

Grażyna OBIDOSKA, Michał KALINOWSKI, Zbigniew KARACZUN

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Wydział Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu
ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa
e-mail: grazyna_obidoska@sggw.pl

Toksyczność i genotoksyczność wód Wisły w Warszawie przed i po uruchomieniu układu przesyłowego ścieków do oczyszczalni Czajka

Oceniono toksyczność i genotoksyczność próbek wody z Wisły pobranych w 6 wybranych punktach Warszawy za pomocą testu bioindykacyjnego z wykorzystaniem cebuli *Allium cepa*. Badania przeprowadzono przed i po uruchomieniu układu przesyłowego ścieków z lewo-brzeżnej Warszawy do oczyszczalni Czajka (lata 2011 i 2013). Wyniki wskazały na zdecydowaną poprawę stanu wód w 2013 roku. Żadna z badanych próbek wody nie powodowała zahamowania wzrostu korzeni cebuli ani spadku wartości indeksu mitotycznego. Obserwowano natomiast stymulację wzrostu, czego przyczyną może być większa zawartość pierwiastków biogennych w porównaniu z próbką kontrolną, którą stanowiła woda wodociągowa. Genotoksyczność (zwiększenie częstości występowania aberracji chromosomowych w komórkach korzeni) stwierdzono jedynie w przypadku wody pobranej w punkcie 3-MP Most Poniatowskiego, co sugeruje możliwość miejscowego wprowadzania do rzeki wraz z wodami opadowymi i roztopowymi substancji genotoksycznych.

Słowa kluczowe: zanieczyszczenie wód, toksyczność, genotoksyczność, test *Allium*

Wprowadzenie

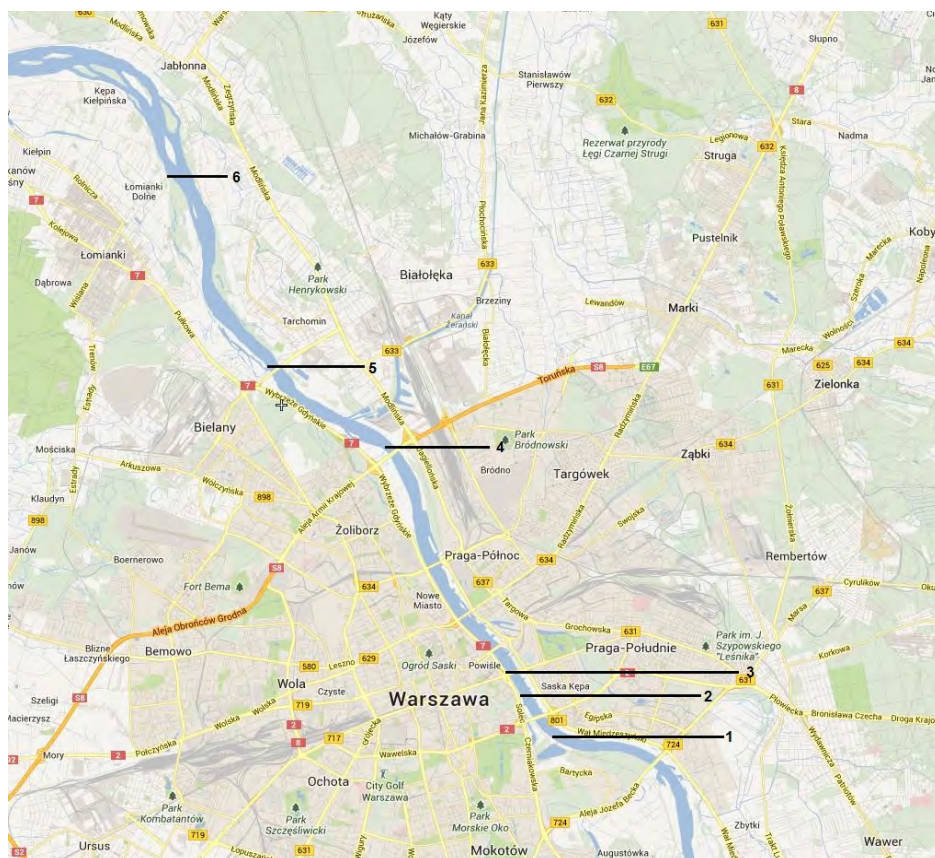
Do 2012 roku Warszawa była jedną z nielicznych europejskich stolic, które nie rozwiązały problemu ścieków komunalnych. Około 40% ogółu stołecznych nieczystości odprowadzано bezpośrednio do Wisły. Miasto, posiadając nowoczesne i wystarczająco efektywne oczyszczalnie, długo nie miało układu przesyłowego kierującego ścieki z centralnej i północnej części lewego brzegu Wisły do oczyszczalni Czajka, położonej na brzegu prawym. Został on uruchomiony dopiero jesienią 2012 roku. Celem pracy była ocena toksyczności i genotoksyczności próbek wody z Wisły w Warszawie po uruchomieniu systemu przesyłowego ścieków i porównanie z wynikami otrzymanymi w 2011 roku przed jego uruchomieniem.

Testy z bioindykatorami roślinnymi są często rekomendowane jako efektywne i niedrogie metody oceny toksyczności i genotoksyczności próbek środowiskowych [1-3] o czułości zbliżonej do testów z wykorzystaniem komórek ssaków [4]. Do oceny próbek wód stosuje się między innymi korzenie bobiku (*Vicia faba var. minor*) i cebuli (*Allium cepa*) [5-8]. Ponieważ czułość testu toksyczności i genotoksyczności z zastosowaniem cebuli wydaje się wyższa [5, 9, 10], zastosowano tę właśnie roślinę wskaźnikową.

Należy podkreślić, iż jakość wód Wisły zarówno w Warszawie, jak i poniżej miasta jest tym bardziej istotna, że wywiera znaczący wpływ na stan obszaru Natura 2000 Dolina Środkowej Wisły (kod PLB140004), objętego ochroną zgodnie z Dyrektywą w sprawie ochrony dzikiego ptactwa (2009/147/WE).

1. Metody

Próbki wody z Wisły pobrano w 6 punktach w Warszawie we wrześniu 2011 roku, czyli przed, i we wrześniu 2013, czyli rok po uruchomieniu układu przesyłowego ścieków z lewobrzeżnej Warszawy do oczyszczalni Czajka. Punkty poboru próbek wody usytuowane były w dół rzeki od miejsca czerpania wody dla miasta: 1-GK Gruba Kaśka - ujęcie wody dla miasta, 2-PS Pomnik Sapera - ujęcie wód z Oczyszczalni Południe, 3-MP Most Poniatowskiego - ujęcie kolektora burzowego, 4-MG Most Grota-Roweckiego, 5-KB Kolektor Burakowski - ujęcie nieoczyszczonych ścieków w 2011 r., 6-OC Oczyszczalnia Czajka - w dół od ujęcia wód z Oczyszczalni Czajka (rys. 1). Kontrolę stanowiła woda wodociągowa.



Rys. 1. Mapa lokalizacji punktów poboru próbek wody

Fig. 1. Map of water sampling points location

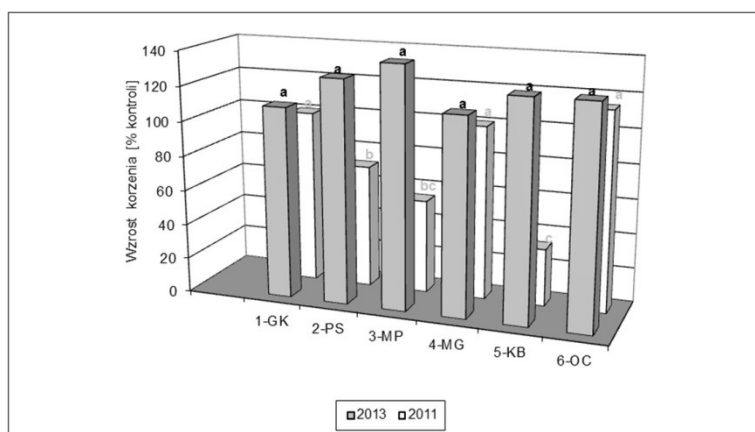
Test toksyczności i genotoksyczności z wykorzystaniem cebuli *Allium cepa* przeprowadzono według uproszczonej procedury opracowanej przez Fiskesjo [4]. Cebule o średnicy 3÷4 cm, po usunięciu martwej części piętki, umieszczono w próbkach z wodą (po 8 powtórzeń dla każdej próbki wody). Po 2 dniach pobrano po 3 korzenie przybyszowe z każdej cebuli, zanurzono w utrwalaczu na 24 godziny (kwas octowy lodowaty: alkohol etylowy 1:3), a następnie wypłukano i zakonserwowano w 70% alkoholu etylowym. Resztę korzeni pozostawiono na kolejne 4 dni, po upływie których zmierzono ich długość. Oceniono wzrost korzeni w badanych próbkach w stosunku do próbki kontrolnej, w której długość korzeni uznano za 100%. Utrwalone korzenie pobrane po 2 dniach zabarwiono acetoorceiną z 1 N HCl (9:1) i wykonano preparaty gniecione. Pod mikroskopem optycznym (powiększenie 480x) obserwowano komórki merystematyczne i wyznaczono indeks mitotyczny IM (procentowy udział komórek dzielących się w ogólnej liczbie komórek) oraz częstość występowania w anafazach i telofazach aberracji chromosomowych AAT, takich jak: fragmenty, mostki chromosomowe i opóźnione chromosomy (procentowy udział komórek anafazowych i telofazowych z zaburzeniami w ogólnej liczbie obserwowanych anafaz i telofaz łącznie). W każdym powtórzeniu brano pod uwagę 1000 komórek przy wyznaczaniu IM, a 200 komórek anafazowych i telofazowych łącznie przy ocenie AAT.

Wyniki oceniono metodą jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA), a następnie wyodrębniono jednorodnie statystycznie grupy średnich za pomocą testu Duncana ($p < 0,05$).

2. Wyniki i dyskusja

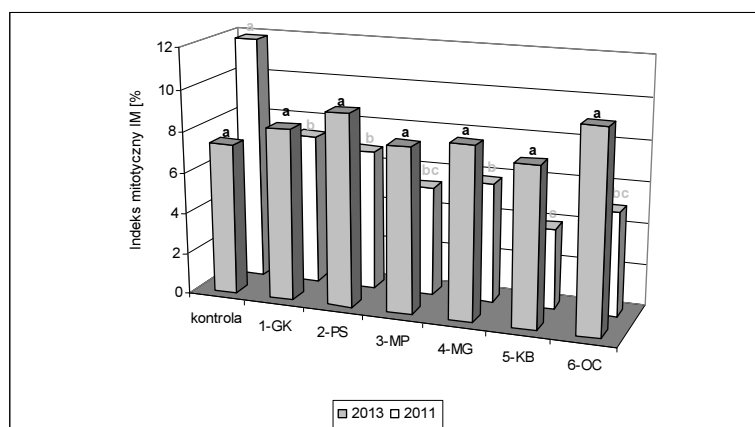
W 2013 roku w żadnej z próbek wody pobranych w wybranych punktach w Warszawie nie stwierdzono toksyczności - zahamowania wzrostu korzeni cebuli w stosunku do kontroli (rys. 1) - ani działania mitodepresyjnego - spadku indeksu mitotycznego (rys. 2). Obserwowano natomiast stymulację wzrostu korzeni w wodzie pobranej w punktach: 2-PS Pomnik Saperas, 3-MP Most Poniatowskiego, 5-KB Kolektor Burakowski i 6-OC Oczyszczalnia Czajka (rys. 1). Sugeruje to zawartość pierwiastków biogennych: azotu i fosforu, przy nieistotnej zawartości czynników toksycznych. Dla porównania, w 2011 roku nie obserwowano wprawdzie toksyczności w punkcie 1-GK Gruba Kaśka, ale ujawniła się ona już w punkcie 2-PS Pomnik Saperas, a jeszcze wyraźniej w punkcie 3-MP Most Poniatowskiego, usytuowanym w centrum Warszawy. Zanotowano tu istotne zahamowanie wzrostu korzeni oraz spadek indeksu mitotycznego w stosunku do kontroli (rys. 2, 3). Reakcję bioindykatorów może tłumaczyć fakt, iż w 2011 roku niektóre kanały burzowe uchodzące do Wisły, również kolektor na wysokości mostu Poniatowskiego, odprowadzały, z przyczyn technologicznych, spowodowanych budową systemu przesyłowego, oprócz wód opadowych także część nieoczyszczonych ścieków bytowych. Wraz z biegiem rzeki, w punkcie 4-MG Most Grota-Roweckiego w północnej części miasta, nie odnotowano toksyczności wody (zahamowania wzrostu korzeni w stosunku do kontroli), lecz utrzymywały się jej właściwości mitodepresyjne. Najsilniejsze właściwości toksyczne stwierdzono w punkcie 5-KB Kolektor Burakow-

ski (korzenie cebuli osiągnęły zaledwie 33% długości korzeni kontrolnych), który odprowadzał w 2011 roku nieoczyszczone ścieki miejskie prosto do Wisły. Nieco zaskakujący był fakt, iż woda pobrana zaledwie ok. 8 km dalej (punkt 6-OC) nie powodowała już hamowania wzrostu korzeni, chociaż indeks mitotyczny był nadal istotnie niższy niż w kontroli. Wskazywałyoby to na zdolność wód rzeki do samooczyszczania się oraz rozcieńczanie zanieczyszczeń [11], ale być może także na ich sedimentację i kumulowanie się w osadach dennych [12, 13].



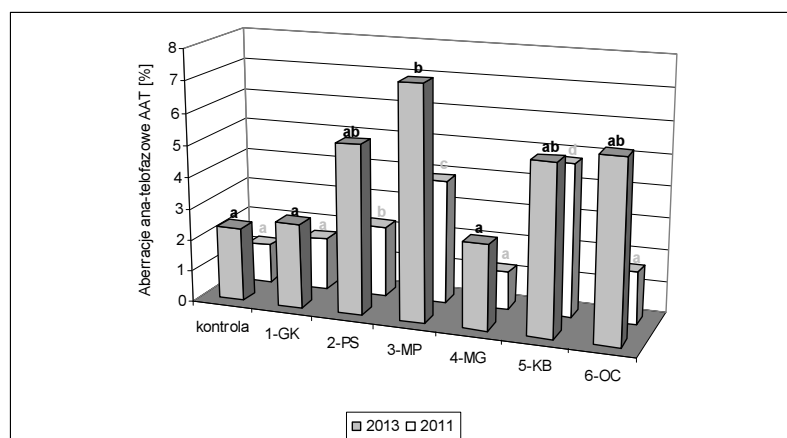
Rys. 2. Wzrost korzeni cebuli w próbkach wody z Wisły pobranych w latach 2011 i 2013 w 6 punktach w dół rzeki od Grubej Kaśki 1-GK w stosunku do wzrostu korzeni kontrolnych (średnie z tą samą literą, w tym samym szeregu, nie różnią się istotnie statystycznie)

Fig. 2. Growth of onion roots in water samples collected from Vistula river in 2011 and in 2013 in 6 sample points downstream from Gruba Kaśka 1-GK in relation to the control roots growth (means with the same letter within the same row do not differ significantly)



Rys. 3. Indeks mitotyczny w komórkach merystematycznych korzeni cebuli rosnących w próbkach wody z Wisły pobranych w latach 2011 i 2013 w 6 punktach w dół rzeki od Grubej Kaśki 1-GK (średnie z tą samą literą, w tym samym szeregu, nie różnią się istotnie statystycznie)

Fig. 3. Mitotic index in meristematic cells of onion roots growing in water samples collected from Vistula river in 2011 and in 2013 in 6 sample points downstream from Gruba Kaśka 1-GK (means with the same letter within the same row do not differ significantly)



Rys. 4. Częstość aberracji ana-telofazowych w komórkach merystematycznych korzeni cebuli rosnących w próbkach wody z Wisły pobranych w latach 2011 i 2013 w 6 punktach w dół rzeki od Grubej Kaśki 1-GK (średnie z tą samą literą, w tym samym szeregu, nie różnią się istotnie statystycznie)

Fig. 4. Frequency of ana-telophase aberrations in meristematic cells of onion roots growing in water samples collected from Vistula river in 2011 and in 2013 in 6 sample points downstream from Gruba Kaśka 1-GK (means with the same letter within the same row do not differ significantly)

Genotoksyczność wód (podwyższona częstość występowania aberracji chromosomowych AAT w stosunku do kontroli) w badanych punktach przedstawiała się w 2011 roku według podobnego schematu jak toksyczność, natomiast w 2013 roku stwierdzono ją jedynie w punkcie 3-MP Most Poniatowskiego (rys. 4). Można to tłumaczyć znajdującym się na tej wysokości ujściem potężnego kolektora burzowego, zbierającego wody opadowe z ulic i placów centrum miasta, potencjalnie zawierające kadm, ołów [14] oraz zanieczyszczenia organiczne, takie jak wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne WWA, związane ze szczególnie nasilonym transportem samochodowym w tym rejonie.

Podsumowanie

Badania toksyczności i genotoksyczności próbek wody z Wisły pobranych w 6 wybranych punktach w Warszawie wskazują na zdecydowaną poprawę stanu wód w 2013 roku, czyli po uruchomieniu układu przesyłowego ścieków z lewo-brzeżnej Warszawy do oczyszczalni Czajka w porównaniu do 2011 roku przed jego uruchomieniem. Żadna z badanych próbek wody nie powodowała zahamowania wzrostu korzeni cebuli ani spadku wartości indeksu mitotycznego. Obserwowano raczej stymulację wzrostu, czego przyczyną może być większa zawartość pierwiastków biogennych w porównaniu z próbką kontrolną, którą stanowiła woda wodociągowa. Genotoksyczność stwierdzono jedynie w przypadku wody pobranej w punkcie 3-MP Most Poniatowskiego, co sugeruje możliwość miejscowego

wprowadzania do rzeki wraz z wodami opadowymi i roztopowymi substancji genotoksycznych.

Literatura

- [1] Ma T.H., The international program on plant bioassays and the report of the follow-up study after the hands-on workshop in China, *Mut. Res.* 1999, 426, 2, 103-106.
- [2] Grant W.F., Higher plant assays for the detection of chromosomal aberration and gene mutation - a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals, *Mut. Res.* 1999, 426, 2, 107-112.
- [3] Leme D.M., Marin-Morales M.A., *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application, *Mut. Res.* 2009, 682, 1, 71-81.
- [4] Fiskesjo G., The *Allium* test as a standard in environmental monitoring, *Hereditas* 1985, 102, 99-112.
- [5] Ma T.H., Xu Z., Xu Ch., MacConnell H., Rabato E., Arreola G., Zhang H., The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants, *Mut. Res.* 1995, 334, 185-195.
- [6] Smaka-Kincl V., Stegnar P., Lovka M., Toman M., The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure, *Mut. Res.* 1996, 368, 171-179.
- [7] Evseeva T.I., Geraskin S.A., Shuktomova I.I., Genotoxicity and toxicity assay of water sampled from a radium production industry storage cell territory by means of *Allium* test, *J. En. Rad.* 2003, 68, 235-248.
- [8] Feretti D., Ceretti E., Gustavino B., Zebrini I., Zani C., Monarca S., Rizzoni M., Ground and surface water for drinking: a laboratory study on genotoxicity using plant tests, *J. Pub. Health Res.* 2012, 1, 1, 31-37.
- [9] Obidoska G., Root tip bioassays for genotoxicity studies of environmental liquid samples, *Ann. Warsaw Univ. Life Sci. - SGGW (Horticult. Landsc. Architect.)* 2007, 28, 65-69.
- [10] Asita A.O., Matobole R.M., Comparative study of the sensitivities of onion and broad bean root tip meristematic cells to genotoxins, *Afr. J. Biotechnol.* 2010, 9, 27, 4165-4170.
- [11] Jarosiewicz A., Proces samooczyszczania w ekosystemach rzecznych, *Słupskie Prace Biologiczne* 2007, 4, 27-41.
- [12] Rank J., Nielsen M.H., Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay, *Mut. Res.* 1998, 418, 113-119.
- [13] Thornton D., Butler P., Docx M., Hession Ch., Makropoulos M., MacMullen M., Nieuwenhuijsen A., Pitman R., Rautiu R., Sawyer S., Smith D., White P., Wilderer S., Paris D., Marani C., Braguglia J., Palerm A., Pollutant in urban wastewater and sewage sludge, Final Report for Directorate-General Environment, IC Consultants Ltd, London 2001.
- [14] Gawdzik J., Mobilność metali ciężkich w osadach ściekowych na przykładzie wybranej oczyszczalni ścieków, *Inż. Ochr. Środ.* 2012, 15(1), 5-15.

Toxicity and Genotoxicity of Vistula River Waters in Warsaw Before and After the Completion of the Municipal Wastewater Transporting System to Czajka Treatment Plant

The toxicity and genotoxicity of Vistula river water samples, collected from six selected points in Warsaw downstream from Gruba Kaśka, were assessed using the *Allium cepa* bioassay. The research was conducted in 2011 and in 2013, which was before and after the completion of the municipal wastewater transporting system from the left-bank Warsaw to Czajka treatment plant. The results indicate a significant improvement of the Vistula waters

state in 2013. No toxicity (root growth inhibition) or mitotic index decrease was observed in water samples taken from any of the research points. Genotoxicity (increased frequency of chromosomal aberrations AAT) was detected only in water sample from one point: 3-MP (Most Poniatowskiego) - in the city center. There is the possibility of local discharging of genotoxic substances in detectable amounts into Vistula river. Cadmium, lead or organic pollutants, connected with heavy car traffic, may probably be transported with rain and melt-waters and cause the contamination. In 2011, before the completion of the municipal wastewater transporting system, no toxicity or genotoxicity was noted for the water sample collected at the city water-intake facility 1-GK (Gruba Kaśka), but downstream of this point, toxicity and genotoxicity increased for the water samples from point 2-PS (Pomnik Sapera) and from 3-MP (Most Poniatowskiego), before disappearing in water samples from 4-MG (Most Grota-Roweckiego) in the north of the city. The highest toxicity and genotoxicity was observed for the water sample collected at point 5-KB (Kolektor Burakowski). The Burakowski collector was discharging untreated municipal sewage from left-bank Warsaw (central and northern parts) directly into the Vistula in 2011. No significant toxicity or genotoxicity of the Vistula river waters were observed in point 6-OC (Oczyszczalnia Czajka) situated only about 8 km downstream.

Keywords: water pollution, toxicity, genotoxicity, *Allium* assay