

# STANOVENÍ ÚČINKU ODPADNÍCH VOD NA KLÍČIVOST SEMEN A RŮST V POČÁTEČNÍCH STÁDIÍCH VÝVOJE ROSTLINY *SINAPIS ALBA*

**Pavλίna Jadamusová, Hana Sezimová**

*Katedra biologie a ekologie, Přírodovědecká fakulta, Ostravská univerzita v Ostravě,  
Chittussiho 10, 710 00 Ostrava, P10173@student.osu.cz*

## **Abstrakt**

Cílem práce bylo stanovení toxických účinků odpadních vod na počáteční stádia vývoje hořčice bílé (*Sinapis alba*). Hodnotícím kritériem byla klíčivost a inhibice růstu (IC) délky kořinků oproti kontrole a výstupním ukazatelem byla hodnota IC50. Správnost provedení testu byla ověřena na dvou standardních látkách, dichromanu draselném a síranu zinečnatém. Reálné vzorky odpadních vod byly odebrány z předem vytipovaných průmyslových podniků, vzorek povrchové vody byl odebrán z vodního toku kontaminovaného splašky z bytové zástavby. Celkem bylo hodnoceno šest vzorků vod získaných z hasebného zásahu chemického závodu, nemocničního zařízení, potravinářského podniku, farmaceutické společnosti (dva vzorky) a vodního toku Jasení. Z provedených testů bylo možné stanovit hodnotu IC50 pouze u dvou vzorků, a to u odpadní vody z hasebného zásahu a u potravinářského podniku. V ostatních případech se index IC50 nepodařilo stanovit. Výsledky naznačují, že vypouštěné odpadní vody nejsou ve většině případů fytotoxické.

***Klíčová slova:*** odpadní voda; ekotoxicita; hořčice bílá (*Sinapis alba*); inhibice růstu.

## **Úvod**

Vzhledem k rychlému růstu populace a vysoké produkci odpadních vod je nezbytné zařadit proces čištění odpadních vod v průmyslových a komunálních čistírnách [1]. Odpadními vodami se nazývají vody po použití, změní-li svoje fyzikální nebo chemické vlastnosti, a musí být před vypouštěním do povrchových vod vyčištěny podle legislativních požadavků [4]. Pro hodnocení možných rizik látek obsažených ve vodách jsou rutinně využívány chemické a fyzikální analýzy. Chemickými metodami lze provést kvalitativní stanovení vybraných škodlivin. Tento přístup však neumožňuje bližší identifikaci komplexních směsí látek a specifikaci jejich reálného účinku na biotu. Pro stanovení šíře biologického efektu je proto nezbytné objasnit zejména charakter chemických interakcí (antagonismus, synergismus) ve směsích a případně detekovat, jaké produkty se z nich tvoří během chemických a biologických degradačních procesů, což však chemické analýzy neumožňují. K provedení komplexního hodnocení rizik pro živé organismy je proto nezbytné zařadit do systému hodnocení vedle chemických analýz také biologické testy toxicity na vybraných senzitivních organismech. Jedině tento přístup umožňuje sledovat, jakým způsobem dané indikátorové organismy na přítomnost kontaminantů reagují. Testy toxicity jsou prováděny na zástupcích ryb, zooplanktonu, fytoplanktonu a vyšších rostlinách. Testované organismy reprezentují důležité články ekosystému s rozdílnou citlivostí a rozhodující jsou výsledky testu na nejcitlivěji reagujícím organismu [6].

Cílem práce byla detekce potenciálních toxických účinků vzorků odpadních vod. Pro testování akutní toxicity byl využit test klíčivosti a růstu na semenech rostliny *Sinapis alba*. Princip biotestu spočíval v kultivaci semen na filtračním papíře nasyceném roztokem zkoumané látky ve srovnání s kontrolou.

## Materiál a metody

### Charakteristika testovacího organismu

Testovacím organismem byla okrově žlutá semena hořčice bílé (*Sinapis alba* L.) brukvovité (Brassicaceae) s klíčivostí minimálně 90 %, střední velikosti mezi 1,5 - 2,5 mm [6].

### Pracovní postup přípravy ředící vody

K ředění se používá ředící voda připravená podle požadavků ČSN EN ISO 746-2 a ČSN EN ISO 6341[2, 3]. Chemikálie potřebné pro přípravu ředící vody jsou uvedeny v tabulce 1.

**Tabulka 1.** Navážky chemikálií pro přípravu zásobních roztoků

Zásobní roztoky	Chemikálie	Koncentrace v zásobním roztoku
I	CaCl <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	117,6 g/l
II	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	49,3 g/l
III	NaHCO <sub>3</sub>	25,9 g/l
IV	KCl	2,3 g/l

### Příprava koncentrační řady testovaných látek

Standardní látky dichroman draselný (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) a síran zinečnatý (ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) byly rozpuštěny v připravené ředící vodě. Výsledná koncentrační řada byla pro dichroman draselný 10, 20, 40, 80, 160, 320 mg/l, pro síran zinečnatý 31, 63, 125, 250, 500, 1000 mg/l. U reálných vzorků nebylo možné stanovit přesnou koncentraci obsažených látek, proto jsou výsledky vyjádřené v objemových procentech. Pro účely testování byly vzorky naředěny ředící vodou a byla vytvořena koncentrační řada 0, 10, 25, 50, 75 a 90 objemových procent testovaného vzorku.

### Princip testu

Vystřížený filtrační papír byl vložen na dno Petriho misek a pipetou byl nadávkován testovaný roztok nebo ředící voda (kontrola) v množství 5 – 10 ml. Pinzetou bylo rovnoměrně rozmístěno 30 semen hořčice bílé. Misky byly přikryty víčky a umístěny do termostatu s teplotou 20 ±2°C, bez přístupu světla. Po 72 hodinách se změřily a zaznamenaly délky všech kořenů semen do protokolu. Ze získaných (naměřených) hodnot byla pro každou koncentraci a kontrolu vypočítána průměrná délka kořene a určena se koncentrace látky, která způsobila inhibici nebo stimulaci růstu kořene ve srovnání s kontrolou (72hIC<sub>50</sub>). Pokud testovaná látka působila na růst kořene stimulačně, výpočet IC<sub>50</sub> se neprováděl. Do protokolu měření byly zaznamenány i počty nevyklíčených semen, ty se pak započítávaly jako semena s nulovou délkou. Jestliže semena vyklíčila, ale nevytvořil se kořínek, opět se hodnota započítala jako nulová do aritmetického průměru [5].

Výpočet inhibice růstu kořene v testované látce oproti kontrole byl proveden podle následujícího vzorce.

$$I_i = \frac{L_c - L_v}{L_c} \cdot 100$$

- I<sub>i</sub>      inhibice růstu kořene (%) v dané koncentraci, je-li I<0, jedná se o stimulaci růstu  
L<sub>c</sub>      průměrná délka kořene v kontrole (mm)  
L<sub>v</sub>      průměrná délka kořene v testované koncentraci (mm)

## Výsledky a diskuse

Ve všech případech byl proveden test klíčivosti semen v kontrole a vždy byla splněna podmínka minimální klíčivosti 90 %.

Správnost postupu byla ověřena na dvou standardních látkách, dichromanu draselném a síranu zinečnatém (heptahydrátu) ve dvou opakováních. Výsledná průměrná hodnota inhibiční koncentrace (IC50) u dichromanu draselného byla 42 mg/l. Metodický pokyn odboru odpadu [5] udává, že test je platný, pokud je výsledná hodnota v rozmezí 10 – 50 mg/l. U síranu zinečnatého (heptahydrátu) byla naměřena průměrná hodnota 72hIC50 u obou vzorků 666 mg/l.

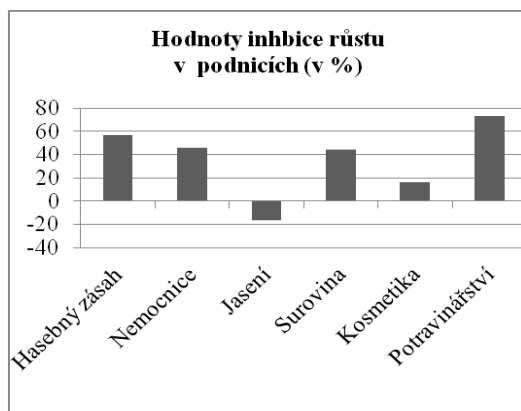
Z provedených testů bylo možné stanovit hodnotu IC50 pouze u dvou vzorků odpadních vod. U vzorku z potravinářského podniku byla zaznamenána nejvyšší inhibice růstu kořene *Sinapis alba* a tedy i nejvyšší fytotoxicita. Vzorek byl vybrán pro sledování změny toxicity v čase. Vzorek byl testován ihned po odběru a pak v třídených intervalech, celkem třikrát. Výsledkem bylo zjištění, že pozorovaná toxicita s časem výrazně klesá (Graf 2). Byla sledována změna hodnoty IC50 v čase a rovněž bylo porovnáváno procento inhibice růstu u nejvyšší koncentrace vzorku. U prvního měření byla zjištěna hodnota IC50 = 46%, pozorovaná inhibice růstu byla 73%. U druhého měření již byla pozorovaná toxicita nižší. Hodnota IC50 byla 53% a pozorovaná inhibice růstu kořene 60%. U posledního měření se hodnota IC50 nedala stanovit, vzorek způsoboval 25% inhibici růstu kořene.

U odpadní vody z hasebného zásahu byla inhibiční koncentrace (IC50) stanovena 83 % odpadní vody. U vzorku byla rovněž sledována změna toxicity v čase. Druhé měření vzorku bylo provedeno po dvou měsících. Po tuto dobu byl vzorek skladován při teplotě -70°C. U druhého měření nebyla toxicita vzorku pozorována, navíc došlo ke stimulaci růstu semen u 10% koncentrace vzorku oproti kontrole.

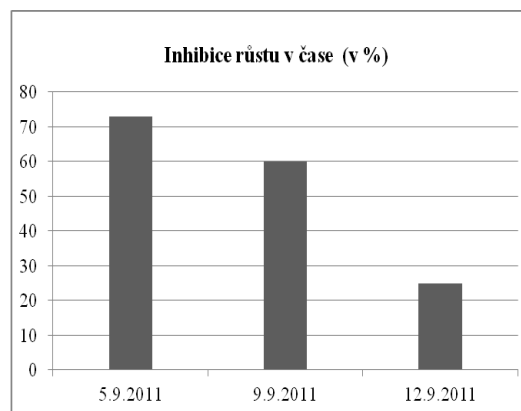
U dalších vzorků již nebylo možné hodnotu IC50 stanovit. Pro porovnání jsou uvedeny procenta inhibice u nejvyšší koncentrace vzorků.

Vzorek vody z nemocničního zařízení vykazoval maximální inhibici 46 %. Voda z farmaceutické společnosti po zpracování suroviny dosahovala maximální inhibice 44 %. Oplachová voda po výrobě kosmetického prostředku dosahovala 16% inhibice růstu. Ve vodě z potoka Jasení docházelo ke stimulaci růstu pravděpodobně způsobenou přítomností nutriční látek obsažených ve splašcích. Srovnání inhibice růstu kořene *Sinapis alba* u vzorků z jednotlivých podniků je uvedeno v grafu 1.

**Graf 1.** Inhibice růstu v 90 objemových procentech vzorků odpadních vod



**Graf 2.** Inhibice růstu v závislosti na čase h ve vzorku z potravinářského podniku



## Závěr

Cílem práce byla detekce potenciálních toxických účinků vzorků odpadních vod. Pro testování byl využit test klíčivosti a růstu na semenech rostliny *Sinapis alba*. Hodnotu IC50 bylo možné stanovit pouze u dvou vzorků odpadních vod. U těchto vzorků byl pozorován pokles toxických účinků s časem. Inhibice růstu u ostatních vzorků nedosahovala 50 %, a proto hodnotu IC 50 nebylo možno stanovit. Výsledky naznačují, že vypouštěné odpadní vody nejsou ve většině případů fytotoxické.

### Poděkování

Článek byl vypracován v rámci projektu Institut environmentálních technologií, reg. č. CZ.1.05/2.1.00/03.0100 podporovaného Operačním programem Výzkum a vývoj pro Inovace, financovaného ze strukturálních fondů EU a ze státního rozpočtu ČR.

### Literatura

- [1.] ADÁMEK, Z., HELEŠIC, J., MARŠÁLEK, B., RULÍK, M. *Aplikovaná hydrobiologie*. 1. vyd. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, 2008. 114 s. ISBN 978-80-85887-79-2.
- [2.] ČSN EN ISO 6341: *Jakost vod - Zkouška inhibice pohyblivosti Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) Zkouška akutní toxicity*.
- [3.] ČSN EN ISO 7346-2 : *Jakost vod - Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby [Brachydanio rerio Hamilton - Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]*.
- [4.] MALÝ, J., MALÁ, J. *Chemie a technologie vody*. 1 vyd. Brno: NOEL, 2000, 105 s. ISBN 80-86020-13-4.
- [5.] METODICKÝ POKYN ODBORU ODPADŮ KE STANOVENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ. Ministerstvo životního prostředí České republiky, Praha 11/2007.
- [6.] KOČÍ, V. *Význam testů toxicity pro hodnocení vlivu látek na životní prostředí*. Chemické listy, 100, 882-888 (2006).

### Abstract

The aim of the work was to determine the toxic effects of waste water at the initial stages of the development of white mustard (*Sinapis alba*). Evaluation criterion was germination and growth inhibition (IC) of the length of the inside compared to the control and the output value was an indicator of the IC50. The accuracy of the test has been verified on two standard substances, potassium dichromate, and zinc sulfate heptahydrate. The real sewage samples were taken from a predetermined industrial firms, the sample surface water was removed from the water flow of contaminated sewage from residential buildings. A total of six samples were analysed the water obtained from the fire action of the chemical plant, hospital, food business, pharmaceutical company (two samples) and water flow Jasení. Of the tests, it was possible to determine the value of the IC50 only two samples, the waste water from the fire intervention and in the food business. In other cases, the index could not be determined. The results suggest that the discharges are not phytotoxic in most cases.