600g	-	Si-B /50g	Odpompowanie	-	-	-
19	Si-N /600g	-	Si-2 /600g	-	-	-	-	-	-
20	Si-N /600g	-	Si-B /50g	Si-2 /400g	-	Si-2 /200	-	-	-
21	Si-2 /600g	-	Si-2 /200g	-	Si-2 /200g	-	Si-2 /200g	-	Si-B /50g
22	Si-2 /1000g	-	-	-	Si-B /50g	-	-	-	-

Podczas 1 etapu eksperymentu mierzona była przede wszystkim dynamika zmian fizycznych i chemicznych parametrów wody z wykorzystaniem sondy wieloparametrycznej. Do badań wykorzystano sondę multiparametryczną EXO2 producenta YSI Incorporated (USA). Jest to urządzenie złożone z rejestratora danych, kabla przesyłowego i głowicy wieloparametrowej

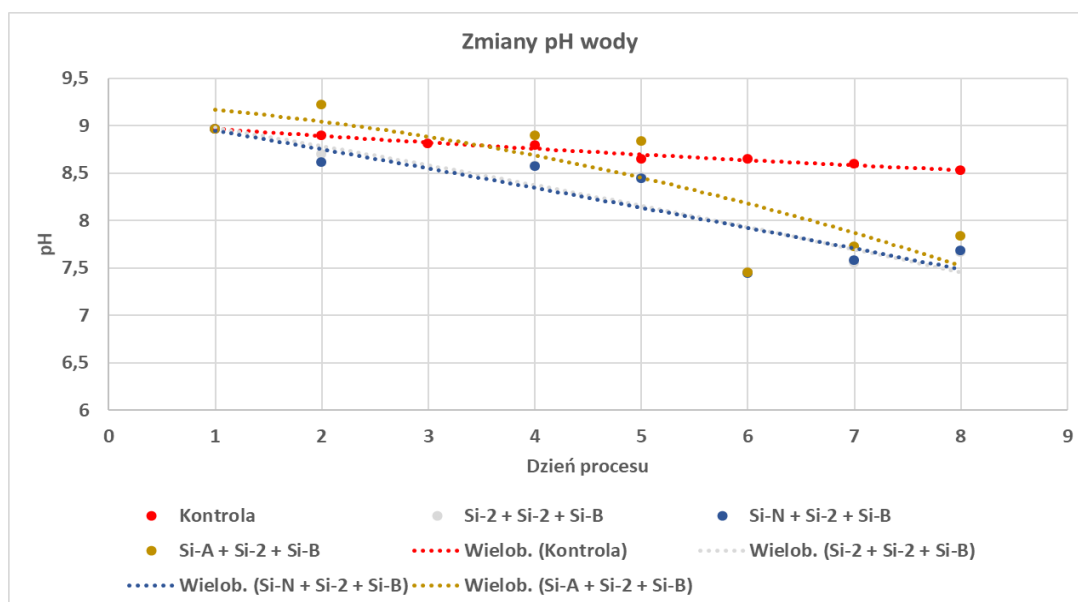
z możliwością wpinania i demontażu wybranych sensorów. Na potrzeby eksperymentu użyto sondy wyposażonej w następujące sensory:

- Sensor temperatury [°C] i przewodności elektrolitycznej [$\mu\text{S}/\text{cm}$]
- Sensor odczynu i potencjału redoks [pH, mV]
- Sensor mętności [FNU]
- Sensor chlorofilu „a” i fikocyjaniny [mg/m^3]
- Sensor rozpuszczonej materii organicznej fDOM [RFU]

Na tym etapie prac mierzono również dynamikę zmian populacji *P. parvum* w poszczególnych zbiornikach. Oznaczanie liczebności w tym przypadku realizowane było w laboratorium prof. dr hab. inż. Małgorzaty Kacprzak (Politechnika Warszawska), techniką mikroskopową z wykorzystaniem hemocytometru (komory Thoma) pod mikroskopem PrimoStar 3 Carl Zeiss wyposażonym w obiektyw iPlan-Achromat 40 \times . Metoda poparta została opracowaniem literaturowym autorstwa Pastorino i in. [2021].

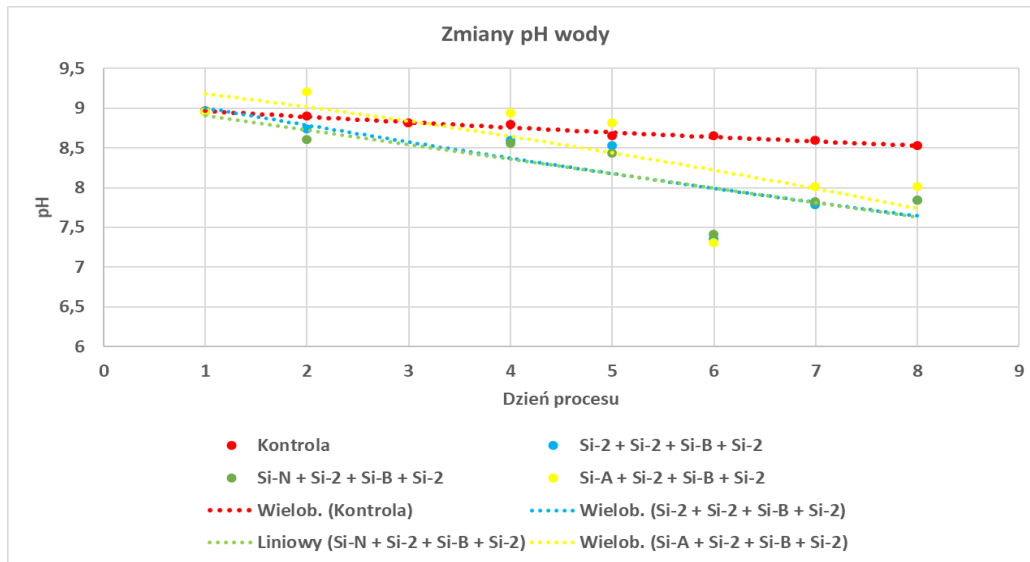
4.1.1. Wyniki badań – etap 1.

Wyniki prac badawczych, uzyskane w trakcie realizacji 1 etapu eksperymentu przedstawione zostały na wykresach: ryciny 3-16. Z uwagi na duży zakres pozyskanych danych, wykresy odnoszące się do poszczególnych parametrów przedstawione zostały w parach: ryc. 3, 4 (zmiany pH); ryc. 5, 6 (zmiany mętności wody); ryc. 7, 8 (zmiany koncentracji chlorofilu „a” w wodzie); ryc. 9, 10 (zmiany stężenia fikocyjaniny w wodzie); ryc. 11, 12 (zmiany zawartości rozpuszczalnej materii organicznej w wodzie); ryc. 13, 14 (zmiany przewodności wody SPC). Wszystkie przedstawione wykresy dotyczą wariantów technologicznych 1-14. Zbiorniki 15-22 pełniły rolę pomocniczą do weryfikacji zastosowanej procedury.



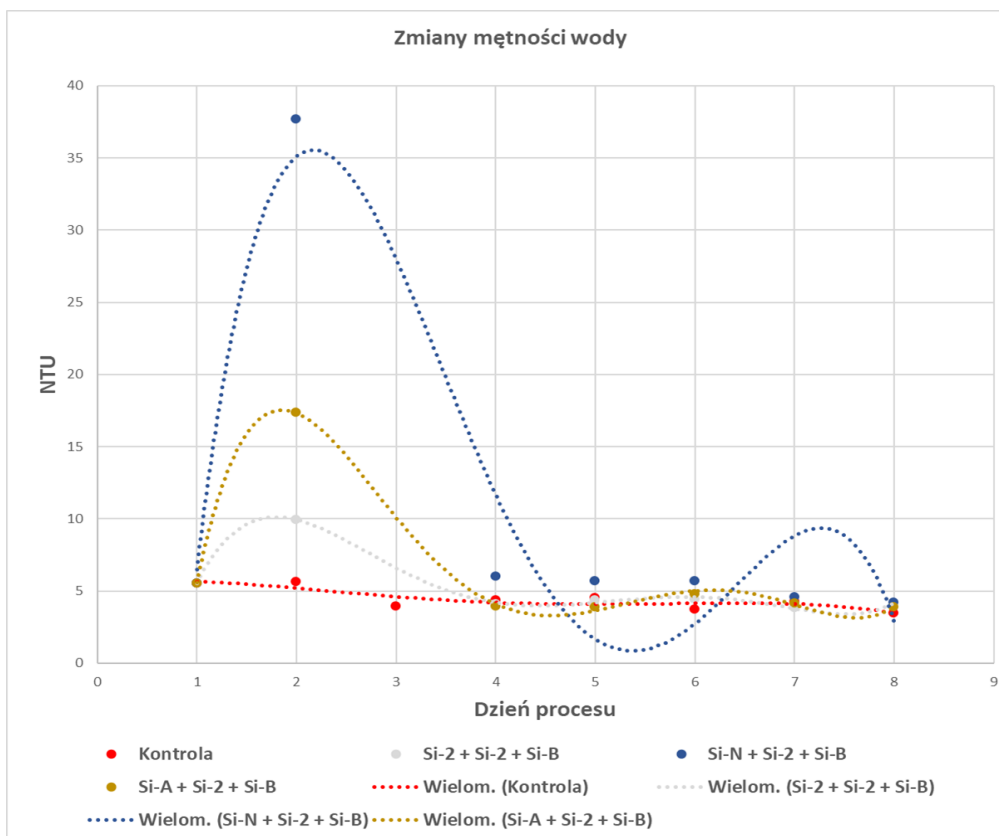
Rycina 3. Zmiany odczynu wody (pH) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawek różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.

Wykres przedstawiony na rycinie 3 obrazuje zmiany pH zachodzące w poszczególnych próbach badanych, w odniesieniu do próby kontrolnej (czerwona linia trendu). Wyniki pomiarów, wyraźnie pokazują utrzymywanie się stabilnie wysokiego odczynu wody w próbie kontrolnej oraz spadek wartości tego parametru we wszystkich próbach badanych, w których został zastosowany preparat SinStop. Należy również zwrócić uwagę na próbę z zastosowaniem odmiany Si-A, która spowodowała krótkotrwały wzrost pH. Była to jednak spodziewana reakcja z uwagi na zastosowanie wariantu o podniesionych właściwościach chemicznych.

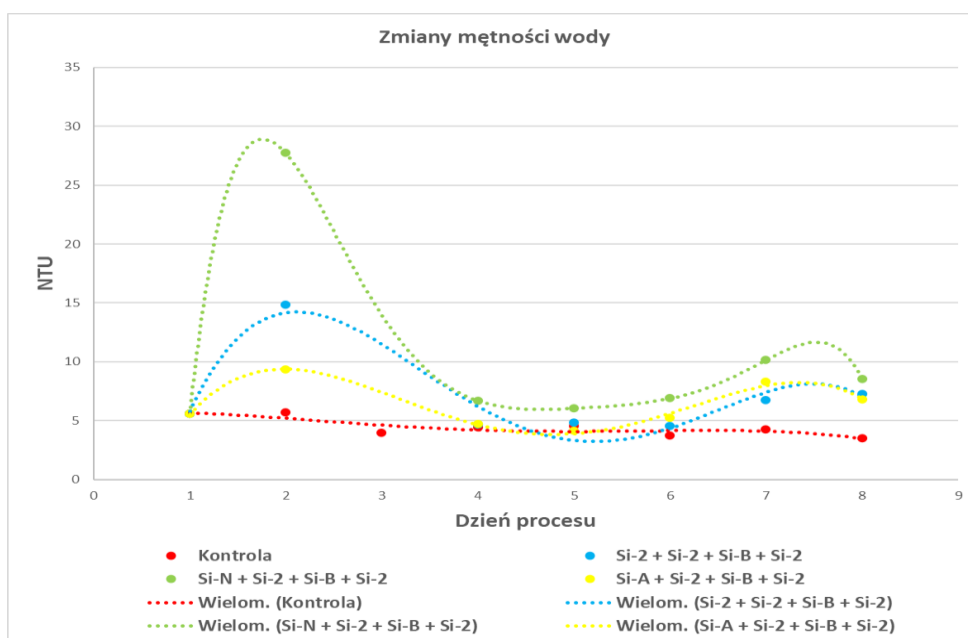


Rycina 4. Zmiany odczynu wody (pH) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawkowania różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.

Każda z prób badanych, również w wariantach zobrazowanych na rycinie 4 wykazuje tendencję spadku wartości pH do pożądanego poziomu (wartości zbliżające się do neutralnego odczynu). Wysokie wskazania omawianego parametru najczęściej są skorelowane z zakwitami fitoplanktonowymi. Obniżenie wartości pH uważać można zatem za czynnik sprzyjający ograniczaniu rozwoju glonów, w tym złotych alg. Jednocześnie, zjawisko o takim charakterze prowadzi często do stymulacji prawidłowego rozwoju ekosystemu wodnego oraz może redukować szkodliwy wpływ toksyn, takich jak prymnezyiny [Prost 1980, Mazur-Marzec i in. 2023].



Rycina 5. Zmiany mętności wody (NTU) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawkowania różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.



Rycina 6. Zmiany mętności wody (NTU) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawkowania różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.

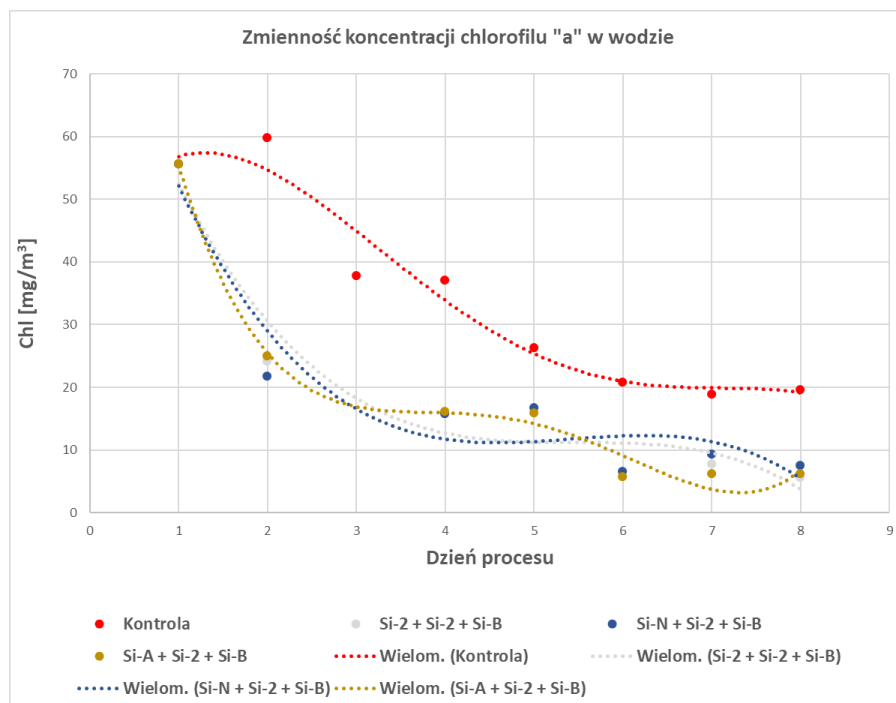
Kolejny zestaw danych - rycina 5 i 6 dotyczy zmienności mętności wody (NTU), zachodzącej pod wpływem stosowania preparatów SinStop. Zasadniczo wskaźnik NTU (od ang. nephelometric turbidity unit) – nefelometryczna jednostka mętności, określa mętność roztworu na podstawie analizy efektu Tyndalla.

Mętność wody w doświadczeniu jest parametrem obrazującym dwie zmienne.

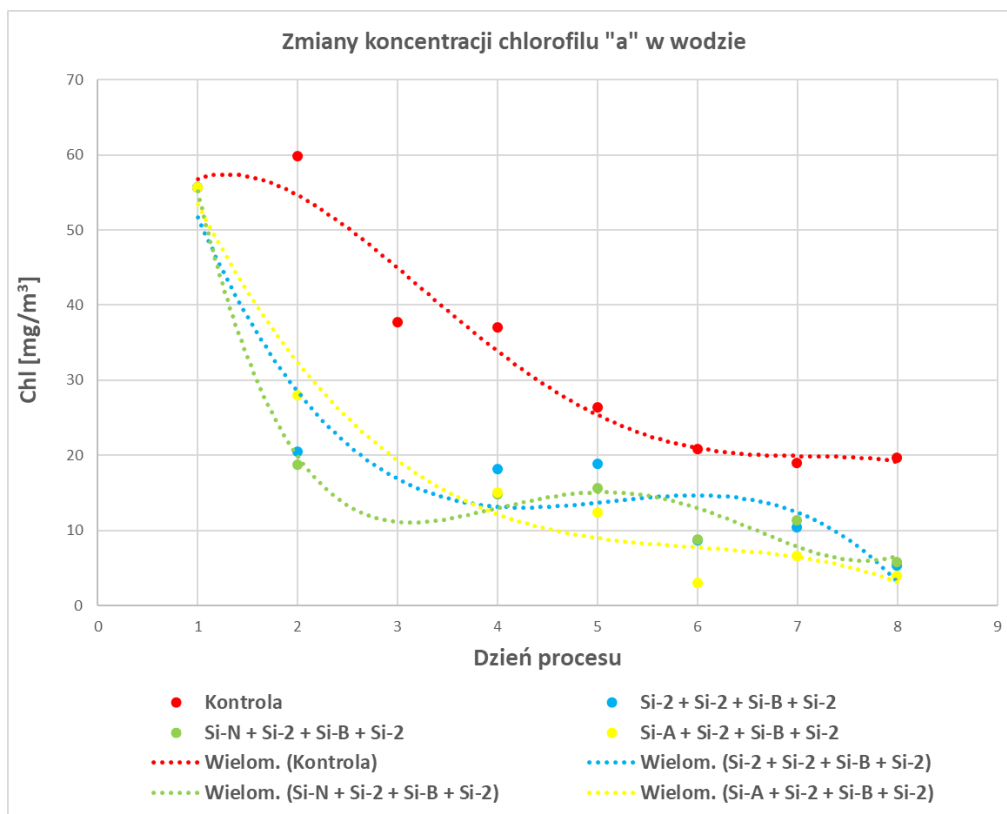
- Pierwsza - mętność wskazująca naturalny stan wody. Na ten parametr może wpływać zarówno zakwit jak i silne opady.
- Druga - zmętnienie okresowe, powstałe po podaniu preparatu SinStop. Dzięki temu parametrowi możliwa jest obserwacja zachowania preparatu w wodzie podczas sedymentacji. Na jego podstawie pośrednio można także określić czas pracy preparatu w toni.

Pomiary wszystkich parametrów w doświadczeniu były wykonywane każdorazowo przed podaniem kolejnej dawki SinStop. Podejście to zapewniło ochronę przed ewentualną nadmierną ingerencją świeżo podanej dawki w rzetelność prowadzonego badania.

W oparciu o uzyskane dane zauważyć można, że aplikacja poszczególnych dawek preparatu miała wpływ na wzrost mętności wody. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że bez względu na podanie kolejnej dawki, mierzone wartości stale ulegały zmniejszeniu. Wyjątek od wskazanego trendu wystąpił jedynie przy próbkach, wskazanych na ryc. 6. W tym przypadku zauważalna jest lekka zmiana linii trendu, co było spowodowane podaniem czwartej dawki preparatu. Wzrost ten był jednak marginalny.



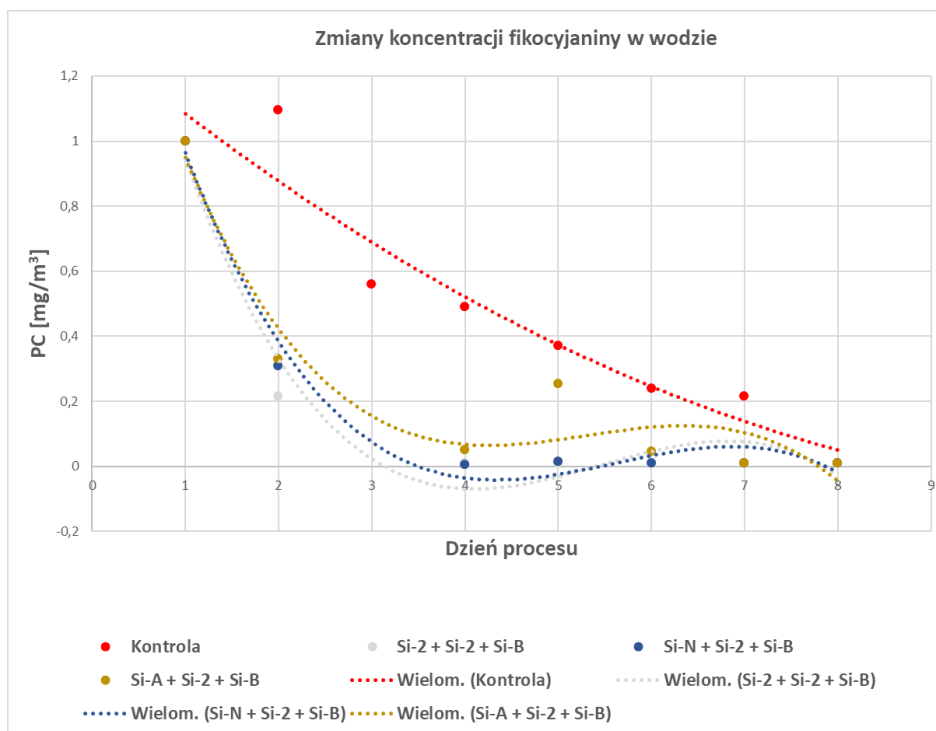
Rycina 7. Zmiany koncentracji chlorofilu „a” w wodzie (mg/m³) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawkowania różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.



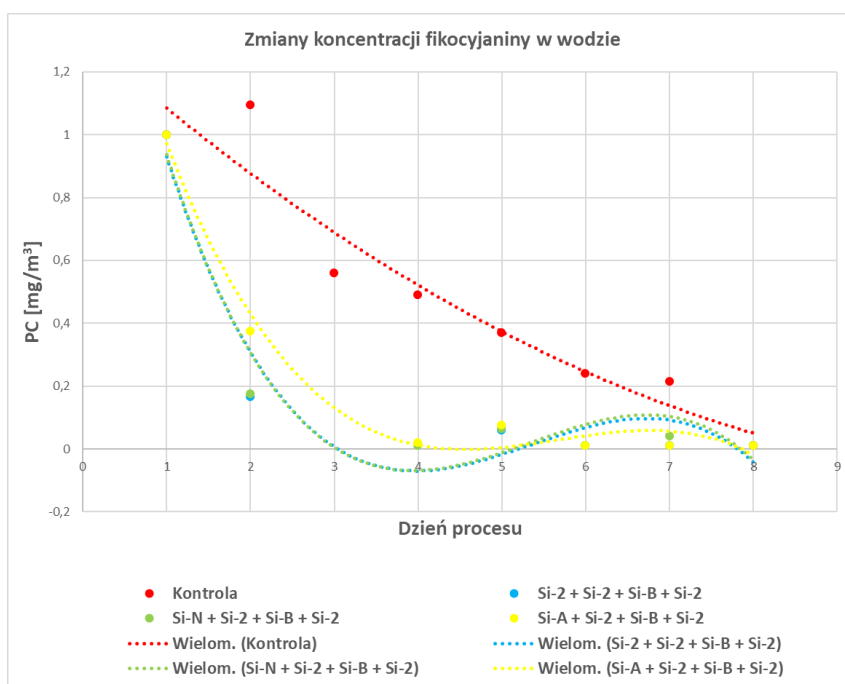
Rycina 8. Zmiany koncentracji chlorofilu „a” w wodzie (mg/m^3) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawkowania różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.

Chlorofile stanowią grupę organicznych związków chemicznych obecnych między innymi w roślinach, glonach i bakteriiach fotosyntetyzujących (np. w sinicach). Nadają one częściom roślin (głównie liściom) charakterystyczny zielony kolor. Obecność substancji z tej grupy w wodzie uważana jest za wskaźnik zakwitu. Wiąże się to bezpośrednio z faktem, iż duża część organizmów odpowiadających za powstawanie zakwitu, zdolna jest do aktywnej realizacji procesów fotosyntezy. Dlatego też zmienność koncentracji chlorofilu „a” może dostarczać informację o rozwoju zakwitu w danym środowisku [Busari i in. 2024]. Dane doświadczalne, zaprezentowane na rycinach 7 i 8, pokazują jednoznacznie, że we wszystkich próbach z zastosowanym preparatem SinStop, nastąpił znaczący spadek koncentracji chlorofilu „a” w wodzie. Redukcja przebiegła z poziomu 55 do 3 mg/m^3

Uzyskany efekt potwierdza dane pochodzące z poprzednich raportów z badań, dostarczonych przez firmę Ecco Logic (zał. 1 i 2). W ich obrębie również notowano spadki wartości omawianego parametru, zachodzące pod wpływem aplikacji preparatu SinStop. Podczas prowadzonego eksperymentu, każdy przetestowany wariant technologii SinStop prowadził do redukcji poziomu koncentracji chlorofilu „a” w wodzie.



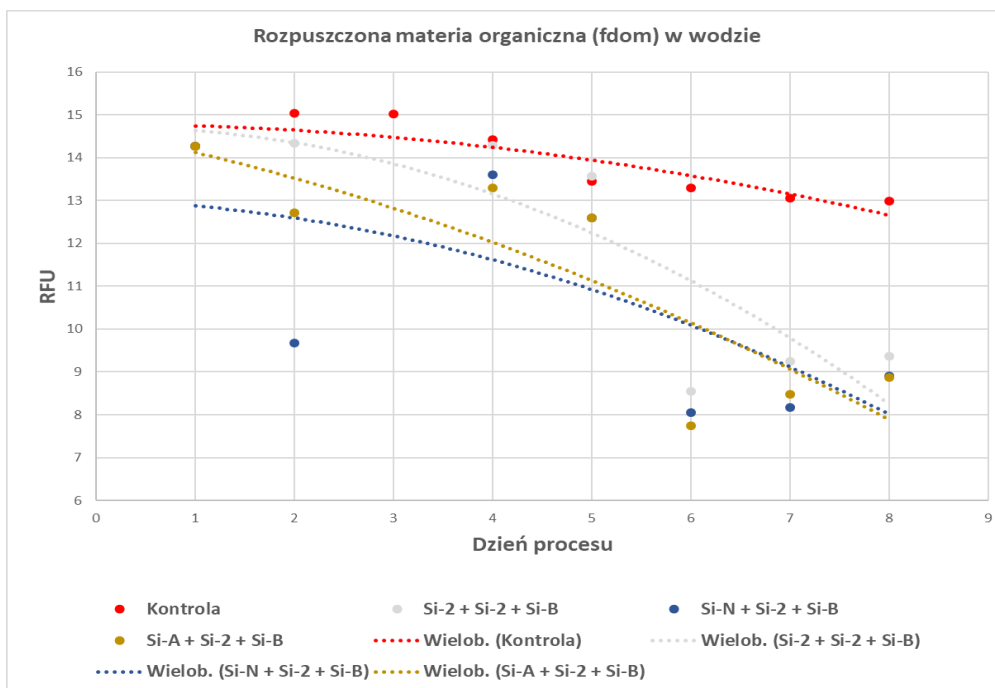
Rycina 9. Zmienność zawartości fikocyjaniny (PC) w wodzie (mg/m^3) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawek różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.



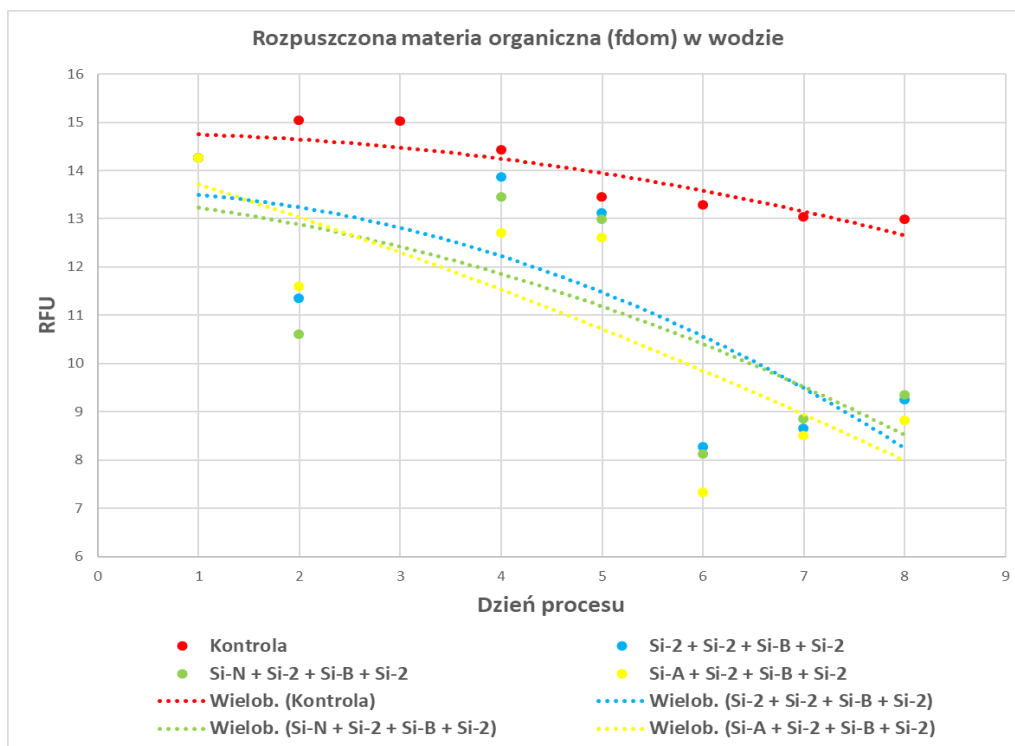
Rycina 10. Zmienność zawartości fikocyjaniny (PC) w wodzie (mg/m^3) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawek różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.

Dane informujące o zmienności koncentracji fikocyjaniny w wodzie, zobrazowane zostały na rycinach 9 i 10. Wykazują one bardzo zbliżony trend do wyników opisujących zmienność koncentracji chlorofilu „a” w wodzie. Fikocyjanina to niebieski barwnik, występujący u krasnorostów, kryptofitów i sinic. Jej obecność w analizowanych próbach, może być uważana zatem za pośredni wskaźnik obecności organizmów z tych grup w toni wodnej [Wang i in. 2022]. Mając na uwadze wskazane powyżej wiadomości, wnioskować można, że wszystkie omawiane dotychczas wykresy (ryc. 7-10), dostarczają informacji pozwalającej na pośrednią identyfikację spadku zakwit. Nadmieniony efekt obserwowany jest przy niemal każdym testowanym wariantcie technologii SinStop.

Biorąc pod uwagę kontekst szybkości obniżania się monitorowanych parametrów, zauważyć można, że jeden z testowanych wariantów wyróżnia się na tle pozostałych. Jest nim wariant uwzględniający użycie preparatu w formie Si-N, jako części składowej metody rekultywacji. Próby zawierające ten wariant, każdorazowo są nieznacznie efektywniejsze lub na równi skuteczne z inną najlepszą próbą. Nie są to znaczące odchylenia, ale każdorazowo zauważalne.



Rycina 13. Zmiany w zakresie rozpuszczonej materii organicznej (fdom) w wodzie (RFU) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawkowania różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.

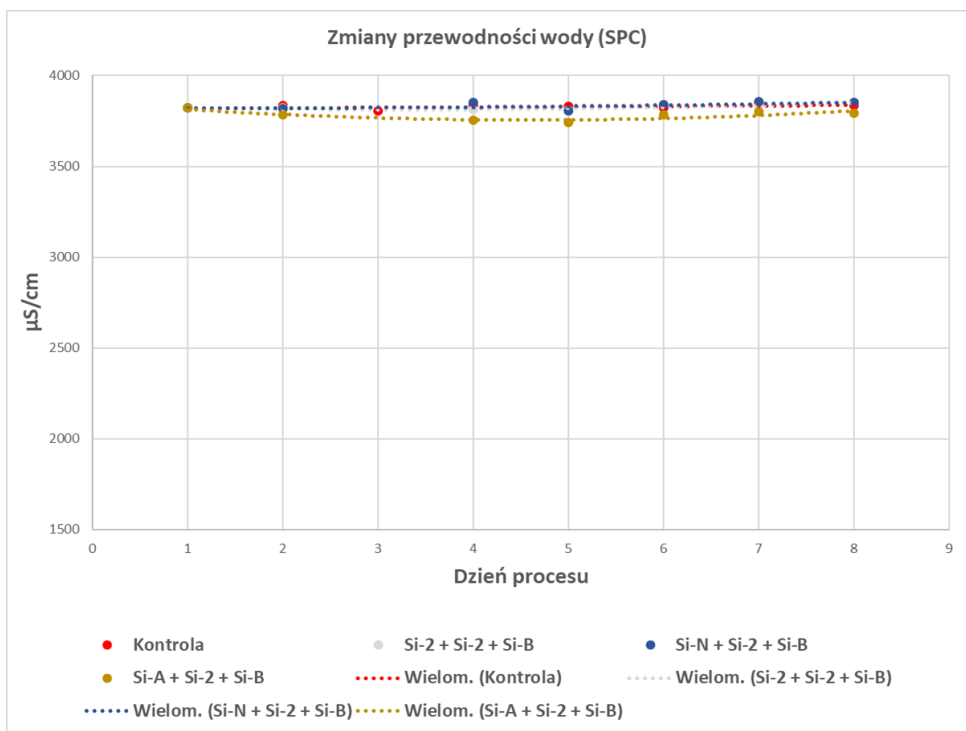


Rycina 14. Zmiany w zakresie rozpuszczonej materii organicznej (fDOM) w wodzie (RFU) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawkowania różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.

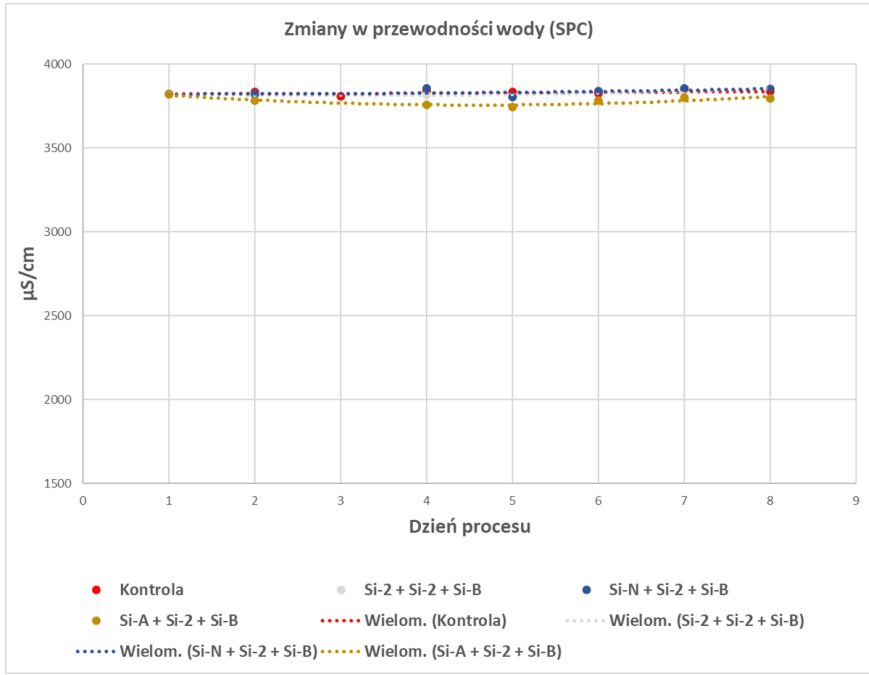
Ważnym parametrem, który podlegał ocenie w trakcie realizowanych prac była rozproszona materia organiczna (fDOM). Stanowi ona frakcję martwej substancji organicznej o wielkości cząstek poniżej 0,5 μm . W składzie zawierać może ładunek substancji o charakterze biogenicnym. Oznacza to w rezultacie, że wzrost koncentracji fDOM często wiąże się z zwiększeniem ryzyka powstania zjawiska eutrofizacji. Aktywne obniżanie tego parametru jest zatem jednym z ważniejszych czynników mogących przyczynić się do redukcji ryzyka występowania zakwitów wody [Wen i in. 2022].

Wyniki uzyskane w trakcie 2 etapu eksperymentu, pokazują, że redukcja koncentracji rozproszonej materii organicznej została osiągnięta we wszystkich badanych wariantach technologicznych. Efekt ten uzyskany został poprzez indukcję procesów sorpcji i sedymentacji, obecnych w wodzie związków organicznych. W rezultacie, doprowadziło to do strącenia materii organicznej z toni wody na dno zbiornika. Implikacją omawianego zjawiska był natomiast spadek ilości substancji pokarmowych w wodzie (potwierdzenie efektu przedstawione zostało w dalszej sekcji raportu).

Osiągnięte ograniczanie dostępności nadmiernych ilości substancji odżywczych w toni wodnej może prowadzić do inhibicji namnażania się fitoplanktonu odpowiadającego za eutrofizację. Ponadto, opisywany efekt ma pozytywny wpływ na zwiększenie klarowności wody, co w rezultacie prowadzić może do stymulacji wzrostu makrofitów i sekwestracji biogenów w tkankach roślin (aktywność uzyskiwana poprzez zwiększenie dostępności światła).



Rycina 15. Zmienność przewodności elektrolitycznej ($\mu\text{S}/\text{cm}$) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawki różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.



Rycina 16. Zmienność przewodności elektrolitycznej ($\mu\text{S}/\text{cm}$) po zastosowaniu proponowanych kombinacji dawki różnych typów preparatu SinStop w odniesieniu do zmian zachodzących w kontroli, w terminie od 18 – 25 czerwca 2024 r.

Kolejnym omawianym parametrem jest przewodność elektrolityczna wody. Parametr określający ilość jonów obecnych w wodzie. Często używany jest on jako pośredni wskaźnik zasolenia wody. Zmiany jakie nastąpiły w próbach badanych, po zastosowaniu preparatu SinStop, nie wykazały istotnych odchyłeń. Różnice wahały się w zakresie poniżej 1%, co pozwala stwierdzić, że oddziaływanie preparatu na zmianę przewodnictwa elektrolitycznego w środowisku, w którym został on zastosowany, są marginalne.

Ostatnie omawiany wynik dla etapu 1 dotyczy analizy liczebności komórek *P. parvum* w obrębie eksperymentu. Dane uzyskane z tej analizy przedstawione zostało w tabeli 3.

Tabela 3. Wyniki analiz liczebności komórek złotej algi (*P. parvum*). Wynik wyrażony w mln. komórek na litr wody.

Nr pr.	Opis	Przed procesem	Po procesie	Procentowa redukcja populacji
1	Kontrola	20	2	90
2	Kontrola	20	4	80
3	Si-2 + Si-2 + Si-B	20	0	100
4	Si-2 + Si-2 + Si-B	20	1	95
5	Si-N + Si-2 + Si-B	20	0	100
6	Si-N + Si-2 + Si-B	20	0	100
7	Si-A + Si-2 + Si-B	20	1	95
8	Si-A + Si-2 + Si-B	20	0	100
9	Si-2 + Si-2 + Si-B + Si-2	20	0	100
10	Si-2 + Si-2 + Si-B + Si-2	20	0	100
11	Si-N + Si-2 + Si-B + Si-2	20	0	100
12	Si-N + Si-2 + Si-B + Si-2	20	0	100
13	Si-A + Si-2 + Si-B + Si-2	20	0	100
14	Si-A + Si-2 + Si-B + Si-2	20	0	100

Wyniki przedstawione w powyższej tabeli wskazują na wyraźny spadek liczby komórek złotej algi we wszystkich zbiornikach testowych. Przyczyną zaistniałego stanu rzeczy może być dynamika rozwoju hodowli w warunkach izolowanych. Podczas gwałtownego przyrostu populacji inkubowanych organizmów dochodzi do jednoczesnego wyczerpywania substancji odżywczych w środowisku oraz indukcji międzygatunkowych procesów konkurencji o przestrzeń życiową.

Z prowadzonych badań, pomimo opisanego powyżej zjawiska, zaobserwować można, że 100% redukcji populacji złotej algi, notowane było w sposób powtarzalny przy próbach do których wprowadzano wariant SinStop o podniesionych właściwościach fizycznych – Si-N. W próbach kontrolnych natomiast dynamika spadku liczebności komórek była mniej intensywna niż w próbach do których aplikowano badane preparaty. Uzyskany wynik stanowi zatem narzędzie pomocnicze, wykorzystane podczas wyboru najkorzystniejszego wariantu technologii, który skierowany zostanie do drugiego etapu badań.

Dodatkowo, podczas liczenia komórek złotej algi techniką mikroskopową, w większości próbek do których aplikowane były warianty preparatu SinStop, nastąpił wzrost liczebności zooplanktonu. Trend ten szczególnie intensywnie wystąpił przy próbach z dodatkiem wariantu Si-N. Bezpośrednią implikacją uzyskanego wyniku było potwierdzenie, że wariant Si-N, wyróżnia się pozytywnie na tle pozostałych badanych form SinStop.

4.1.2. Podsumowanie wyników z etapu 1.

Celem pierwszego etapu doświadczenia było dokonanie obserwacji zastosowanej metody oraz w przypadku potwierdzenia jej skuteczności, wyłonienie optymalnej konfiguracji wariantów preparatu SinStop. Uzyskane dane, zastosowane zostały do zaprojektowania dalszych prac badawczych w warunkach operacyjnych na komorze śluzy Kanału Gliwickiego. Stanowiły one podstawę do wyboru rozwiązania, którego potencjalnie wdrożenie wykaże najniższy poziom ryzyka środowiskowego przy zapewnieniu możliwie najefektywniejszego działania. Wyniki obserwacji dostarczyły jednocześnie istotnych informacji dotyczących charakterystyki preparatu, jego właściwości oraz mechanizmu działania w środowisku sprzyjającym rozwojowi złotej algi.

Po przeanalizowaniu wyników, jednoznacznie wykazano pozytywne działanie preparatu SinStop na wszystkie kluczowe, mierzone parametry. Obserwowane zmiany, takie jak obniżenie pH z 9,3 do 7,8 oraz zmniejszenie stężenia chlorofilu „a”, fikocyjaniny i fDOM, były szczególnie pożądane w kontekście zagrożenia zakwitami wód. Kluczowym parametrem była jednak zdolność preparatu do redukcji liczebności oraz potencjału namnażania się *Prymnesium parvum*, przy jednoczesnej stymulacji rozwoju zooplanktonu. Te wyniki wskazują na wysoką skuteczność preparatu SinStop w zwalczaniu zakwitów złotej algi.

Wykresy porównawcze, przedstawiające wyniki poszczególnych doświadczeń, wykazały podobne trendy zmian we wszystkich komorach, w których zastosowano preparat SinStop. Najsilniejsze i najszybsze efekty zaobserwowano w próbach, w których w pierwszej kolejności stosowano wariant Si-N. Po podaniu drugiej dawki preparatu zmiany były mniej wyraźne.

Podsumowując pierwszy etap badań, zespół zarekomendował kontynuację eksperymentów z zastosowaniem modelu Si-N + Si-2 + Si-B w skali operacyjnej – rekultywacja komory śluzy na Kanale Gliwickim.

4.2. Etap 2 – Badania w skali operacyjnej.

Drugi etap eksperymentu przeprowadzony został w skali operacyjnej w śluzie Rudziniec. W tym celu jako stanowisko badawcze wybrano dwie odizolowane, równoległe komory śluzy. Obie komory przed eksperymentem opróżniono, przepłukano i ostatecznie zalano tą samą objętością wody, pochodzącą bezpośrednio z IV sekcji Kanału Gliwickiego. Pierwsza komora (komora kontrolna) stanowiła próbę kontrolną, która pozostawiona została bez ingerencji. W drugiej komorze (próba badana) zastosowano metodę SinStop w wariantach technologicznym wybranym w oparciu o wyniki badań z 1 etapu eksperymentu. Zastosowana metoda oparta została o zastosowanie dwóch wariantów preparatu: Si-2 oraz Si-N. Dodatkowo

w trakcie badania podjęto próbę przyspieszenia procesu sedymentacji w warunkach operacyjnych z wykorzystaniem wariantu Si-B. W eksperymencie zastosowano dawkowanie w ilości 400 g/m³ wody dla Si-N (pierwszy dzień procesu) oraz Si-2 (trzeci dzień procesu rano). Si-B zaaplikowane zostało natomiast wieczorem, tego samego dnia co Si-2 w dawce 50g/m³.

Komory zalane zostały 7 sierpnia 2024. Aplikacja preparatu do komory badawczej rozpoczęta została w tym samym dniu. Monitoring parametrów środowiskowych w obrębie eksperymentu prowadzono do 12 sierpnia 2024. Analizowane parametry obejmowały badanie zmian podstawowych parametrów fizyko-chemicznych wody, oznaczanie zmian koncentracji związków biogennych w wodzie (azot i fosfor), analizę stężenia toksyn z grupy prymnezyn w wodzie oraz rozszerzone badania ichtiologiczne. W trakcie eksperymentu badano również dynamikę rozwoju populacji złotej algi w komorach śluzu. Ważną częścią prowadzonych badań była także identyfikacja wpływu stosowanego procesu na fitoplankton, zooplankton, mięczaki i ryby. W tym celu przeprowadzone zostały badania obejmujące monitoring populacji zooplanktonu i innych organizmów wodnych w tym mięczaków i stawonogów.

Pełen wykaz zastosowanych technik analitycznych przedstawiony został w poniższych sekcjach niniejszego raportu.

4.2.1. Metodologia – etap 2.

Opis metodologii prowadzonych badań, z uwagi na duży zakres prowadzonych prac oraz rozpiętość zastosowanych technik analitycznych, podzielony został na indywidualne sekcje.

A) Oznaczenia fizycznych i chemicznych parametrów wody

Analizy podstawowych, fizycznych i chemicznych parametrów wody w tym: pH, nasycenie wody tlenem, przewodność, koncentracja chlorofilu „a” (Chl) oraz zawartość fikocyjaniny (PC), realizowane było metodą wykorzystującą wieloparametrową sondę. Do badań wykorzystano 2 urządzenia: sondę multiparametryczną EXO2 producenta YSI Incorporated (USA) oraz sondę Elmetron. Urządzenia składały się z rejestratora danych, kabla przesyłowego i głowicy wieloparametrowej z możliwością wpinania i demontażu wybranych sensorów. Na potrzeby eksperymentu użyto następującego zestawu sensorów:

- Sensor temperatury [°C] i przewodności elektrolitycznej [$\mu\text{S}/\text{cm}$]
- Sensor odczynu i potencjału redoks [pH, mV]
- Sensor nasycenia wody tlenem [DO %]
- Sensor chlorofilu „a” i fikocyjaniny [mg/m^3]

Analizy stężenia związków biogennych oraz oznaczania stężenia wapnia i żelaza w próbkach wody realizowane były przez akredytowaną jednostkę badawczą IMGW. Dokładny wykaz przeprowadzonych analiz wraz z wskazaniem metodyki postępowania zawarty został w poniższym opisie:

Azot amonowy, Azot azotanowy, Azot azotynowy

Azot amonowy oznaczany zgodnie z normą: PN-EN ISO 11732:2007 „Jakość wody - Oznaczenie azotu amonowego - Metoda analizy przepływowej (CFA i FIA) z detekcją spektrometryczną. Azot azotanowy, azot azotynowy oznaczony zgodnie z normą: PN-EN ISO 13395:2001 „Jakość wody - Oznaczenie azotu azotynowego i azotanowego oraz ich sumy metodą analizy przepływowej (CFA i FIA) z detekcją spektrometryczną. Technika analizy przepływowej z detekcją spektrofotometryczną polega na wstrzykiwaniu małej objętości próbki do poruszającego się strumienia cieczy (nośnika) i transport jej do detektora spektrofotometrycznego, gdzie w sposób ciągły rejestrowany jest sygnał proporcjonalny do stężenia analitu w próbce. Stężenie analitu oblicza się na podstawie wykonanej wcześniej krzywej kalibracyjnej.

Wykorzystane wyposażenie:

- Analizator wstrzykowo-przepływowy FIA Nexus firmy MLE do oznaczania azotu amonowego, azotynowego i azotanowego.

Azot Kjeldahla

Azot Kjeldahla oznaczany zgodnie z normą PN-EN 25663:2001 „Jakość wody - Oznaczenie azotu Kjeldahla - Metoda po mineralizacji z selenem. Zasada metody: Mineralizacja próbki kwasem siarkowym w obecności siarczanu potasu oraz z udziałem selenu jako katalizatora powoduje przemianę związków azotu w próbce do siarczanu amonu. Następnie w wyniku destylacji w środowisku zasadowym uwalniany jest amoniak, który oznacza się metodą miareczkową (miareczkowanie mianowanym kwasem solnym w obecności wskaźnika).

Wykorzystane wyposażenie:

- Blok do spalań firmy Tecator, model 2006 Digestor,
- Aparat do destylacji firmy FOSS, model Kjeltect™ 8100,
- Biureta cyfrowa 25 ml firmy Brand.

Azot ogólny

Azot ogólny – metoda obliczeniowa zgodnie z obowiązującą w IMGW-PIB procedurą badawczą PB-02 wyd.2 z dnia 04.02.2016. Zasada metody: Metoda obliczeniowa polegająca na sumowaniu stężeń azotu Kjeldahla, azotu azotanowego i azotu azotynowego.

Ortofosforany

Ortofosforany oznaczane zgodnie z PN-EN ISO 6878:2006+ Ap1:2010+Ap2:2010 „Jakość wody - Oznaczenie fosforu - Metoda spektrometryczna z molibdenianem amonu”. Metoda polega na przeprowadzeniu reakcji jonów ortofosforanowych z kwaśnym roztworem zawierającym jony molibdenianowe i jony antymonu z utworzeniem kompleksu fosfomolibdenianu antymonu, a następnie redukcja kompleksu kwasem askorbinowym do utworzenia intensywnie zabarwionego kompleksu błękitu molibdenowego. Stężenie obecnych ortofosforanów oznacza się przez pomiar absorbancji tego kompleksu przy użyciu

spektrofotometru UV-VIS (długość fali 880 nm), który uprzednio należy skalibrować (wykonać krzywą kalibracyjną).

Wykorzystane wyposażenie:

- Spektrofotometr UV-VIS firmy Shimadzu, model UV-1800.

Fosfor ogólny

Fosfor ogólny oznaczany zgodnie z PN-EN ISO 6878:2006+ Ap1:2010+Ap2:2010 „Jakość wody - Oznaczanie fosforu - Metoda spektrometryczna z molibdenianem amonu. Metoda polega na przeprowadzeniu organicznych związków fosforu w ortofosforany stosując mineralizację próbek z nadtlenodwusiarczanem potasu. Następnie po zobojętnieniu w próbkach oznacza się ortofosforany, zgodnie z zasadą opisaną powyżej.

Wykorzystane wyposażenie:

- Blok do spalań firmy Tecator, model 2006 Digestor,
- Spektrofotometr UV-VIS firmy Shimadzu, model UV-1800.

Wapń, żelazo

Wapń oznaczany zgodnie z PN-EN ISO 7980:2002 „Jakość wody - Oznaczanie wapnia i magnezu - Metoda atomowej spektrometrii absorpcyjnej”.

Żelazo oznaczane zgodnie z PN-ISO 8288:2002” Jakość wody - Oznaczanie kobaltu, niklu, miedzi, cynku, kadmu i ołowiu - Metody atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu” oraz instrukcją I-02/PN-ISO 8288:2002 wyd. 1 z dnia 21.09.2012 „Oznaczanie żelaza i manganu, metoda atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu”. Pomiar techniką płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (F AAS) opiera się na zjawisku absorpcji promieniowania o specyficznej długości fali przez wolne atomy metali. Atomizację (wytworzenie wolnych atomów) próbki przeprowadza się w płomieniu powietrze/acetylen a następnie dokonuje się pomiaru absorbancji promieniowania o odpowiedniej długości fali (422,7 nm - wapń, 248,3 nm - żelazo) i na tej podstawie wyznacza się stężenie metali (po uprzednim wykonaniu krzywej kalibracyjnej).

Wykorzystane wyposażenie:

- Spektrometr Absorpcji Atomowej firmy Perkin Elmer, model AAnalyst 800

ChZT-Cr

ChZT-Cr oznaczane zgodnie z PN-ISO 15705:2005 „Jakość wody - Oznaczanie indeksu chemicznego zapotrzebowania tlenu (SP-ChZT) - Metoda zminiaturyzowana z zastosowaniem szczelnych probówek”. Próbki utlenia się przez mineralizację kwasem siarkowym i dwuchromianem potasu w obecności siarczanu srebra i siarczanu rtęci (II). Dla zakresu do 1000 mg/l ilość dwuchromianu użytą na utlenianie próbki określa się przez pomiar absorbancji

utworzonego Cr (III) przy długości fali 600 nm. Pomiary absorbancji wykonuje się przy użyciu fotometru w próbce używanej do mineralizacji. Wyniki przetwarzane są na wartość ChZT.

Wykorzystane wyposażenie:

- Termoreaktor firmy AquaLytic , model AL125
- Fotometr firmy AquaLytic, model AI200

Wszystkie analizy zostały wykonane w Wydziale Chemii Instytutu Meteorologii i Gospodarki Wodnej – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie, przy ul. Podleśnej 61. Wymienione metody są metodami akredytowanymi zgodnie z normą PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02 – certyfikat PCA nr AB 1388 dostępny jest na stronie <https://www.pca.gov.pl/> w zakładce „akredytowane podmioty”.

B) Oznaczanie liczebności fitoplanktonu w wodzie.

Analiza liczebności komórek złotej algi (*P. parvum*) prowadzona była w 2 niezależnych laboratoriach z wykorzystaniem dwóch technik analitycznych. Za realizację badań w pierwszym laboratorium odpowiadała prof. dr hab. inż. Małgorzata Kacprzak (Politechnika Warszawska). Oznaczanie liczebności w tym przypadku realizowane było techniką mikroskopową z wykorzystaniem hemocytometru (komory Thoma) na mikroskopie PrimoStar 3 Carl Zeiss wyposażonym w obiektyw iPlan-Achromat 40×.

Drugie laboratorium odpowiadające za analizę liczebności złotej algi była pracownia dr Justyny Kobos (Uniwersytet Gdański). Analiza ilościowa *Prymnesium parvum* została wykonana, w tym przypadku, przy użyciu mikroskopu odwróconego Delta Optical. Próbki zostały zanalizowane przy użyciu metody Utermöhl, zgodnie z zaleceniami Komisji Helsińskiej (HELCOM, 2021). Niezagęszczony materiał pozostawiono przez 2-3 godziny do sedimentacji w komorach sedimentacyjnych o objętości 2,3 ml. Dokumentację fotograficzną wykonano przy użyciu kamery i oprogramowania Delta Optical DLT-Cam Viewer (Polska).

Do laboratoriów przesłano po 8 prób środowiskowych, pobieranych z komory badawczej i komory kontrolnej. Monitoring zmian liczebności prowadzono w okresie między 7 a 11 sierpnia 2024 r.

C) Oznaczanie liczebności zooplanktonu w wodzie

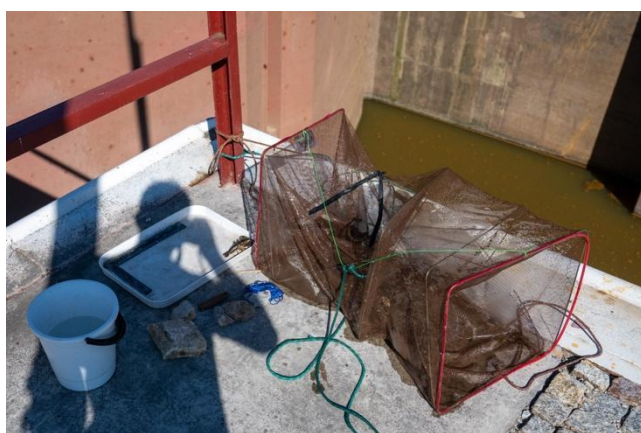
Oznaczenie liczebności zooplanktonu realizowane było przez dr hab. Łukasza Sługockiego (Uniwersytet Szczeciński). Analiza prowadzona była techniką mikroskopową na próbach środowiskowych pobieranych bezpośrednio ze stanowisk badawczych w śluzie Rudziniec. Liczebność oznaczano z wykorzystaniem komór planktonowych oraz mikroskopu Nikon Eclipse 50i. W celu identyfikacji osobników w próbach użyto kluczy taksonomicznych.

Podobnie jak w przypadku oznaczania liczebności złotej algi, również w przypadku zooplanktonu monitorowano zmiany liczebności oznaczanych organizmów zarówno w obrębie komór śluzy – próba badana oraz próba kontrolna, jak również w bezpośrednim sąsiedztwie stanowiska badawczego – próby pobierane z wody przed oraz za śluzą Rudziniec.

D) Badania ichtiologiczne.

Badania ichtiologiczne realizowane były pod nadzorem dr hab. inż. Bogdana Wziątka (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie). W czasie badań analizowano czy zastosowane w doświadczeniu dawki preparatu SinStop mogą powodować śnięcia ryb. Ze względu na złe warunki środowiskowe panujące w Kanale Gliwickim do badań wykorzystano ryby odłowione w Kanale, ponieważ zachodziła obawa, że ryby pochodzące z innego środowiska mogą nie przeżyć warunków panujących w Kanale Gliwickim, co miałyby istotny wpływ na wyniki końcowej oceny.

Ryby do badań odłowiono przy użyciu pułapek stawnych (rycina 17), zastawionych powyżej i poniżej śluzy w Rudzińcu. Wykaz ryb użytych w doświadczeniu przedstawiono w tabeli 4.



Rycina 17. Pułapka służąca do połowu ryb.

Tabela 4. Inwentaryzacja gatunków ryb umieszczanych w pułapkach

Gatunek	Nazwa łacińska	Liczba ryb	Długość całkowita [cm]
Karaś srebrzysty	<i>Carassius auratus gibelio</i>	10	4,0, 6,0, 6,0, 6,0, 7,0, 7,0, 7,0, 8,0, 8,0, 8,5
Karp	<i>Cyprinus carpio</i>	1	16,0
Płoc	<i>Rutilus rutilus</i>	1	9,5
Sumik karłowaty	<i>Ictalurus nebulosus</i>	2	19,0, 16,0
Okoń	<i>Perca fluviatilis</i>	1	15,2
Jazgarz	<i>Acerina cernuus</i>	1	10,0

Odławiane w pułapki ryby umieszczono następnie w zamkniętych klatkach i zatopiono w śluzy w okolicy dolnych wrót. Ryby podzielone zostały na dwie grupy, co uwarunkowane było obecnością wśród badanych ryb gatunków drapieżnych (sumik karłowaty). Z tego względu ryby mniejsze należące do gatunków: karaś srebrzysty, karp i płoc umieszczono w osobnej klatce niż okonia, jazgarza i sumiki karłowate. Klatki sprawdzano codziennie rano i wieczorem celem oceny czy wśród umieszczonych tam ryb nie ma osobników martwych. Po zakończeniu

doświadczenia ryby uśmiercono przy zastosowaniu wysokiej dawki anestetyku (etomidat) a następnie dokonano oględzin makroskopowych ciała i narządów wewnętrznych.

W trakcie prowadzenia badań stwierdzono, że w obu komorach śluzy Rudziniec znajdują się ryby. W związku z tym dodatkowo w komorze śluzy doświadczalnej rozpoczęto połowy pułapkami – dwie pułapki sprawdzane rano, zaś w obu śluzach prowadzono liczenia unoszących się na powierzchni martwych ryb. W odniesieniu do śmiertelności obserwowanych w trakcie doświadczenia ze względu na fakt, że warunki w śluzie nie pozwalały na przeprowadzenie oceny liczebności ryb. Celem przeprowadzenia porównania statystycznego, uzyskane wyniki z liczebności martwych osobników zamieniono na indeksy jednopostaciowe. Za podstawę indeksu przyjęto liczbę martwych ryb stwierdzonych w poszczególnych komorach śluzy w pierwszym dniu doświadczenia:

$$\frac{ND1}{ND1'}, \frac{ND2}{ND1'} \dots \frac{NDx}{ND1'}$$
$$\frac{NK1}{NK1'}, \frac{NK2}{NK1'}, \dots \frac{NKx}{NK1'} \frac{NKx}{NK1'}$$

gdzie:

- *ND1 - NDx – liczba martwych ryb odnotowanych w kolejnym liczeniu w komorze doświadczalnej,*
- *ND1 liczba martwych ryb odnotowana w pierwszym dniu doświadczenia*
- *NK1 - NKx – liczba martwych ryb odnotowanych w kolejnym liczeniu w komorze kontrolnej,*
- *NK1 liczba martwych ryb odnotowana w pierwszym dniu doświadczenia*

E) Oznaczanie zawartości toksyn w wodzie.

Badanie zawartości toksyn w próbach wody przeprowadzono dla substancji z grupy prymnezyn (3 podtypy toksyn wytwarzane przez komórki *P. parvum*), Do analiz skierowano 12 próbek środowiskowych pobranych zarówno z komory kontrolnej jak i badawczej, przed i po zakończeniu stosowania metody SinStop.

Analizy realizowane były pod kierownictwem prof. dr hab. Hanny Mazur-Marzec, w laboratoriach Katedry Biologii Morza i Biotechnologii Wydziału Oceanografii i Geografii, Uniwersytetu Gdańskiego.

Analizy wykonano według standardowej procedury. Sączone ekstrahowano trzykrotnie 100% metanolem (3 × 15 ml). Ekstrakty połączone, odparowano do kilku ml (najczęściej 3-10 ml) w koncentratorze próżniowym, w temperaturze 35°C. Następnie analizowano z zastosowaniem spektrometru mas QTRAP5500 (ABSciex, Toronto, Kanada) sprzężonego z chromatografem cieczowym (Waters, Milford, MA USA). Analizę ilościową prowadzono w trybie MRM (multiple reaction monitoring).

Ekstrakcję SPE (solid-phase extraction) toksyn z wody pozostałej po przesączeniu materiału prowadzono z zastosowaniem kolumnienek wypełnionych złożem RP C8 (BEKOlut,

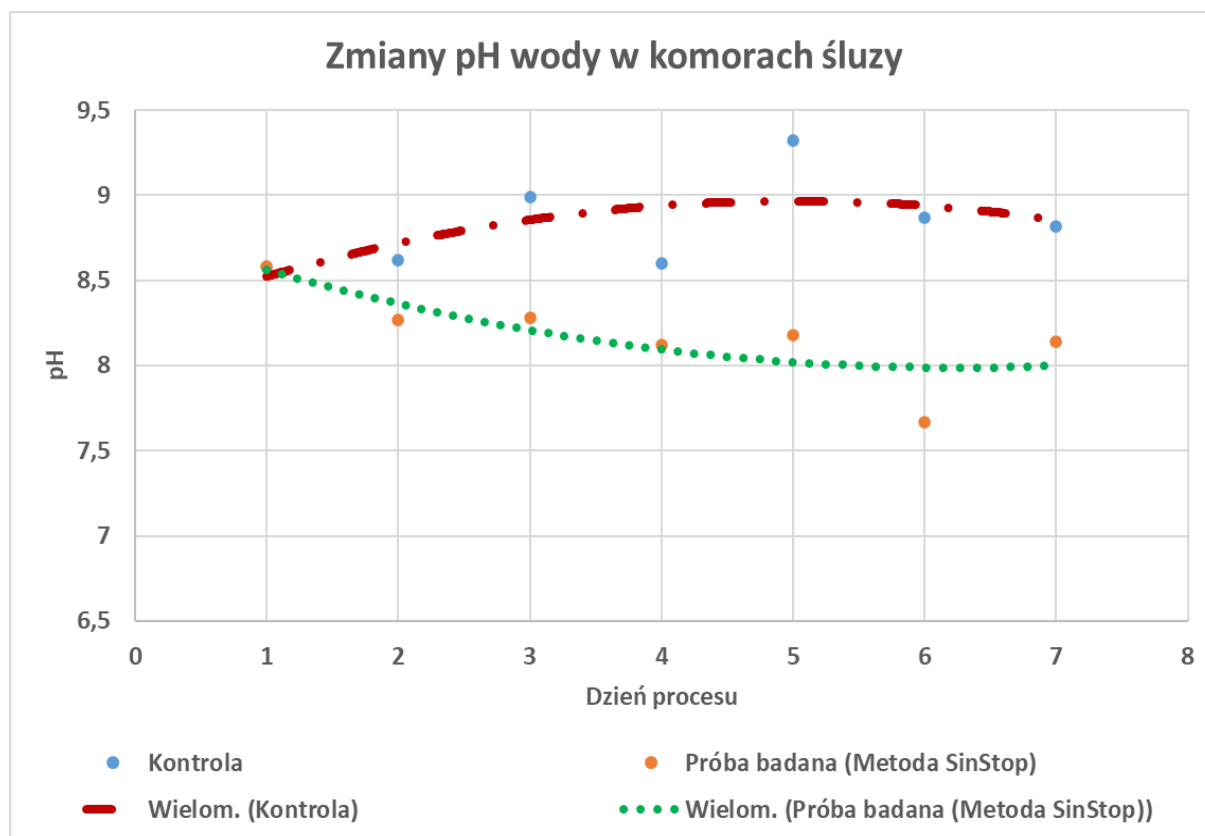
Bruchmühlbach-Miesau, Niemcy). Przed naniesieniem próbki, złoże kolumnienki aktywowano 100% metanolem, który następnie obmyto wodą MilliQ. Frakcję wymywaną metanolem (70 ml) odparowano do kilku ml (3-10 ml) i analizowano z zastosowaniem LC-MS/MS w trybie MRM.

4.2.2. Wyniki badań

Wyniki badań uzyskane podczas realizacji 2 etapu prac, podzielone zostały zgodnie z kategoryzacją prowadzonych analiz, przedstawioną w sekcji „metodyka”, niniejszego raportu. Celem tego działania było zachowanie klarowności przekazu prezentowanych wyników.

A) Wyniki badań fizycznych i chemicznych parametrów wody.

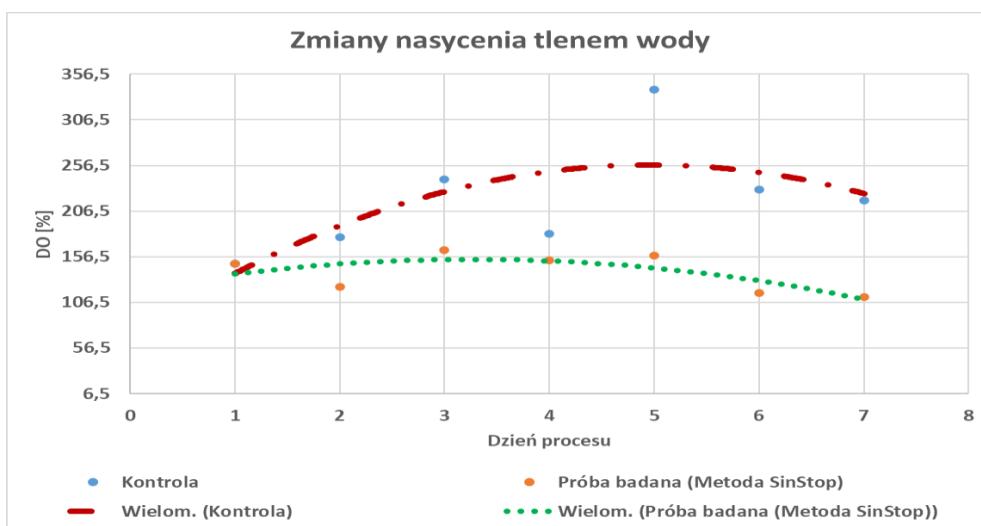
. Wyniki analiz fizycznych i chemicznych parametrów wody, prowadzonych w tym zakresie przedstawione zostały na wykresach ryc. 18-24. Wskazują one kolejno zmiany pH środowiska wodnego w trakcie eksperymentu (ryc. 18); zmiany nasycenia wody tlenem (ryc. 19.); zmiany przewodności wody (ryc. 20); zmiany zawartości pierwiastków biogenych: azot ogólny oraz fosfor ogólny w próbach wody (ryc. 21); zmiany w chemicznym zapotrzebowaniu wody na tlen (ryc. 22); zmiany stężenia chlorofilu „a” w wodzie (ryc. 23); zmiany stężenia fikocyjaniny w wodzie (ryc. 24).



Rycina 18. Zmiany pH wody w obrębie analizowanych komór śluzy Rudziniec. Wykres przedstawia porównanie próby kontrolnej z próbą, do której aplikowano preparat SinStop.

Odczyn wody jest wypadkową uwarunkowań chemicznych i biochemicznych. Zasadniczo dla dużych polskich rzek nizinnych i sieci ich dopływów odczyn wody przyjmuje wartości lekko alkaliczne. Na obniżenie odczynu może mieć wpływ domieszka ścieków o kwaśnym charakterze, wód bogatych w kwasy humusowe, np. z terenów bagiennych i torfowisk a także procesy biochemicznego rozkładu materii organicznej. Z kolei czynnikiem alkalizującym będzie wypłukiwanie ze zlewni minerałów na bazie wapnia i magnezu, domieszka ścieków zawierających ługi lub metabolizm glonów planktonowych. Ten ostatni czynnik jest szczególnie istotny w kontekście zakwitów glonów. Ich wzmożony metabolizm podczas gwałtownego namnażania populacji prowadzi do wyczerpywania puli rozpuszczonego dwutlenku węgla w wodzie (materiał budulcowy) i pobierania tego związku z wodorowęglanów HCO_3^- . W wyniku tego procesu w wodzie rośnie stężenie jonów hydroksylowych OH^- a tym samym podwyższa się odczyn. W skrajnych przypadkach osiąga on podczas zakwitów wartości 9-10 pH.

W trakcie eksperymentu wyjściowy odczyn wód (8,6 pH) zmieniał się w zupełnie inny sposób w komorze kontrolnej i eksperymentalnej. W komorze kontrolnej stwierdzono tendencję rosnącą (ryc. 19), najprawdopodobniej powodowaną wspomnianym wyżej wzmożonym metabolizmem alg – aż do wartości 9,4 pH stwierdzonej w piątym dniu procesu. W wariancie eksperymentalnym dodanie preparatu SinStop ustabilizowało odczyn wód na poziomie 7,6-8,5 pH. Jest to wysoce korzystny efekt środowiskowy, bowiem nadmiernie podwyższony odczyn wzmacnia toksyczność wielu związków chemicznych, negatywnie wpływa na kondycję ryb i zooplanktonu oraz pozwala glonom na wydłużanie fazy zakwitów. Jego obniżenie do wartości w zasadzie mieszczących się w zakresie właściwym dla dobrego stanu ekologicznego wód rzecznych, zgodnie z aktualnym prawem (Rozporządzenie Ministra Infrastruktury z dnia 25 czerwca 2021 r. w sprawie klasyfikacji stanu ekologicznego, potencjału ekologicznego i stanu chemicznego oraz sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych, a także środowiskowych norm jakości dla substancji priorytetowych – Dz. U. z 2021 r., poz. 1475) - jest przykładem pozytywnego wpływu preparatu na zaburzoną zakwitami glonów jakość wody.

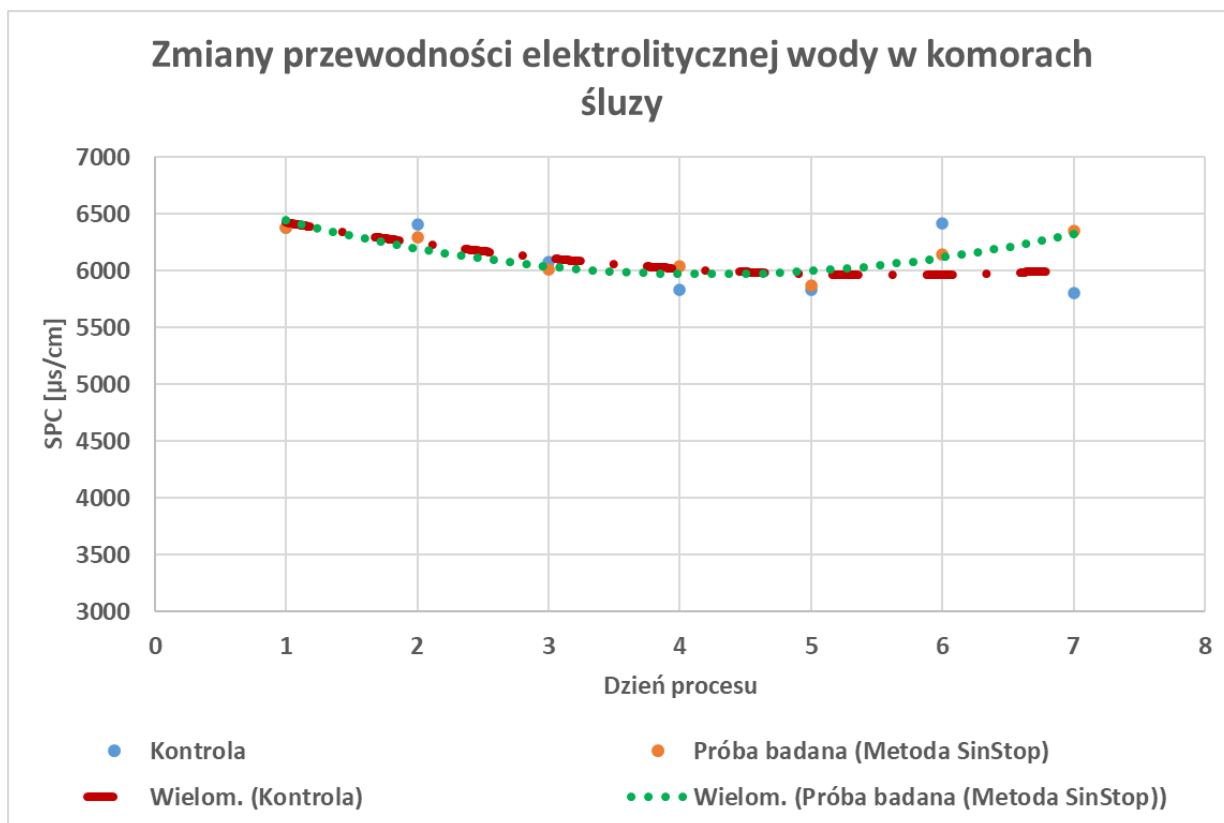


Rycina 19. Zmiany nasycenia wody tlenem rozpuszczonym w komorach śluzi, na której prowadzony był eksperyment. Wykres przedstawia porównanie próby kontrolnej z próbą, do której aplikowano preparat SinStop.

Tlen jest głównym pierwiastkiem odpowiedzialnym za życie biologiczne w wodzie. Jego zawartość zależy od temperatury wody. Zawartość tlenu w wodzie można wyrazić w mg/l lub w procencie nasycenia wody tym pierwiastkiem. Przyjmuje się, że optymalne nasycenie wody tlenem powinno wynosić około 100%. Dla wody o temperaturze 20°C odpowiada to około 9 mgO₂/l. Każde zanieczyszczenie materią ulegającą degradacji tlenowej w rzece będzie redukować ilość tlenu dostępną dla organizmów wodnych. Na przykład obecność ścieków czy odpadów organicznych w wodzie będzie powodować procesy rozkładu, na które zużywany jest tlen. Dlatego powszechnym zjawiskiem jest występowanie deficytu tlenowego w wodach płynących poniżej zrzutów ścieków. Najbardziej cenne gatunki tlenolubne (np. ryby reofilne – pstrąg, łosoś, lipień) bardzo źle znoszą spadek stężenia tlenu poniżej 7 mg/l. Bardziej odporne organizmy tolerują jeszcze zawartość tlenu na poziomie około 5-6 mg/l. Spadek stężenia tlenu poniżej 2 mg/l uważa się za katastrofalny dla ekosystemu wodnego.

Należy również wskazać, że możliwe jest nasycenie wody tlenem ponad 100%. Dzieje się tak głównie ze względu na wspomnianą już aktywność fotosyntetyczną fitoplanktonu. Duże przesylenie wody tlenem świadczy zatem o zaburzeniu ekosystemu i zbyt żyznej wodzie, a nadmiar tlenu w wodzie nie jest korzystny. Podczas masowych pojawów glonów planktonowych nasycenie wody tlenem rośnie do wartości 120, 150 a nawet ponad 200%, w zależności od intensywności zakwitów.

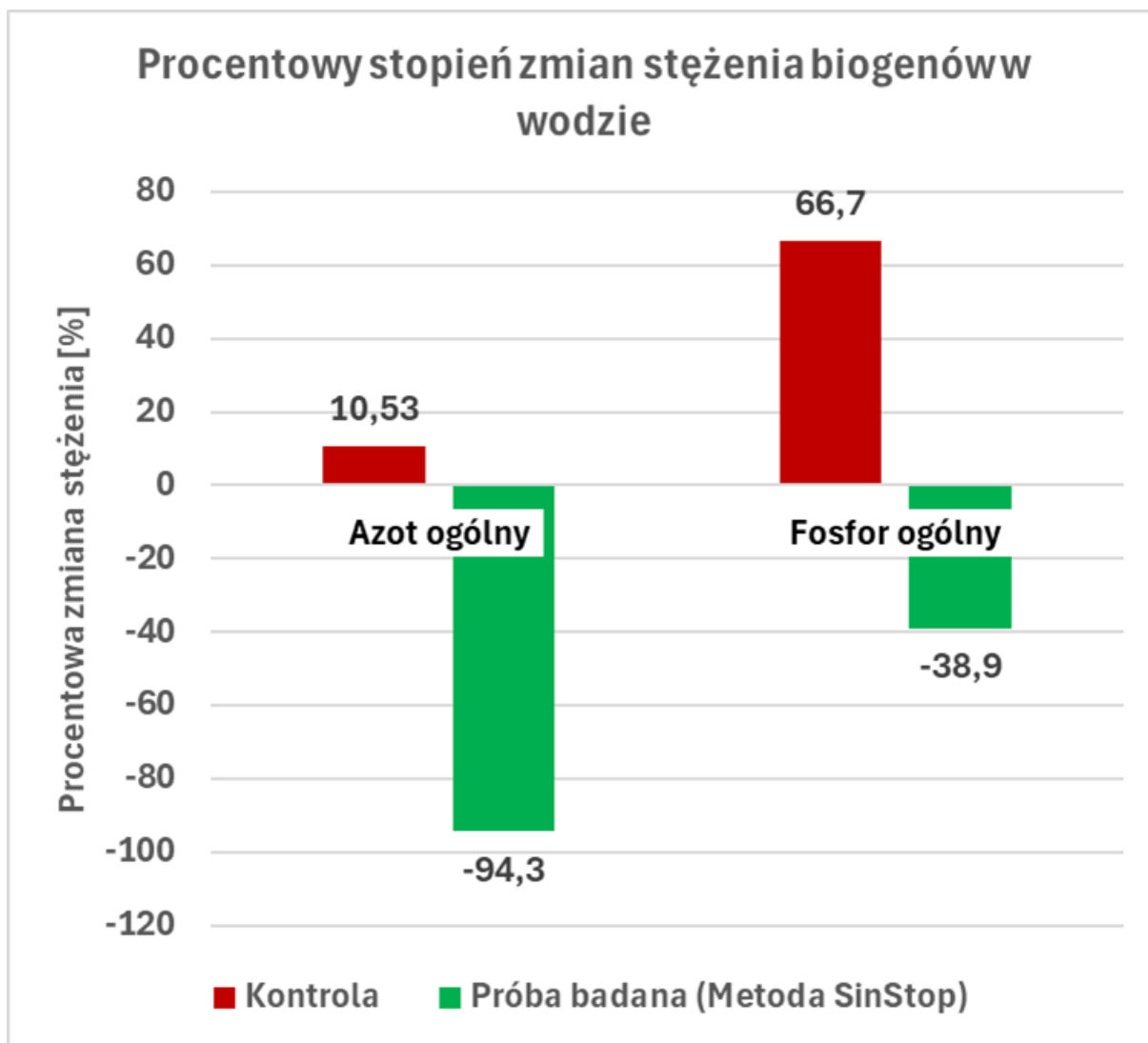
Podczas prac eksperymentalnych stwierdzono zarówno w wodzie komory kontrolnej jak i eksperymentalnej przesylenie wody tlenem. Jednakże w komorze kontrolnej wielkość przesylenia sięgała ekstremalnych wartości ponad 340%, podczas gdy w akwariach eksperymentalnych wartości te były ponad dwukrotnie niższe (maksymalnie 160% nasycenia). Taki rozkład otrzymanych wyników świadczy o ograniczeniu przez podany preparat aktywności fotosyntetycznej autotrofów obecnych w badanej wodzie i dobrze koreluje z efektami odzwierciedlonymi dynamikę zmian odczynu wody. Jest to jednocześnie znakomity przykład, że preparat SinStop może bardzo skutecznie powstrzymać negatywne skutki tzw. choroby gazowej u ryb związanej z przesyleniem wody gazami, w tym tlenem. Choroba ta jest jedną bezpośrednich przyczyn śnięcia ryb w silnie kwitnących wodach powierzchniowych.



Rycina 20. Zmiany przewodności elektrolitycznej wody w komorach śluzu, na której prowadzony był eksperyment. Wykres przedstawia porównanie próby kontrolnej z próbą, do której aplikowano preparat SinStop.

Konduktywność wody (inaczej przewodność, przewodnictwo elektrolityczne, SPC) jest miarą zawartości w wodzie jonów zdolnych przewodzić prąd elektryczny. Wody zasolone (bogate w jony chlorkowe i sodowe, ale także siarczanowe, wapniowe, magnezowe i inne) charakteryzują się wyższymi wartościami tego parametru. Jednostką przewodności jest $\mu\text{S}/\text{cm}$. Powierzchniowe wody śródlądowe naturalnie niezasolone mają zazwyczaj przewodność elektrolityczną na poziomie kilkadziesiąt – kilkaset $\mu\text{S}/\text{cm}$. Wody obciążone solanką, morskie lub ścieki charakteryzują się przewodnością rzędu tysięcy $\mu\text{S}/\text{cm}$. Przewodność elektrolityczna jest precyzyjnym i wysokorozdzielczym parametrem dobrze pokazującym pojawianie się domieszek zanieczyszczeń – poprzez wzrost wartości parametru ponad tło środowiskowe, proporcjonalny do wielkości zanieczyszczenia.

Wartości przewodności elektrolitycznej w całym okresie eksperymentu były bardzo wysokie, właściwe wodom silnie zasolonym (6-6,5 tys. $\mu\text{S}/\text{cm}$). Podanie do komory eksperymentalnej preparatu SinStop nie wpłynęło zauważalnie na zmianę dynamiki tego parametru. Należy jednak wskazać, że dodany produkt - co było do przewidzenia – nieznacznie podwyższa wartość SPC (przeciętnie o kilkanaście jednostek). Jest to jednak zmiana marginalna w stosunku do tła środowiska eksperymentu.



Rycina 21. Zmiany stężenia podstawowych pierwiastków biogenych w wodzie pobieranej z komór śluzy. Wyniki przedstawione w procencie zmiany stężenia. Wykres prezentuje porównanie próby kontrolnej z próbą, do której aplikowano preparat SinStop.

Azot i fosfor stanowią kluczowe pierwiastki biogenne, warunkujące produktywność biologiczną wód. Są one wykorzystywane przez organizmy samożywne, w tym glony planktonowe jako składniki pokarmowe, umożliwiające rozwój populacji. Stąd ich nadmiar w wodzie jest głównym czynnikiem stymulującym eutrofizację wód powierzchniowych. W zasadzie wszystkie znane literaturze techniki ochrony i rekultywacji wód powierzchniowych w mniejszym lub większym stopniu ukierunkowane są na redukcję dostępności tych pierwiastków dla producentów pierwotnych.

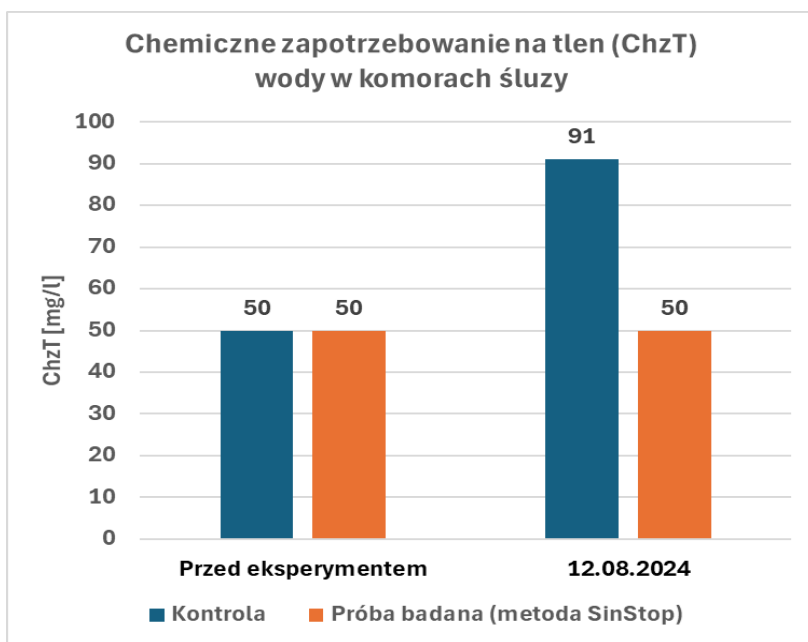
Podczas realizacji eksperymentu w pełnej skali operacyjnej potwierdzono wcześniejsze obserwacje w skali laboratoryjnej (załącznik do raportu) i półtechnicznej (etap 1), dotyczące zdolności preparatu SinStop do obniżania stężenia azotu i fosforu w wodzie.

Azot całkowity w wodzie komory kontrolnej podczas eksperymentu wykazywał nieznaczną tendencję wzrostową. Z wyjściowych wartości 1,9 mg/l po nieznacznym spadku, jego

stężenie osiągnęło 2,1 mg/l pod koniec badań. Z kolei w komorze eksperymentalnej taka sama wartość początkowa (1,9 mg/l) została obniżona do poziomu niewykrywalnego zastosowaną metodą analityczną (<1,0 mg/l). Nie można więc dokładnie określić wielkości redukcji koncentracji tego pierwiastka, ale była ona znaczna, sięgająca minimum 0,9 mg/l, co stanowi niemal 50%.

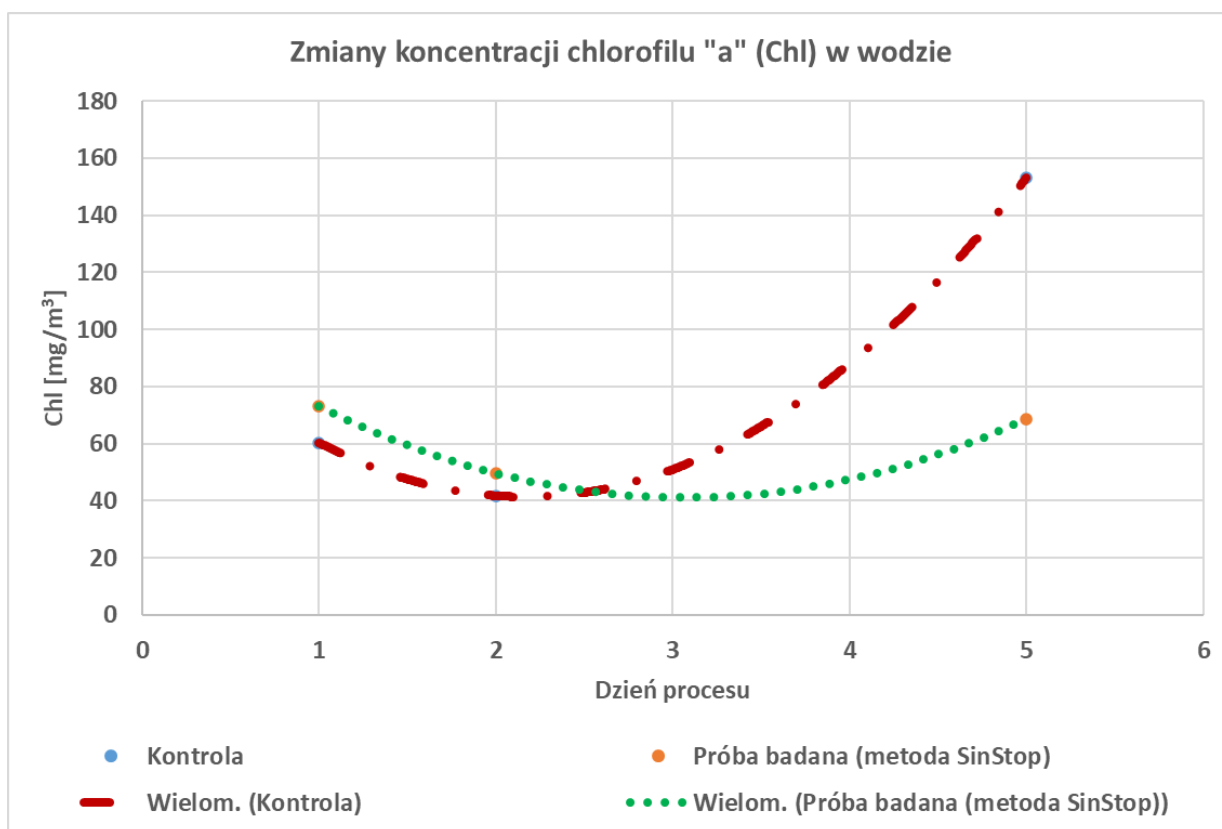
Fosfor w komorze kontrolnej zmieniał swoje stężenie konsekwentnie zwiększając koncentrację (z wartości wyjściowych 0,18 mg/l do poziomu końcowego 0,30 mg/l). Było to spowodowane nieszczelnościami wrót napływowych, które występowały w takim samym stopniu w obu komorach śluzy. W komorze eksperymentalnej zawartość fosforu z kolei konsekwentnie malała – od 0,18 mg/l do poziomu 0,11 mg/l, mimo napływu wody z sekcji IV Kanału Gliwickiego nieszczelnościami. Otrzymane wyniki wskazują na znaczną zdolność preparatu SinStop do ograniczania zawartości pierwiastków biogennych. Warto tutaj wskazać, że fosfor zostaje sorbowany na powierzchni cząstek preparatu oraz związany z jego centrami aktywnymi, azot zaś, oprócz tego mechanizmu ulega również przemianom mikrobiologicznym stymulowanym przez preparat, co umożliwia redukcję jego stężenia w wodzie również poprzez ogniwo gazowe – azot cząsteczkowy dyfundowany do atmosfery.

Chemiczne zapotrzebowanie tlenowe jest wskaźnikiem obciążenia wody materiałą organiczną – tą łatwo i trudniej rozkładalną. Innymi słowy poziom parametru ChZT odzwierciedla ilość substancji organicznych w wodzie.



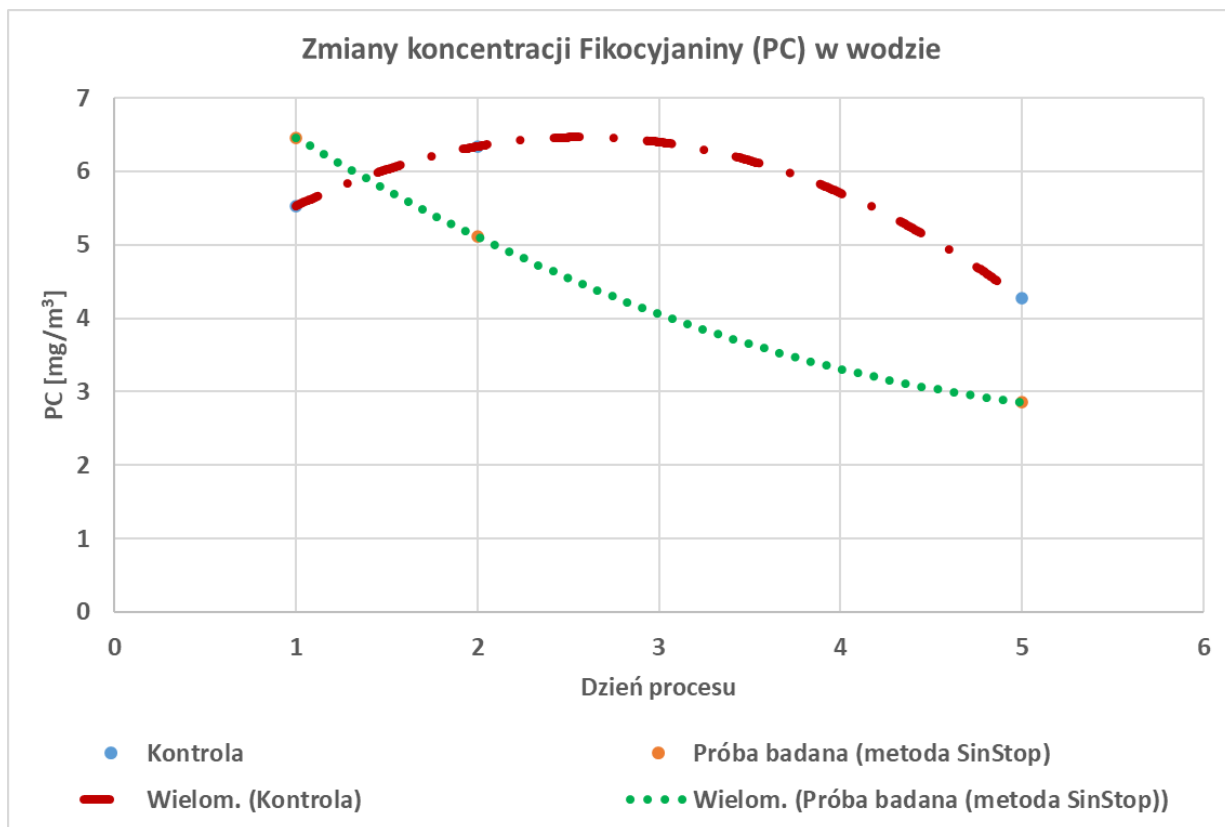
Rycina 22. Zmiany chemicznego zapotrzebowania na tlen (ChZT) w próbkach wody pobieranej ze śluz biorących udział w eksperymencie. Wykres przedstawia porównanie próby kontrolnej z próbą, do której aplikowano preparat SinStop.

W eksperymencie zawartość początkowa tego wskaźnika wynosiła 50 mg/l. Taką wartość należy uznać za wysoką, w komorze kontrolnej nastąpił znaczny wzrost tego parametru, niemal dwukrotny (do poziomu 91 mg/l). Należy przyjąć, że przyrost ten jest wypadkową wzrostu biomasy planktonu odzwierciedlonej w innych badanych parametrach oraz napływu wód silnie zanieczyszczonych poprzez wspomniane nieszczelności śluzy. Zatem preparat SinStop okazał się skuteczny w ograniczaniu obciążenia wód materią organiczną.



Rycina 23. Zmiany koncentracji chlorofilu „a” w próbach wody pobieranych ze śluzy. Wykres przedstawia porównanie trendu próby kontrolnej oraz próby poddanej metodzie SinStop.

Chlorofil „a”, o czym już wspomniano, jest barwnikiem wytwarzanym na potrzeby procesu fotosyntezy roślin wodnych, a jego stężenie w wodzie odzwierciedla ilość fitoplanktonu. Wody czyste charakteryzują się koncentracją tego barwnika na poziomie kilku - kilkunastu jednostek, natomiast wody silnie zeutrofizowane - kilkudziesięciu i więcej. Podczas eksperymentu stwierdzono znaczne stężenie chlorofilu „a” w wodzie, to jest 60-70 mg/m³. W komorze eksperymentalnej wartość ta została zachowana na porównywalnym poziomie pod koniec eksperymentu, natomiast w wodzie kontrolnej komory śluzy nastąpił gwałtowny wzrost koncentracji tego barwnika, aż do poziomu ponad 150 mg/m³. Taki przebieg dynamiki zmian badanego parametru wskazuje na ograniczenie przez podany preparat dalszego namnażania się alg w komorze poddanej eksperymentowi. Wynik ten doskonale koreluje z badaniem ChZT, co potwierdza zdolność preparatu do kontrolowania zakwitów wody.



Rycina 24. Zmiany koncentracji fikocyjaniny (PC) w próbach wody. Wykres przedstawia porównanie trendu próby kontrolnej oraz próby poddanej metodzie SinStop.

Fikocyjanina jest również barwnikiem syntetyzowanym przez fitoplankton, ale jest charakterystyczna w badanym przypadku dla jednej jego grupy – sinic. Zatem analiza obfitości występowania tego związku daje pogląd o liczebności sinic w strukturze fitoplanktonu. Z przeprowadzonych badań i analiz wynika, że koncentracja tego barwnika w komorze eksperymentalnej ulegała konsekwentnemu spadkowi – ostatecznie ponad dwukrotnemu. W komorze kontrolnej spadek również nastąpił, ale był on znacznie mniejszy – o około 20%. Porównanie przebiegu zmian tego parametru w obu komorach potwierdza wcześniej obserwowane zdolności preparatu do ograniczania namnażania się sinic.

Tabela 5. Wyniki stężenia związków i pierwiastków biogennych, oznaczanych w próbkach wody pobieranych w trakcie realizacji eksperymentu,

Tło 1 – IV sekcja Kanału Gliwickiego									
Data	N amonowy [mg/l]	N azotynowy [mg/l]	N azotanowy [mg/l]	N Kjeldahla [mg/l]	N ogólny [mg/l]	Ortofosforany [mg/l P]	P ogólny [mg/l]	Wapń [mg/l]	Żelazo [mg/l]
07.08.2024	<0,10	0,0062	0,016	1,85	1,9	<0,020	0,18	125	0,13
08.08.2024	<0,10	<0,0050	0,013	1,57	1,6	<0,020	0,16	125	0,12
09.08.2024	0,35	0,073	0,118	1,6	1,8	0,26	0,45	129	0,30
Tło 2 – III Sekcja Kanału Gliwickiego									
4/09.08.24	<0,10	0,0066	0,0054	2,5	2,5	0,026	0,18	84	0,25
Kontrola – Komora śluzy Rudziniec (brak ingerencji)									
07.08.2024	<0,10	0,0062	0,016	1,85	1,9	<0,020	0,18	125	0,13
09.08.2024	<0,10	<0,0050	0,012	1,3	1,3	0,042	0,24	114	0,16
12.08.2024	<0,10	<0,0050	0,014	2,1	2,1	0,030	0,30	115	0,12
Próba badana – Komora śluzy Rudziniec (aplikacja SinStop)									
07.08.2024	<0,10	0,0062	0,016	1,85	1,9	<0,020	0,18	125	0,13
09.08.2024	<0,10	<0,0050	0,0075	<1,0	<1,0	0,025	0,14	97	0,13
12.08.2024	<0,10	<0,0050	0,0076	<1,0	<1,0	<0,020	0,11	114	0,26

B) Zmiany liczebności osobników *P. parvum* w trakcie realizacji eksperymentu.

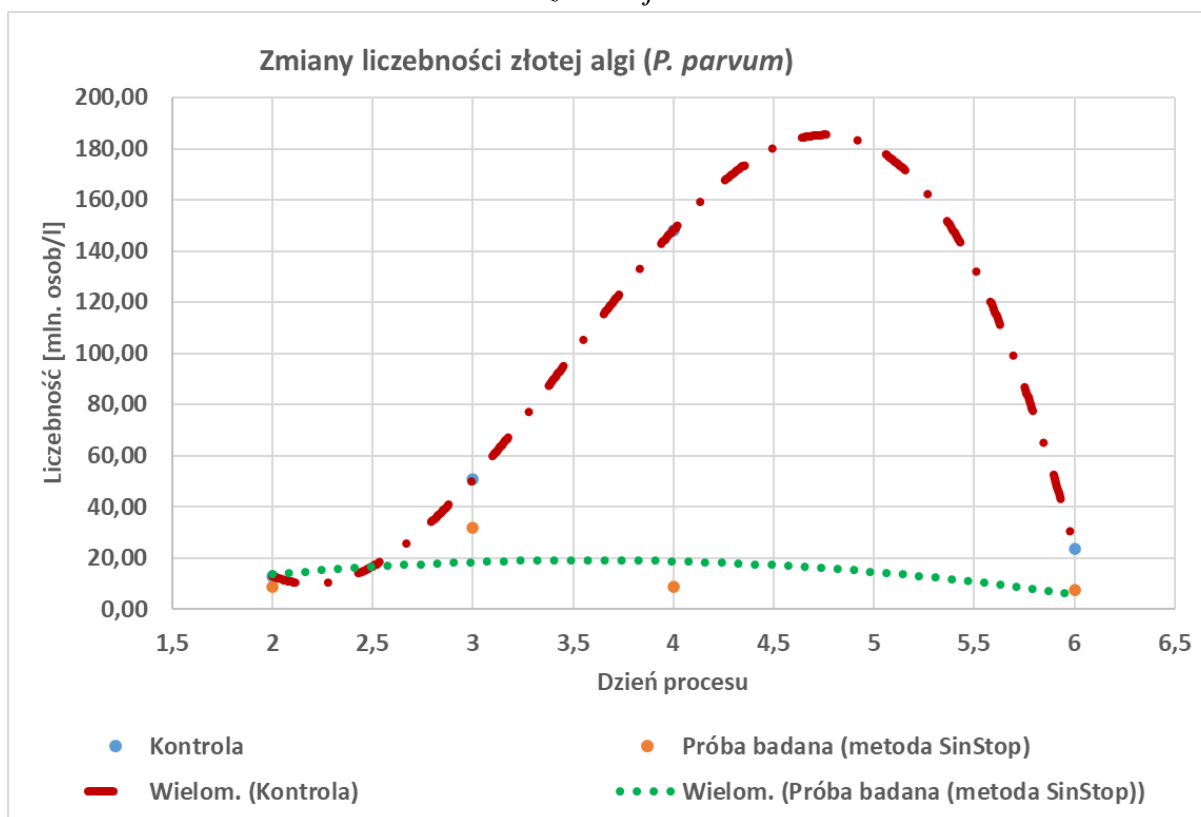
Zmiany liczebności *P. parvum* w próbkach wody podlegały monitoringowi w 2 niezależnych laboratoriach. Zestawienie obu wyników wraz z obliczeniem wartości średnich dla obu analiz przedstawione zostało w tabeli 6. Rycina 25 przedstawia natomiast trend zmian liczebności w komorach śluzy, wyznaczony w oparciu o ekstynkcję wielomianową ze średnich obu wyników.

Tabela 6. Zestawienie wyników badania liczebności złotej algi (*P. parvum*) w próbach wody pobieranych z komór śluzy Rudziniec w trakcie eksperymentu. Wartości przedstawione w mln osobników na l wody. Lab 1 – Uniwersytet Gdański; Lab 2 – Politechnika Warszawska.

Data	Kontrola (*lab 1)	Kontrola (*lab 2)	Średnia	Próba badana metoda SinStop (Lab 1)	Próba badana metoda SinStop (Lab 2)	Średnia
07.08.2024	14,84	11,25	13,05	10,85	6,25	8,55
09.08.2024	46,72	55,00	50,86	32,19	31,25	31,72
10.08.2024	146,41	150,00	148,21	11,26	6,25	8,76
12.08.2024	25,68	21,20	23,44	6,40	8,50	7,45

*Lab 1 – Laboratorium Uniwersytetu Gdańskiego

*Lab 2 – Laboratorium Politechniki Warszawskiej

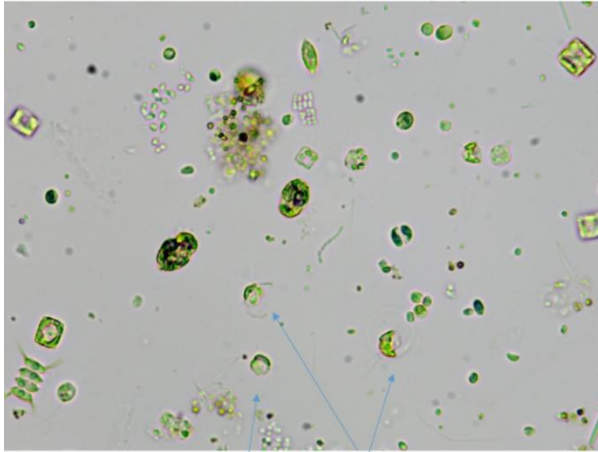


Rycina 25. Zmiany w liczebności komórek złotej algi (*P. parvum*) w próbach wody pobieranych z komór śluzy, na której prowadzono eksperyment. Wartości wyrażone w mln. osobników na l wody, stanowią wartość średnią z pomiarów prowadzonych w 2 niezależnych laboratoriach.

Podczas analizy liczebności komórek złotej algi wykonano dodatkową dokumentację fotograficzną, która zamieszczona została na rycinach. Pozwoliła ona na dokonanie dodatkowych obserwacji, odnoszących się do ewentualnego wpływu preparatu na inne organizmy występujące w wodzie.

Data: 07.08.2024

St. 2 - kontrola



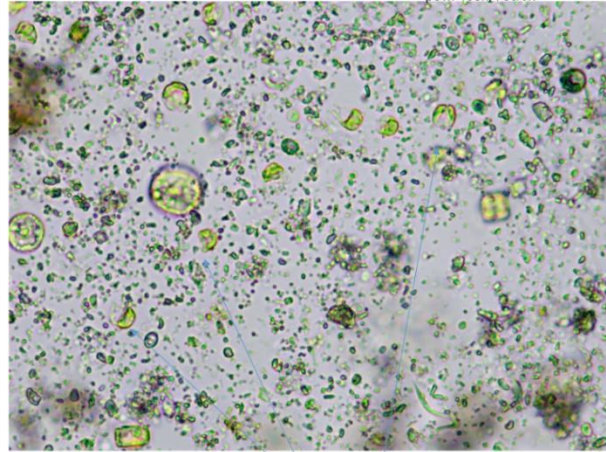
P. parvum

P. parvum z otoczką

Wyraźnie w próbkach widać komórki *P. parvum*; wiele z nich posiada dodatkowe duże otoczki (pęcherzyki); skład fitoplanktonu zróżnicowany – obecne w próbce zielenice (np. *Desmodesmus* spp, *Monoraphidium*), okrzemki (gł. centryczne), bruzdnice (też *Heterocapsa rotundata*) oraz różne sinice (m.in. *Planktorhrix agardhii*, *Pseudanabaena*, *Leptolyngbya*, *Merismopedia*, *Aphanocapsa*)

Konserwacja płynem Lugola
Sedymentacja 2,3 ml;
pow. 400x; Fot. JK

St. 3 - doświadczenie

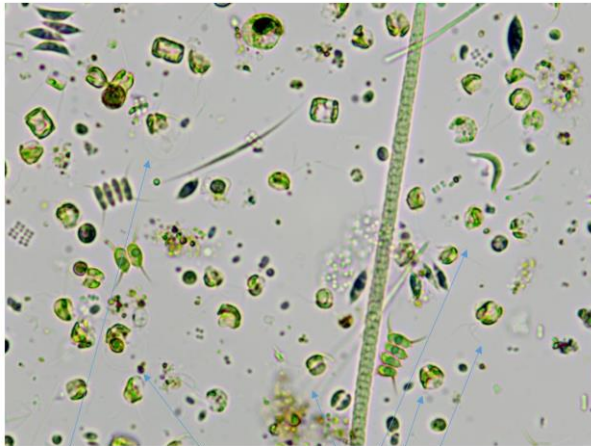


P. parvum

Widać pojedyncze komórki *P. parvum*; nie zaobserwowano, by tworzyły otoczki (pęcherze); obecny w próbce różnorodny fitoplankton (gł. okrzemki i zielenice, ale są też pojedyncze bruzdnice i sinice)

Data: 09.08.2024

St. 2 - kontrola



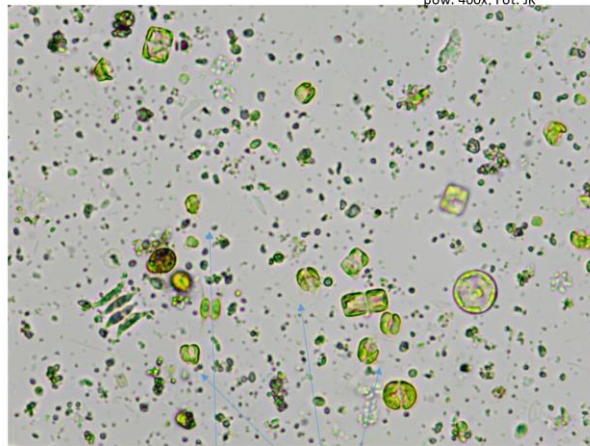
P. parvum z otoczką

P. parvum

Wzrasta liczba komórek *P. parvum*; nadal część z nich posiada dodatkowe duże otoczki (pęcherzyki); skład fitoplanktonu zróżnicowany – obecne w próbce zielenice (np. z rodzaju *Desmodesmus*, *Acutodesmus*, *Monoraphidium*), okrzemki (gł. centryczne), bruzdnice (też *Heterocapsa rotundata*) oraz różne sinice (m.in. *Planktorhrix agardhii*, *Pseudanabaena*, *Leptolyngbya*, *Merismopedia*, *Aphanocapsa*)

Konserwacja płynem Lugola
Sedymentacja 2,3 ml;
pow. 400x; Fot. JK

St. 3 - doświadczenie



P. parvum z otoczką

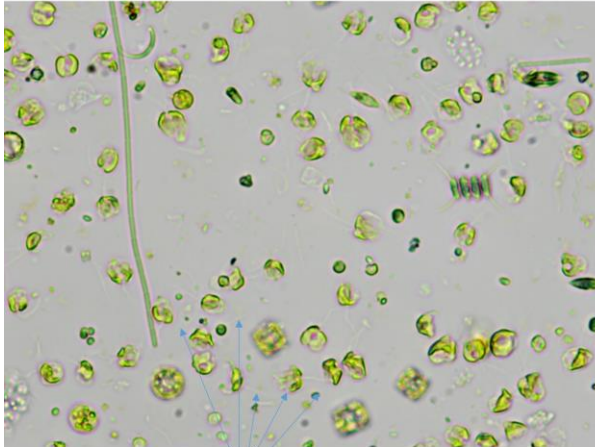
P. parvum

Wzrasta liczba komórek *P. parvum*; sporadycznie niektóre z komórek mają też pęcherzyki; obecny w próbce różnorodny fitoplankton (gł. okrzemki i zielenice, ale są też pojedyncze bruzdnice i sinice)

Rycina 26. Dokumentacja fotograficzna prowadzona podczas analiz liczebności złotej algi (*P. parvum*). Zdjęcia wykonano dla prób z 07 oraz 09 sierpnia 2024 r.

Data: 10.08.2024

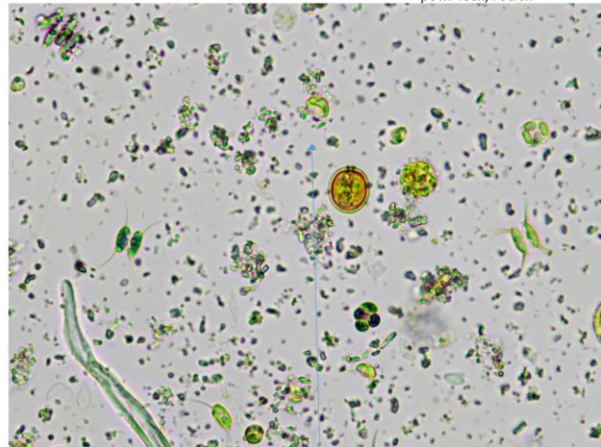
St. 2 - kontrola



P. parvum

Masowy zakwit *Prymnesium parvum*. W próbce widać pojedyncze zielenice, okrzemki i sinice; nie widać bruzdnicy *H. rotundata*.

St. 3 - doświadczenie



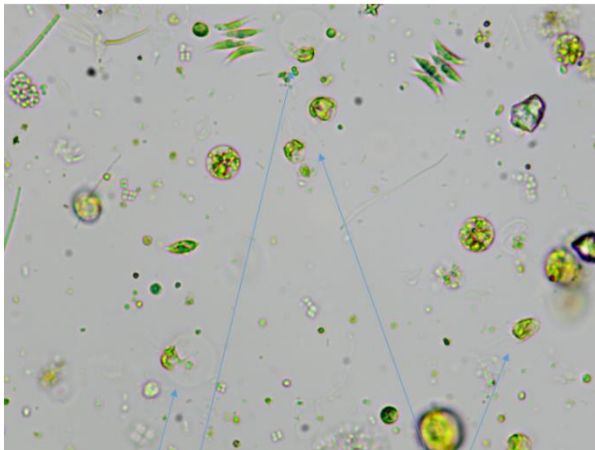
P. parvum

W próbce obecne pojedyncze komórki *P. parvum* oraz różne gatunki zielenic, okrzemek, trochę sinic, pojedyncze eugleniny (*Trachelomonas*).

Konserwacja płynem Lugola
Sedymentacja 2,3 ml;
pow. 400x; Fot. JK

Data: 11.08.2024

St. 2 - kontrola



P. parvum z otoczką

P. parvum

W próbce nadal występuje *P. parvum*, choć już nie tak licznie; znów niektóre z komórek posiada dodatkowe duże otoczki (pęcherzyki); skład fitoplanktonu zróżnicowany – obecne w próbce zielenice (np. *Desmodesmus* spp, *Monoraphidium*), okrzemki (gl. centryczne), bruzdnice (też *Heterocapsa rotundata*) oraz różne sinice (m.in. *Planktorhrix agardhii*, *Pseudanabena*, *Limnoraphis*, *Merismopedia*, *Aphanocapsa*)

St. 3 - doświadczenie



P. parvum

W próbce nadal obecne pojedyncze komórki *P. parvum* oraz różne gatunki zielenic, okrzemek, trochę sinic.

Konserwacja płynem Lugola
Sedymentacja 2,3 ml;
pow. 400x; Fot. JK

Rycina 27. Dokumentacja fotograficzna prowadzona podczas analiz liczebności złotej algi (*P. parvum*). Zdjęcia wykonano dla prób z 10 oraz 11 sierpnia 2024 r.

Na podstawie przeprowadzonych analiz można stwierdzić, iż w przeprowadzonym eksperymencie SinStop wyraźnie hamuje rozwój komórek *P. parvum*, a jednocześnie nie ogranicza wzrostu innych grup fitoplanktonu, zwłaszcza okrzemek i zielenic.

C) Zmiany liczebności zooplanktonu w trakcie eksperymentu.

Wyniki odnoszące się do oceny taksonomicznej populacji zooplanktonu na 4 analizowanych stanowiskach badawczych przedstawione zostały w dwóch tabelach. Pierwsza (tabela 7) przedstawia analizę wykonaną dla tła eksperymentu – stanowisk zlokalizowanych w bezpośrednim kontakcie ze śluzą, na której prowadzona była właściwa część eksperymentu. Druga (tabela 8) natomiast odnosi się bezpośrednio do 2 komór śluzy Rudziniec, stanowiących właściwą część eksperymentu.

W badanym okresie w wodzie pobranej z czterech stanowisk stwierdzono łącznie dziesięć taksonów wrotków, dwa taksony skorupiaków oraz larwy mięczaków. Taksony odnotowane wśród wrotków dotyczyły przede wszystkim gatunków charakterystycznych dla wód silnie zeutrofizowanych (*Anuraeopsis fissa*, Bdelloidae, *Brachionus angularis*, *Brachionus calyciflorus*, *Brachionus urceolaris*, *Keratella quadrata*, *Proalides tentaculatus*) oraz wód zasolonych (*Brachionus plicatilis*) (Tabela 7). Odnotowane skorupiaki to młodociane formy widłonogów oraz wioślarka z rodzaju *Scapholeberis*. Oprócz typowych przedstawicieli zooplanktonu stwierdzono również występowanie larw mięczaków.

Tabela 7. Wyniki inwentaryzacji zooplanktonu w próbach wody pobieranych ze stanowisk bezpośrednio graniczących ze stanowiskiem eksperymentalnym. Tło 1 – Próby wody pobierane przed śluzą Rudziniec (IV sekcja Kanału Gliwickiego); Tło 2 – Próby wody pobieranej za śluzą Rudziniec (III sekcja Kanału Gliwickiego)

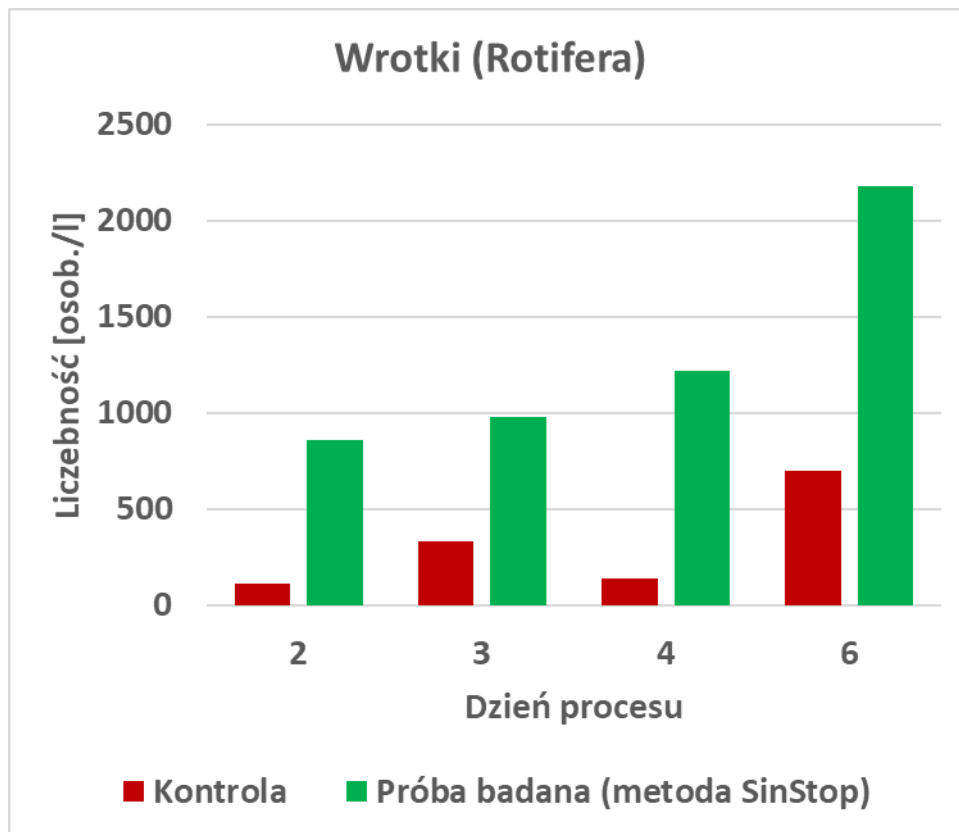
stanowisko	Tło 1	Tło 1	Tło 1	Tło 1	Tło 2	Tło 2
data	07.08.2024	08.08.2024	09.08.2024	10.08.2024	09.08.2024	10.08.2024
Rotifera						
<i>Anuraeopsis fissa</i>	-	-	-	-	20	-
Bdelloidae	140	260	20	30	40	40
<i>Brachionus angularis</i>	10	20	-	-	20	
<i>Brachionus calyciflorus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Brachionus plicatilis</i>	-	-	-	10	100	260
<i>Brachionus urceolaris</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Colurella adriatica</i>	-	-	20	-	20	-
<i>Keratella quadrata</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Proalides tentaculatus</i>	-	-	-	-	720	80
<i>Polyarthra vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-
Crustacea						
Copepoda naupli	-	200	60	60	-	-
Copepoda kopepodit	-	-	10	30	-	-
<i>Scapholeberis</i>	-	-	-	-	-	-
Mollusca						
Veliger/Trochofora	-	-	20	-	440	700

Najwyższą liczebność wrotków (rycina 28) odnotowano na stanowisku poddanym oddziaływaniu środka SinStop, gdzie ich liczebność znacząco wzrosła w trakcie trwania eksperymentu, osiągając maksymalnie 2180 osobników na litr w ostatnim dniu badania. W próbie kontrolnej również zaobserwowano wzrost liczebności wrotków, jednak średnio była ona czterokrotnie niższa niż na stanowisku, na którym zaaplikowano badany preparat. Liczebność wrotków na stanowiskach Tło 1 oraz Tło 2, także była niższa niż na stanowisku badawczym traktowanym SinStop. Skorupiaki na stanowisku badawczym występowały liczniej niż na stanowisku kontrolnym, jednak ich liczebność wykazała trend malejący, podczas gdy na stanowisku kontrolnym, liczebność tych organizmów pozostawała niska przez cały okres eksperymentu (Rycina 29). Na stanowisku Tło 1 odnotowano jednorazowy wzrost liczebności skorupiaków, po czym ich liczebność wróciła do poziomu zbliżonego do obserwowanego na stanowisku poddanym metodzie SinStop. Od 9 sierpnia 2024 roku na wszystkich stanowiskach pojawiły się larwy mięczaków (Rycina 30), przy czym na stanowisku badawczym (metoda SinStop) w ostatnim dniu eksperymentu ich liczebność gwałtownie wzrosła.

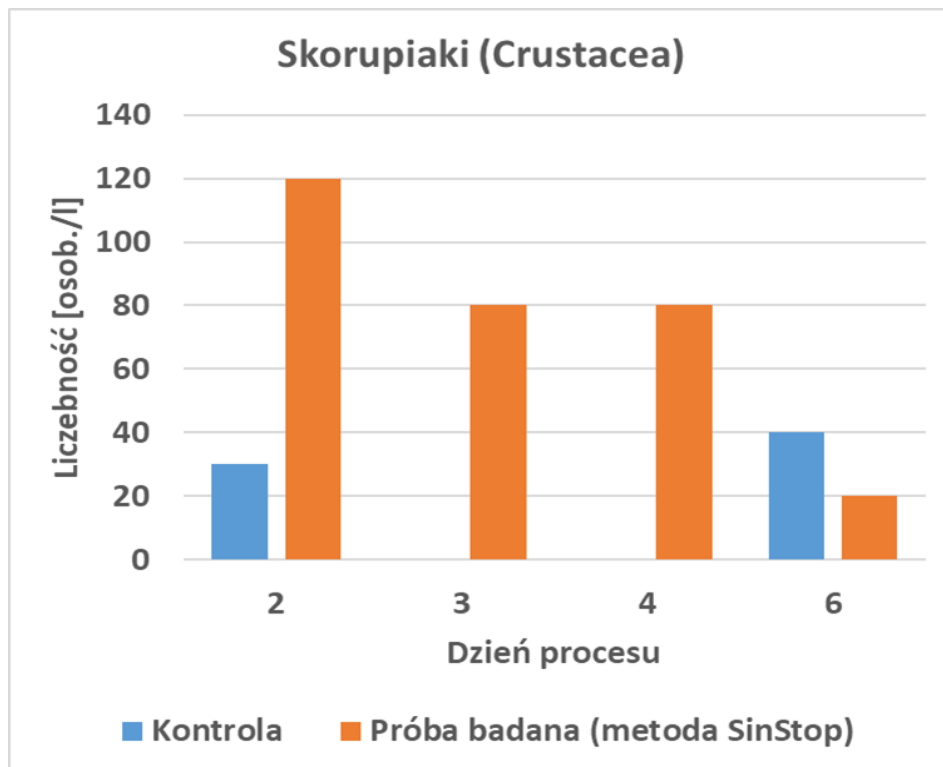
Tabela 8. Skład taksonomiczny zooplanktonu w wodzie pobieranej ze śluzy kontrolnej (kontrola) oraz stanowiska badawczego na którym zastosowano metodę SinStop

stanowisko	Kontrola	Kontrola	Kontrola	Kontrola	Próba badana	Próba badana	Próba badana	Próba badana
data	08.08.2024	09.08.2024	10.08.2024	12.08.2024	08.08.2024	09.08.2024	10.08.2024	12.08.2024
Rotifera								
<i>Anuraeopsis fissa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
Bdelloidae	-	80	20	-	60	120	120	140
<i>Brachionus angularis</i>	30	10	-	-	300	40	400	720
<i>Brachionus calyciflorus</i>	-	-	-	-	-	20	20	
<i>Brachionus plicatilis</i>	50	30	60	680	20	40	80	620
<i>Brachionus urceolaris</i>	-	-	-	-	20	40	-	-
<i>Colurella adriatica</i>	-	10	-	-	-	-	-	60
<i>Keratella quadrata</i>	-	-	-	-	-	-	20	-
<i>Proalides tentaculatus</i>	30	200	60	20	440	700	560	520
<i>Polyarthra vulgaris</i>	-	-	-	-	20	20	20	120
Crustacea								
Copepoda nauplii	30	-	-	-	120	60	40	20
Copepoda kopepodit	-	-	-	-		20	40	-
<i>Scapholeberis</i>	-	-	-	40	-	-	-	-
Mollusca								
Veliger/Trochofora	-	60	60	600	-	460	440	6400

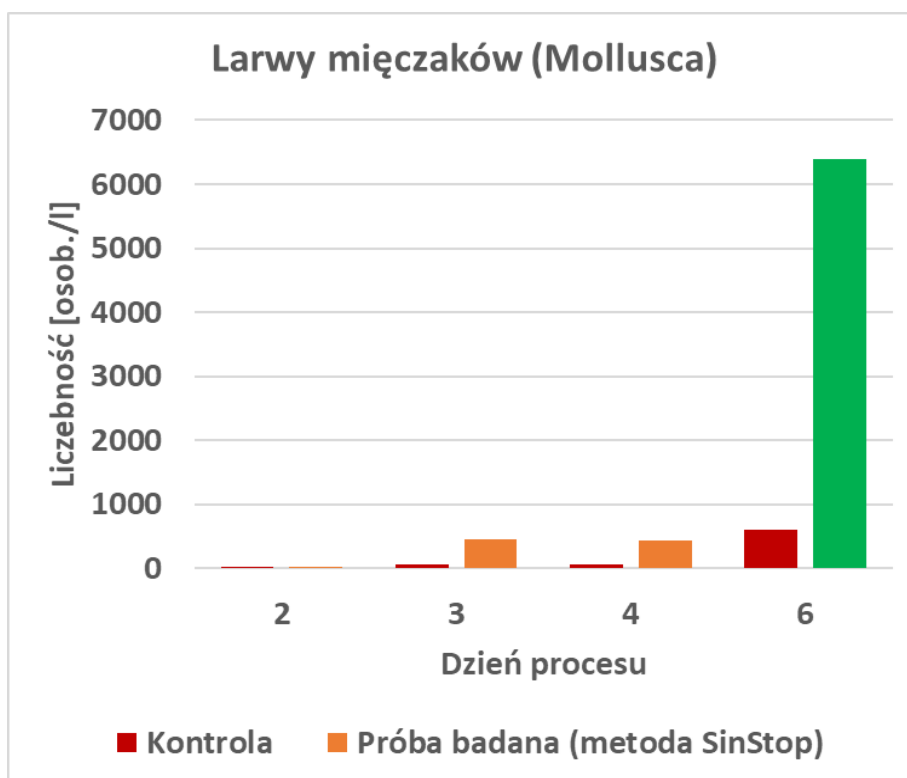
Większość zidentyfikowanych taksonów to organizmy filtrujące wodę, które odżywiają się fitoplanktonem, detrytusem i bakteriami. Wzrost ich liczebności przyczynia się do procesu samooczyszczania wód, ponieważ organizmy te usuwają zawiesinę organiczną i mikroorganizmy z toni wodnej. Duża liczebność tych organizmów może wskazywać na obfitość zasobów pokarmowych w środowisku, co z kolei świadczy o odpowiednich warunkach ekologicznych dla rozwoju planktonu. Zastosowany preparat na stanowisku badawczym sprzyjał znacznemu wzrostowi liczebności wrotków, co może sugerować jego wpływ na zwiększenie dostępności pokarmu lub poprawę warunków środowiskowych. Dodatkowo, preparat ten mógł stymulować uwalnianie larw mięczaków, co jest istotnym zjawiskiem z punktu widzenia dynamiki populacji tych organizmów. Należy jednak zauważyć, że tak znaczny wzrost liczebności larw mięczaków na stanowisku badawczym poddanym metodzie SinStop w porównaniu do pozostałych stanowisk mógł być związany z różnicami w składzie gatunkowym i/lub liczebnością dorosłych osobników na tym stanowisku.



Rycina 28. Wykres prezentujący liczebność wrotków w próbkach wody pobieranych ze śluz biorących udział w eksperymencie.



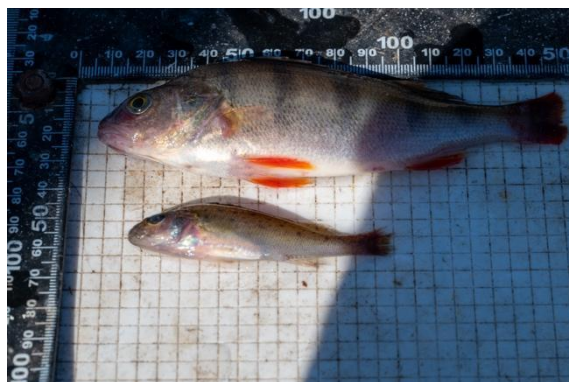
Rycina 29. Wykres prezentujący liczebność skorupiaków zooplanktonowych w próbkach wody pobranych ze śluz biorących udział w eksperymencie.



Rycina 30. Wykres prezentujący liczebność larw mięczaków w próbkach wody pobranych ze śluz biorących udział w eksperymencie.

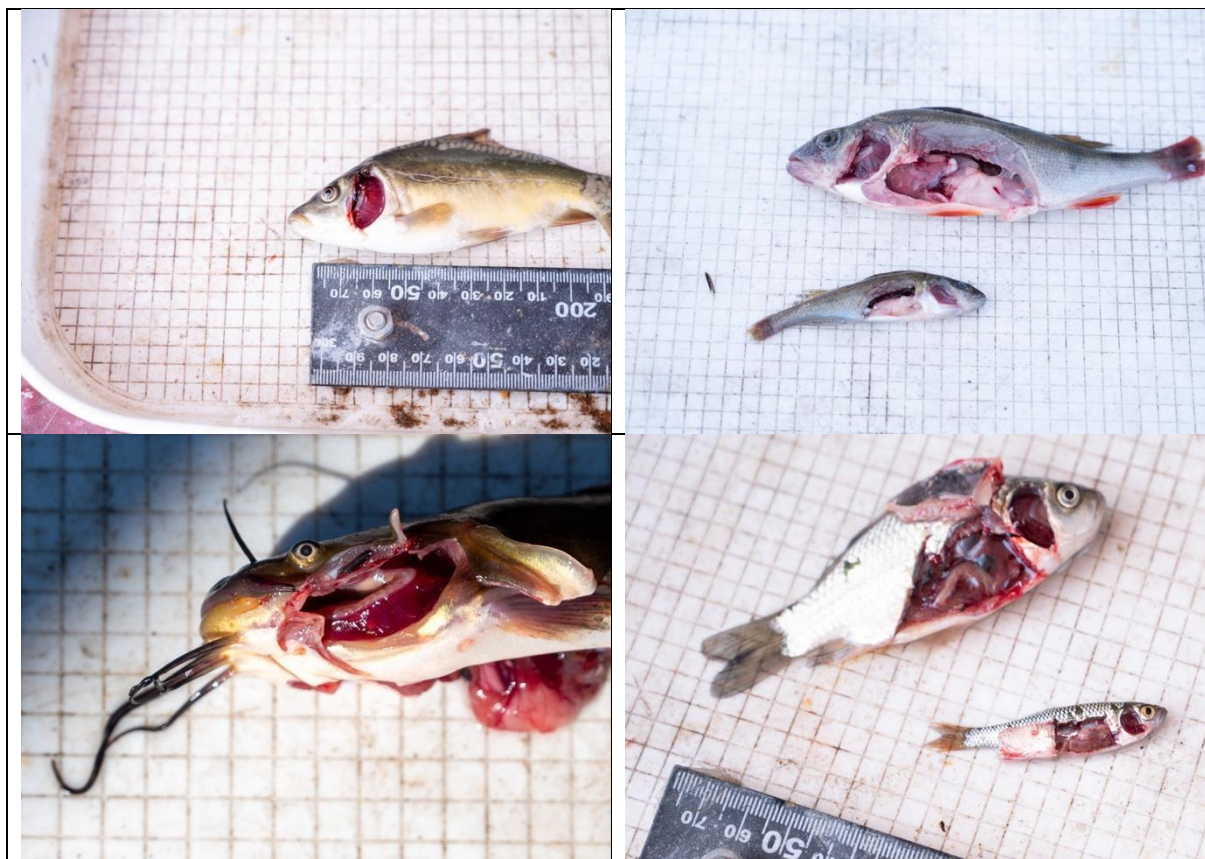
D) Wyniki badań ichtiologicznych.

Omawiając badania ichtiologiczne zacząć należy od oceny grupy testowej, która umieszczona została w pułapkach na śluzie, do której aplikowano preparat SinStop. W grupie doświadczalnej ryb nie zaobserwowano występowania śnieć. Po zakończeniu doświadczenia ryby były w dobrej kondycji pomimo prowadzonych manipulacji - podnoszenia z dna śluz na wysokość około 9 m. Jedyne stwierdzone zmiany na ciele dotyczyły okonia i jazgarza u których odnotowano ubytek płetw ogonowych (prawa plansza ryc. 31), który był zapewne spowodowany atakami sumików karłowatych, ponieważ ryby te były przetrzymywane w jednej klatce. U niektórych ryb widoczne były również drobne otarcia skóry wynikające z ocierania się o siatkę klatki w trakcie podnoszenia klatki. Ze względu na warunki techniczne śluz procedury tej niestety nie udało się zoptymalizować tak, aby do sytuacji takich nie dochodziło. Na rybach nie odnotowano pokrycia ciała nadmierną ilością śluzu, co mogłoby wskazywać na drażniące działanie preparatu.



Rycina 31. Karasie srebrzyste, okoń i jazgarz po zakończeniu eksperymentu.

Makroskopowy ogląd skrzeli i narządów wewnętrznych nie wykazały również niepokojących zmian. Skrzela ryb były jedynie lekko przekrwione, co mogło być efektem procesu eutanazji ryb. Nie zaobserwowano uszkodzeń zlepiania się wyznaczników czy pokrycia zwiększoną ilością śluzu, co mogłoby świadczyć o drażniącym działaniu preparatu na układ oddechowy ryb. Również po otwarciu jamy ciała na narządach wewnętrznych mięśniach i otrzewnej nie obserwowano zmian mogących wskazywać na działanie preparatu w sposób bezpośredni lub pośredni np. poprzez autointoksykację amoniakiem na skutek uszkodzenia komórek skrzelowych odpowiedzialnych za wymianę tego gazu. Potwierdza to zatem wyniki badań weterynaryjnych uzyskanych w maju bieżącego roku (załącznik do raportu).



Rycina 32. Wygląd skrzel oraz narządów wewnętrznych ryb po zakończeniu eksperymentu.

Obserwacje dodatkowe - Połowy ryb

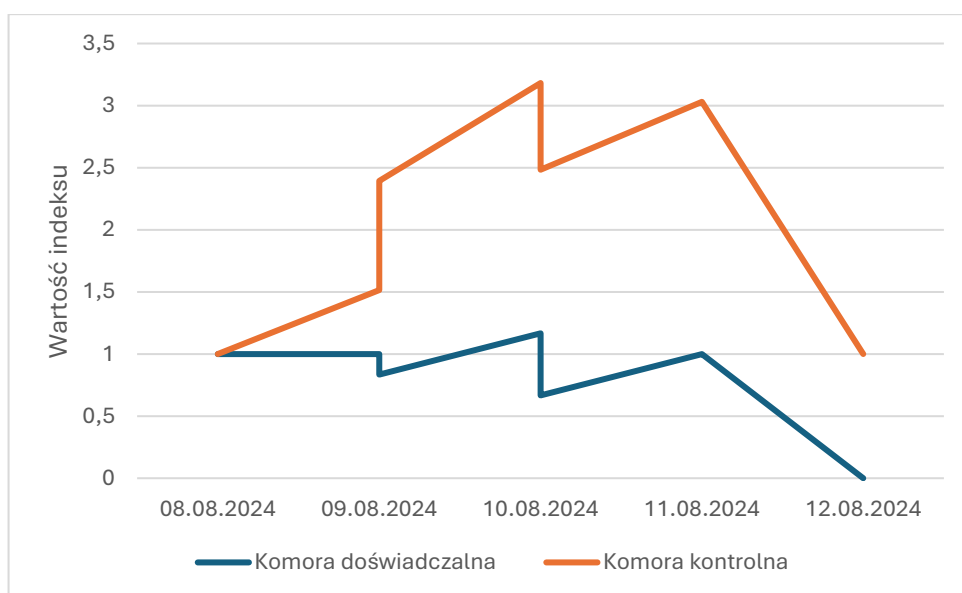
Prowadzone dodatkowo w służbie badawczej połowy wykazały obecność ryb, które prawdopodobnie zostały zassane w czasie nabierania wody. Wyniki prowadzonych połowów zestawiono w tabeli 9. W pułapkach przez cały okres prowadzenia połowów nie odnotowano martwych ryb.

Tabela 9. Inwentaryzacja żywych gatunków ryb odławianych z komory badawczej, na której zastosowano metodę SinStop.

Gatunek	08.08.2024	09.08.2024	10.08.2024	11.08.2024	12.08.2024	Łącznie
Sumik karłowaty	3		1			4
Karaś srebrzysty	5	4	1	7	4	21
Ciernik	14				7	21
Karp					1	1
Rak pręgowaty					1	1
Łącznie	22	4	2	7	13	48

Obserwowana śmiertelność ryb

W obu komorach obserwowano występowanie samoistnych śnięć wśród znajdujących się tam ryb. Na podstawie przeprowadzonych obliczeń martwych unoszących się na powierzchni wody osobników stwierdzono, że w komorze badawczej śnięcia były istotnie mniejsze niż w komorze kontrolnej - test U Manna-Whitneya, $Z=-2,43$, $p=0,015$. Obserwowany wynik w postaci indeksu przedstawiony został na wykresie rycina 33. Dane źródłowe wykorzystane do obliczeń zawarte zostały natomiast w tabeli 10.



Rycina 33. Liczba obserwowanych śniętych ryb w czasie poszczególnych liczeń przedstawiona w formie indeksów jednopostaciowych

Tabela 10. Liczba obserwowanych śnięć ryb w komorach śluży Rudziniec.

Data	Próba badana (metoda SinStop)	Próba kontrolna
08.08.2024	6	33
09.08.2024	6	50
09.08.2024	5	79
10.08.2024	7	105
10.08.2024	4	82
11.08.2024	6	100
12.08.2024	0	33
Średnia	4,9	68,9

E) Wyniki analiz emisji toksyn z grupy prymnezyn do wody.

Wyniki analiz chromatograficznych, skierowanych na oznaczenie obecności oraz analizę stężenia toksyn emitowanych przez komórki *P. parvum*, przedstawione zostały w tabeli 11.

Tabela 11. Wyniki oznaczania stężenia prymnezyn (PRM) w dostarczonym materiale
Poszczególne warianty prymnezyn zostały oznaczone wg ich masy cząsteczkowej: PRM980 (1 x Cl⁻ + 2 heksozy) jako 1980,89; PRM818 (1 x Cl⁻ + 1 heksoza) jako 1818,84 oraz PRM656 (1 x Cl⁻) jako 1656,78. t – ilości śladowe.

Próba	Data	Typ próby	Sączona objętość	PRM980	PRM818	PRM656	Suma
Tło 1	07.08.2024	Przesącz	0,1	0	0	0	0
Tło 1	07.08.2024	Sączek	0,3	0	0	0	0
Kontrola	09.08.2024	Przesącz	0,1	0	0	0	0
Kontrola	11.08.2024	Przesącz	0,1	t	t	t	t
Kontrola	11.08.2024	Sączek	0,3	0,02	0,03	0,06	0,11
P. badana	09.08.2024	Przesącz	0,1	0	0	0	0
P. badana	11.08.2024	Przesącz	0,1	0	0	0	0
P. badana	11.08.2024	Sączek	0,3	0,01	t	t	0,01

Dane przedstawione w powyższej tabeli wskazują, że aplikacja preparatu prowadzi do zahamowania emisji toksyn do toni wodnej. W próbie przesączanej wody, pobranej z komory badawczej, do której aplikowano preparat, nie zanotowano obecności żadnej formy oznaczanych toksyn. Na sączku pochodzącym z tej samej próby obserwowano jedynie śladowe ilości mogące być pozostałością zneutralizowanych komórek. W próbie kontrolnej natomiast w przesączu, obecność toksyn zawierała się na oznaczalnym poziomie. Wskazuje to na większe prawdopodobieństwo wystąpienia interakcji między toksyną a organizmami wyższymi, czego następstwa można było obserwować przy analizach ichtiologicznych. Znacznie wyższe stężenia obserwowano także na powierzchni sączka, pochodzącego z próby kontrolnej, w tym przypadku obecność toksyn była na tyle duża, że możliwe było określenie jej stężenia.

Następstwem wskazanej informacji jest fakt, iż aplikacja preparatu SinStop może przyczynić się do znaczącego ograniczenia ryzyka emisji badanych toksyn do środowiska wodnego. Specyficzna forma preparatu oraz jego działanie może prowadzić do immobilizacji i neutralizacji komórek *P. parvum* czego skutkiem może być ograniczenie ryzyka wystąpienia toksycznego efektu w środowisku wodnym.

Po zakończeniu eksperymentu, kierując się uzyskanymi wynikami badań, przeprowadzono dodatkową analizę. Polegała ona na weryfikacji wpływu koncentracji toksyn na wystąpienie letalnego oddziaływania na ryby. W tym celu do analiz laboratoryjnych, skierowano dodatkowe próby badawcze, pobrane z IV sekcji Kanału Gliwickiego przy silnym zakwicie złotej algi. W trakcie poboru na obiekcie obserwowano liczne śnięcia ryb. Stworzyło to możliwość do

poboru również materiału tkankowego z nieżywych ryb. Wykaz prób skierowanych do analizy poziomu toksyn, wraz z uzyskanymi wynikami, przedstawiony został w tabeli 12.

Tabela 12. Wyniki oznaczania stężenia prymnezyn (PRM) w dostarczonym materiale
Poszczególne warianty prymnezyn zostały oznaczone wg ich masy cząsteczkowej: PRM980 (1 x Cl+ 2 heksozy) jako 1980,89; PRM818 (1 x Cl+ 1 heksoza) jako 1818,84 oraz PRM656 (1 x Cl) jako 1656,78. t – ilości śladowe.

Próba	Data	Typ próby	Sączona objętość	PRM980	PRM818	PRM656	Suma
Sekcja IV KG	15.08.2024	Przesącz	0,1	0	0	0	0
Sekcja IV KG	15.08.2024	Przesącz	0,1	0	0	0	0
Sekcja IV KG	15.08.2024	Sączek	0,3	t	t	t	t
Sekcja IV KG	15.08.2024	Sączek	0,3	t	t	t	t
Karaś srebrzysty	15.08.2024	Tkanka skrzela	0,5	t	t	0	t
Karaś srebrzysty	15.08.2024	Tkanka skrzela	0,5	0.02	t	0	0.02
Karaś srebrzysty	15.08.2024	Tkanka skrzela	0,5	0	0	0	0
Karaś srebrzysty	15.08.2024	Tkanka skrzela	0,5	0	0	0	0
Karaś srebrzysty	15.08.2024	Tkanka skrzela	0,5	0	0	0	0
Kromp	15.08.2024	Tkanka skrzela	0,5	t	t	t	t
Wzdreğa	15.08.2024	Tkanka skrzela	0,5	0.13	0.05	0.02	0.21

Analizując dane, znajdujące się w tabeli 12, zauważyć można, że pomimo niskiej koncentracji oznaczanych form toksyn w toni wodny (brak stwierdzonej obecności w przesączach wody i obecność na granicy oznaczalności na sączkach), na obiekcie wystąpiło intensywne śnięcie ryb. Badania tkanek pobranych ze skrzeli martwych ryb wskazały na oznaczalną obecność prymnezyn w 4 z 7 badanych osobników. Przy czym, w jednym z analizowanych przypadków stężenia wykrywanych związków były na wysokim poziomie – tkanka wzdreği.

Jedną z interpretacji, nasuwających się w oparciu o omawiane dane, jest identyfikacja potencjalnego mechanizmu działania toksyn w środowisku. Nagromadzenie tych związków w tkankach skrzeli ryb, może być przejawem punktowej aktywności komórek złotej algi, które pod wpływem przedostania się wraz z wodą do organów oddechowych ryb, mogą ulegać koncentracji lub w inny sposób generować letalne oddziaływanie na ichtiofaunę. Konsekwencją interakcji o nadmienionej specyfice jest hipoteza mówiąca, że wystąpienie pewnego poziomu liczebności populacji komórek o określonych cechach morfologicznych, w obrębie danej objętości wody może mieć większe znaczenie niż samo stężenie oznaczanych toksyn w wodzie. Zebrane dane, wskazują również na potencjalną możliwość wystąpienia innych mechanizmów oddziaływania zakwitu na ryby. W 3 próbach spośród 7 analizowanych osobników nie wykryto obecności prymnezyn. Wąski zakres danych w rozważanym zagadnieniu nie pozwala jednak na dalszą interpretację łańcucha przyczynowo skutkowego. Uzyskana obserwacja stanowi jednak podstawę do kierunkowania dalszych badań, które należało by rozszerzyć w celu pełniejszego zrozumienia zjawisk odpowiadających za powstawanie katastrof ekologicznych.

4.2.3. Obserwacje ogólne i komentarz do przeprowadzonych badań

Realizacja eksperymentu w warunkach operacyjnych pozwoliła na dokonanie dodatkowych obserwacji odnoszących się do stosowania metody SinStop. W pierwszej kolejności zaznaczyć należy, że podczas obu etapów eksperymentu nie stosowano żadnych dodatkowych zabiegów technicznych (mieszanie, napowietrzanie itp.). Ocena działania metody dotyczy jedynie stosowania testowanych wariantów metody SinStop.

Po drugie istotne jest również wskazanie metody aplikacji. Realizowana była ona przy udziale personelu technicznego, składającego się z 2-3 osób w zależności od etapu prowadzonych prac. Sama procedura aplikacyjna wiąże się z zaangażowaniem stosunkowo niewielkiego personelu. Warto dodać także, że preparat aplikowany był powierzchniowo z wykorzystaniem prostych zasobów technicznych, zapewniających skuteczną dyspersję aplikowanego środka na powierzchnię wody. Z punktu widzenia operacyjnego, tego rodzaju aplikację prowadzić można zarówno z brzegu zbiornika jak i pokładu jednostki pływającej.

Specyficzne właściwości testowanego preparatu, prowadzą do wywołania efektu zmętnienia wody. Efekt ten ma znaczenie użytkowe, ponieważ dłuższe utrzymywanie się cząstek w lustrze wody oznacza tym samym dłuższy czas aktywnego działania środka w środowisku. Jednocześnie wskazać należy, iż w świetle uzyskanych wyników, omawiany efekt nie wywarł żadnego zantowanego, negatywnego oddziaływania na środowisko (w tym na organizmy zwierzęce objęte oceną). Czas wspomnianego efektu podtrzymania kontaktu preparatu z tonią wody zależny jest w dużej mierze od fizycznych i chemicznych parametrów wody. Duży poziom zasolenia oraz wysoka koncentracja tlenu rozpuszczonego w wodzie ma dodatni wpływ na wydłużenie działania omawianego efektu. Z punktu widzenia specyfiki wód silnie zeutrofizowanych oznacza to, że preparat w takim środowisku wykazywał będzie tendencję do długiego czasu działania.

Po zakończeniu drugiego etapu eksperymentu, wykonawcy badań poddali służę kontrolną dodatkowemu procesowi oczyszczenia z użyciem preparatu SinStop. Celem tego zabiegu była pełna neutralizacja następstw realizacji procedury badawczej. Służa kontrolna wykazała tendencję do generowania śniecia ryb oraz gwałtownego rozwoju populacji złotej algi. Z tej przyczyny podjęta została decyzja, aby również w tym przypadku (po zakończeniu właściwej części badań) do służy zaaplikować preparat SinStop. Efektem zastosowanego przedsięwzięcia była wizualna poprawa jakości wody w służy oraz całkowite zahamowanie poeksperymentalnych śnieć ryb w całym obiekcie (obu służach). Uzyskany efekt uznać należy za czynnik wspierający wnioski uzyskane w trakcie realizacji opisywanych w niniejszym raporcie badań.

W doświadczeniu wykorzystana została forma preparatu przeznaczona do bezpośredniej, powierzchniowej aplikacji na powierzchnię wody. Istnieją również inne warianty preparatu przeznaczone do zastosowań w roli złóż filtracyjnych, złóż do stabilizacji dna zbiorników wodnych oraz złóż do ewentualnej produkcji elementów infrastruktury hydrotechnicznej takich jak półprzepuszczalne zapory, progi wodne lub materiały stabilizujące linię brzegową. Tego rodzaju formy zastosowania nie były przedmiotem niniejszego raportu,

jednakże wstępne testy realizowane w wewnętrznym zespole naukowym, wskazują, iż mogą posiadać one równie pozytywne działanie jak wariant stanowiący przedmiot omawianego raportu. Mnogość dostępnych wariantów oznacza, że możliwe jest dostosowanie omawianej technologii do wielu rzeczywistych sytuacji. Kontekst zastosowania preparatu, w opisywanym w raporcie przypadku, doskonale wpisuje się w zastosowania przy realizacji prewencyjnej rekultywacji zbiorników i cieków. Ponadto, środek może być użyty również w roli czynnika neutralizującego istniejące lub rozwijające się zakwity złotej algi lub sinic. Zastosowanie o takim charakterze doskonale odpowiada na obecnie występujące zapotrzebowanie na efektywne narzędzia, których wdrożenie jest realne do implementacji w pełnej skali operacyjnej.

Działanie indukujące procesy samooczyszczania się wody, połączone z aktywnością usuwającą substancje biogenne z wody ma natomiast charakter zapobiegawczy i może przyczynić się do zmniejszenia ryzyka rozwijania się zakwitów w szerszej perspektywie czasowej. Tego typu aktywność stanowi o innowacyjności prezentowanej technologii. Wstępna ocena rynku wykazała, że wskazane powyżej właściwości użytkowe metody SinStop, są unikatowe i nie mają potwierdzenia przy użyciu innych środków.

Ponadto inne warianty preparatu mogą również stanowić podstawę do wdrażania rozwiązań działających u źródła problemu toksycznych zakwitów w środowisku wodnym. Montaż infrastruktury częściowo lub całkowicie opartej na rozwiązaniach związanych z technologią SinStop może w przyszłości odegrać istotną rolę w realizacji ogólnych założeń Ramowej Dyrektywy Wodnej.

5. Podsumowanie i rekomendacje

Podsumowując, uzyskane wyniki badań wskazały na jednoznacznie pozytywny wpływ zastosowania metody SinStop na środowisko wodne. Dzięki kompleksowej realizacji badań w interdyscyplinarnym składzie naukowców i specjalistów z licznych jednostek naukowych, możliwe stało się dokonanie szerokiej oceny badanej metody w wielu zakresach. Do najważniejszych obserwacji uzyskanych w trakcie badań zaliczyć można:

A) Pozytywny wpływ na fizyczne i chemiczne parametry wody.

Analizy fizyko-chemiczne wody pozwoliły na obserwację pozytywnych zmian parametrów środowiskowych, zachodzących pod wpływem aplikacji preparatu SinStop. Do uzyskanych efektów zaliczyć można: obniżenie pH, indukcję trendu skierowanego na obniżanie zawartości tlenu rozpuszczonego w wodzie (przy przesyleniu wody tlenem), spadek stężenia chlorofilu „a” i fikocyjaniny oraz zmniejszenie koncentracji pierwiastków biogenych w wodzie. Zjawiska o takim charakterze sugerują, że preparat posiada działanie wpisujące się w ogólne procesy mogące redukować zakwity glonów w tym złotej algi.

B) Aktywny udział w hamowaniu rozwoju zakwitu złotej algi (*P. parvum*).

Wyniki badań liczebności *P. parvum* wskazały na znaczące ograniczenie liczby komórek tego mikroorganizmu w wodzie poddanej działaniu preparatu, w porównaniu do prób

kontrolnych. Działanie miało charakter redukujący rozwój zakwitu i przyczyniło się w efekcie do znaczącego spadku ryzyka środowiskowego w obrębie testowanego obiektu.

C) Wpływ na bezkręgowce.

Badania zooplanktonu wykazały, że zastosowanie metody SinStop sprzyjało wzrostowi liczebności wrotków, które odgrywają istotną rolę w procesie samooczyszczania wód. Stwierdzono również wzrost liczebności larw mięczaków, co może świadczyć o pozytywnym wpływie metody na ogólny stan środowiska wodnego. W trakcie badań oceniono również wpływ preparatu na jednego osobnika raka pręgowatego, który przetrwał eksperyment nie wykazując żadnych negatywnych efektów.

D) Brak negatywnego wpływu na ichtiofaunę oraz redukcja śnięcia ryb.

W badaniach ichtiologicznych stwierdzono tylko pojedyncze śnięcia ryb w komorze badawczej, co potwierdza bezpieczeństwo metody dla ichtiofauny. Wskazany efekt ma również charakter prewencyjny, ponieważ w próbie kontrolnej, w trakcie eksperymentu śnięcia ryb osiągały znaczne wartości. W komorze badawczej ryby po zakończeniu eksperymentu były w dobrej kondycji, a uszkodzenia płetw odnotowane u niektórych osobników były wynikiem naturalnych interakcji między drapieżnikami.

E) Ograniczenie ryzyka emisji toksyn z grupy prymnezyn do środowiska wodnego.

Jedną z ważniejszych obserwacji uzyskanych w trakcie badań był brak toksyn w przesączu wodnym w komorze badawczej. Toksynę wykryto jedynie w śladowych ilościach na sączku pochodzącym z tej komory. Obecność toksyn notowana była natomiast w komorze kontrolnej, w której obserwowano równocześnie śnięcia ryb. Oznaczane stężenia toksyn na sączkach z komory kontrolnej również były na znacznie wyższym, oznaczalnym poziomie. W efekcie dane te wskazują, iż stosowanie preparatu SinStop może przyczyniać się do zmniejszenia ryzyka emisji toksyn do środowiska wodnego.

Wnioski końcowe i rekomendacje.

Metoda SinStop wykazała wysoką skuteczność w zwalczaniu zakwitu złotych alg i sinic, przy jednoczesnym zachowaniu bezpieczeństwa dla środowiska wodnego. Wskazany efekt osiągnięty został poprzez wielopoziomowe działanie, łączące bezpośredni wpływ na hamowanie rozwoju złotej algi oraz sinic i stymulację procesów określanych jako samooczyszczanie wody. Zaznaczyć należy także, że aktywność preparatu stanowiącego przedmiot opracowania przebiegała w sposób zrównoważony. Dzięki zdolności do niewielkiej modyfikacji warunków środowiskowych, rezultaty końcowe stosowania metody nie generują niepożądanych zmian w ekosystemie. Cecha ta, zaraz obok efektywności preparatu, powinna być zatem uznana jako jeden z kluczowych atutów opisywanej metody.

Opierając się na opisywanych powyżej wynikach, rekomenduje się wdrożenie metody SinStop na większą skalę, zwłaszcza w miejscach zagrożonych zakwitami glonów. Metoda może przyczynić się do ograniczenia ryzyka śnięcia ryb. Może odegrać również istotną rolę w praktycznej realizacji celów Ramowej Dyrektywy Wodnej, prowadząc w efekcie do poprawy

dobrostanu wód śródlądowych na terenie Polski. Zapotrzebowanie na dostępność metod o opisywanym charakterze jest przedmiotem wielu opracowań naukowych, co jednoznacznie podnosi jej walor aplikacyjny [Wiering i in. 2020; Santos i in. 2021].

W celu pełnego wykorzystania potencjału użytkowego opracowanego rozwiązania, rekomendowane jest przyjęcie kompleksowej strategii postępowania, która może przyczynić się do realizacji celu operacyjnego, skierowanego na zwalczanie zakwitu glonów, w tym złotych alg i sinic. Opracowany kierunek wykorzystujący potencjał metody SinStop, w lokacjach takich jak Kanał Gliwicki, w kontekście kolejnych fal śnięcia ryb, może być uważany za kluczową strategię ograniczającą ryzyko wystąpienia przyszłych katastrof ekologicznych. Aby przeciwdziałać tego rodzaju negatywnym zjawiskom zaleca się zatem:

1. **Stosowanie prewencyjne** – rozwiązanie polegające na cyklicznym dawkowaniu preparatu jako element procedury śluzowania bądź czynnik ograniczający ryzyko zakwitu w obrębie zlewni wód powierzchniowych. Wskazane rozwiązanie może zapobiegać przedostawaniu się algi na kolejne sekcje Kanału Gliwickiego poprzez obniżenie jej liczebności i hamowanie rozwoju populacji. W przypadku aplikacji na zlewniach wód trafiających do kanału, celem byłoby obniżenie poziomu biogenów w wodzie i ograniczenie ryzyka powstania zakwitu u źródła jego powstawania.
2. **Stosowanie punktowe, neutralizacja zakwitów** – aplikacja punktowa. W tym przypadku stosowanie preparatu odbywałoby się w miejscach w którym populacja złotej algi osiąga wartości wskazujące na ryzyko wystąpienia katastrofy ekologicznej przejawiającej się śnięciem ryb. Rozwiązanie to, z ekonomicznego punktu widzenia jest najmniej kosztochłonne, co wynika z niskiego zużycia produktu, mniejszego zaangażowania zasobów ludzkich oraz niższego zapotrzebowania sprzętowego. Rekomendowane jest ono przy niskim poziomie ryzyka zakwitu i wymaga ciągłego monitorowania środowiska w celu wyboru właściwego terminu aplikacji.
3. **Stosowanie pełnowymiarowe** – rozwiązanie polegające na zastosowaniu preparatu na dużych obszarach będących w trakcie zakwitu algi lub bezpośrednio przed jego rozpoczęciem. Metoda ta może zapewnić najwyższy poziom efektywności działania, ponieważ poza bezpośrednim wpływem na spadek liczebności złotej algi, prowadzić będzie do stymulacji naturalnych mechanizmów samooczyszczania wody. Wymaga ona dużego zaangażowania sprzętowego, materiałowego oraz szybkiej decyzyjności. Jest to rozwiązanie o charakterze rekultywacyjnym i powinno być objęte odrębnym schematem postępowania.
4. **Tworzenie ostoi** – Zakłada, że w wypadku zajścia niekontrolowanego i gwałtownego zakwitu złotej algi należy jak najszybciej określić miejsca (starorzecza, mariny, zalewiska), w których należy podać wysoką dawkę preparatu SinStop tworząc w ten sposób lokalizacje, w których będą mogły się schronić organizmy narażone na negatywne oddziaływanie toksyn. Model wymaga precyzyjnej selekcji miejsca aplikacji.

Wszystkie te modele determinują różną kosztochłonność materiałową w związku, z czym rekomenduje się utworzenie magazynów z preparatem (zasób gwarantujący dostępność) i stosowanie go w sposób zaadaptowany do indywidualnego przypadku. Zabezpieczenie rezerwy materiałowej w sytuacjach awaryjnych, takich jak przypadek jeziora Dzierżno Duże może przyczynić się do znaczącego ograniczenia ryzyka występowania przyszłych katastrof

ekologicznych. Działanie to jest również podyktowane deklarowaną przez producenta, dzienną wysokością produkcyjną preparatu SinStop.

6. Wykaz literatury

- Andrzej Górniak, Zdzisław Kajak (2023). *Hydrobiologia Limnologia*. Wydawnictwo Naukowe PWN SA
- Busari, I., Sahoo, D., Sudheer, K. P., Harmel, R. D., Privette, C., Schlautman, M., & Sawyer, C. (2024). Investigating the influence of measurement uncertainty on chlorophyll-a predictions as an indicator of harmful algal blooms in machine learning models. *Ecological Informatics*, 82, 102735.
- Karlson, B., Andersen, P., Arneborg, L., Cembella, A., Eikrem, W., John, U., ... & Suikkanen, S. (2021). Harmful algal blooms and their effects in coastal seas of Northern Europe. *Harmful Algae*, 102, 101989.
- Maria Prost (1980). *Choroby ryb*. PWRIL
- Mazur-Marzec, H., Konkel, R., Gaffke, L., Pierzynowska, K., Cyske, Z., Grabowski, Ł., ... & Węgrzyn, G. (2023). Genotypic and chemotypic characteristics of *Prymnesium parvum* from the Odra River. Laboratory of Marine Biotechnology.
- Pastorino, P., Broccoli, A., Bagolin, E., Anselmi, S., Cavallo, A., Prearo, M., & Renzi, M. (2021). A multidisciplinary approach to evaluate the effects of contaminants of emerging concern on natural freshwater and brackish water phytoplankton communities. *Biology*, 10(10), 1039.
- Santos, J. I., Vidal, T., Gonçalves, F. J., Castro, B. B., & Pereira, J. L. (2021). Challenges to water quality assessment in Europe—Is there scope for improvement of the current Water Framework Directive bioassessment scheme in rivers?. *Ecological Indicators*, 121, 107030.
- Sobieraj, J., & Metelski, D. (2023). Insights into toxic *Prymnesium parvum* blooms as a cause of the ecological disaster on the Odra River. *Toxins*, 15(6), 403.
- Varga, E., Prause, H. C., Riepl, M., Hochmayr, N., Berk, D., Attakpah, E., ... & Marko, D. (2024). Cytotoxicity of *Prymnesium parvum* extracts and prymnesin analogs on epithelial fish gill cells RTgill-W1 and the human colon cell line HCEC-1CT. *Archives of Toxicology*, 98(3), 999-1014.
- Wagstaff, B. A., Pratscher, J., Rivera, P. P. L., Hems, E. S., Brooks, E., Rejzek, M., ... & Field, R. A. (2021). Assessing the toxicity and mitigating the impact of harmful *Prymnesium* blooms in eutrophic waters of the Norfolk Broads. *Environmental Science & Technology*, 55(24), 16538-16551.
- Wang, J., Wang, Z., Cui, Y., & Yan, S. (2022). Dynamic monitoring of phycocyanin concentration in Chaohu Lake of China using Sentinel-3 images and its indication of cyanobacterial blooms. *Ecological Indicators*, 143, 109340.
- Wen, Z., Shang, Y., Song, K., Liu, G., Hou, J., Lyu, L., ... & He, D. (2022). Composition of dissolved organic matter (DOM) in lakes responds to the trophic state and phytoplankton community succession. *Water Research*, 224, 119073.

- Wiering, M., Liefferink, D., Boezeman, D., Kaufmann, M., Crabbé, A., & Kurstjens, N. (2020). The wicked problem the water framework directive cannot solve. The Governance approach in dealing with pollution of nutrients in surface water in the Netherlands, Flanders, Lower Saxony, Denmark and Ireland. *Water*, 12(5), 1240.

7. Lista załączników

- I. Raport 1 – „Opracowanie wyników badań dotyczących możliwości użycia preparatu SinStop w procesach oczyszczania środowiska wodnego”, dr Dariusz Włóka, GreenBack sp. z o.o.;
- II. Raport 2 – „Badanie wpływu preparatu oczyszczającego SinStop na wybrane parametry wody jeziornej”, praca zbiorowa pod kier. dr inż. Michała Łopaty, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie;
- III. Raport 3 – „Sprawozdanie z badań laboratoryjnych nad wpływem preparatu Sinstop na stan zdrowotny karasia srebrzystego”, Raport z badań zawiera opinię Wojewódzkiego Inspektoratu Weterynarii, dr hab. inż. Bogdan Wziątek, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie;
- IV. Raport 4 – „Ocena wpływu wysokich dawek preparatu Sinstop na ryby” dr hab. inż. Bogdan Wziątek, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.