

III Krajowe Warsztaty Ekotoksykologiczne

„Praktyczne wykorzystanie systemów bioindykacyjnych do oceny toksyczności środowiska i substancji chemicznych”

Łódź, 11-12 kwietnia 2013

Streszczenia prezentacji

Organizatorzy



Gdański Uniwersytet Medyczny
Zakład Toksykologii Środowiska



Europejskie Regionalne Centrum
Ekohydrologii pod auspicjami UNESCO



Instytut Uprawy
Nawożenia i Gleboznawstwa

Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy



TIGRET Sp. z o.o.



The EU project PROFICIENCY (FP7-REGPOT-2009-1-245751)
„Strengthen IUNG’s proficiency on Managing the Production of Food and Feedstuff, their Safety and Quality under Global Climatic Change”



Patronat medialny



Spis prezentacji:

1. **Ryzyko środowiskowe i zdrowotne – podobieństwa i różnice - Załęska-Radziwiłł M.** – Politechnika Warszawska, Warszawa 3
2. **Zastosowanie materiałów węglowych w kierunku redukcji fitotoksyczności osadu dennego zanieczyszczonego przez związki organiczne i nieorganiczne – Oleszczuk P., Joško I., Pranagal J., Xing B., Lehmann J., Cornelissen G.** – Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Lublin 4
3. **Wpływ nanocząstek tlenków metali na toksyczność i fototoksyczność wybranych leków dla pierwotniaków - Nałęcz-Jawecki G., Kowalik M., Lichniak E., Sawicki J.** – Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa 5
4. **Ekotoksykologiczna charakterystyka biowęgla – Joško I., Kuśmierz M., Oleszczuk P.** – Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin 6
5. **Zalety i ograniczenia matematycznego modelowania toksyczności mieszanin substancji chemicznych – Czernych R., Wolska L.** – Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk 7
6. **Nowo pojawiające się związki w środowisku – Cieszyńska M., Czernych R., Gałęzowska G., Wolska J.**, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk 8
7. **Problemy wynikające z próby zastosowania biotestów do oceny jakości powietrza – Sosnowiec K., Wolska L.** – Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk 9
8. **Wpływ wybranych WWA na mikroorganizmy i rośliny w glebach o zróżnicowanej historii zanieczyszczenia – Klimkowicz-Pawlas A., Maliszewska-Kordybach B., Smreczak B.** – Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa - PIB, Puławy 10
9. **Wielowymiarowa ocena skażenia gleb z torów kolejowych – Wierzbička M., Bemowska O., Gworek B.** – Uniwersytet Warszawski, Warszawa 12
10. **Ocena potencjału mutagennego substancji pochodzących od cyjanobakterii – Sierosławska A.** – Katolicki Uniwersytet Lubelski, Lublin 14
11. **Wykorzystanie markerów genetycznych dla oceny występowania genotypów toksycznych sinic odpowiedzialnych za produkcję hepatotoksyn - Gagała I., Pawełczyk J., Dziadek J., Mankiewicz-Boczek J.** - Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii p/a UNESCO, Łódź 16
12. **Zastosowanie testów bioindykacyjnych w badaniach genotoksyczności pyłowych zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego – Piekarska K., Trusz-Zdybek A., Bełcik M.** – Politechnika Wrocławska, Wrocław 18

Ryzyko środowiskowe i zdrowotne – podobieństwa i różnice

MONIKA ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ

Politechnika Warszawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii
00-653 Warszawa, ul. Nowowiejska 20

Głównym zadaniem toksykologii środowiska i ekotoksykologii jest określenie jakie konsekwencje dla zdrowia ludzi i środowiska wynikają ze stosowania związków chemicznych, a więc ocena zagrożenia i ryzyka. Głównym celem oceny ryzyka jest ochrona zdrowia ludzi oraz bioróżnorodności i funkcjonowania ekosystemów.

W referacie omówiono podstawowe zasady oceny ryzyka środowiskowego i zdrowotnego w kolejnych etapach procedury obejmujących: identyfikację zagrożenia, ocenę zależności dawka-odpowiedź, oszacowanie wielkości narażenia, charakterystykę ryzyka.

W przypadku ryzyka środowiskowego przedstawiono metody deterministyczne oraz probabilistyczne, które znajdują się w fazie naukowej dyskusji. Metody deterministyczne polegają głównie na określaniu ilorazu zagrożenia HQ, stosunku toksyczności do narażenia TER, lub ilorazu ryzyka PEC/PNEC, gdzie stężenie zmierzone lub obliczone w środowisku (MEC, EEC, PEC) porównywane jest ze stężeniem LC(EC)₅₀, NOEC czy PNEC obliczonym przy zastosowaniu współczynników bezpieczeństwa.

W probabilistycznych metodach stosowanych w ocenie ryzyka w środowisku analizuje się natomiast rozkład wrażliwości gatunkowej organizmów (SSD) i przy użyciu empirycznych modeli statystycznych oblicza PNEC oraz frakcję zagrożonych gatunków – PAF, dla których stężenie w środowisku będzie przekraczało wartości NOEC lub LC (EC)₅₀.

W ocenie ryzyka zdrowotnego zwrócono szczególną uwagę na określenie: krytycznego efektu zdrowotnego (efekt progowy i bezprogowy), wielkości dopuszczalnego narażenia (dawka referencyjna, dopuszczalne dzienne pobranie), ilorazu ryzyka, dodatkowego ryzyka jednostkowego i specyficznego ryzyka ekspozycji na założonym poziomie narażenia.

W podsumowaniu wskazano na podobieństwa i różnice w obu procedurach szacowania ryzyka w warunkach narażenia środowiskowego na substancje chemiczne.

Zastosowanie materiałów węglowych w kierunku redukcji fitotoksyczności osadu dennego zanieczyszczonego przez związki organiczne i nieorganiczne

IZABELA JOŚKO¹, PATRYK OLESZCZUK¹, JACEK PRANAGAL², JOHANES LEHMANN³, BAOSHAN XING⁴, GERARD CORNELISSEN^{5,6,7}

1 Department of Environmental Chemistry, Maria Curie-Skłodowska University, 3 Maria Curie-Skłodowska Square, 20-031 Lublin, Poland

2 Institute of Soil Science and Environmental Management, University of Life Sciences, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

3 Department of Crop and Soil Sciences, 908 Bradfield Hall, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA

4 Department of Plant, Soil and Insect Sciences, University of Massachusetts,

5 Department of Environmental Engineering, Norwegian Geotechnical Institute NGI, Oslo, Norway

6 Department of Applied Environmental Sciences (ITM), Stockholm University, Stockholm, Sweden
7 Institute for Plant and Environmental Sciences, University of Life Sciences (UMB), 5003 Ås, Norway

e-mail: patryk.oleszczuk@poczta.umcs.lublin.pl

Keywords: activated carbon, biochar, multiwalled carbon nanotubes, phytotoxicity, sediments, remediation

W celu ograniczenia ryzyka związanego z obecnością zanieczyszczeń w osadach dennych stosowane są metody wykorzystujące adsorbenty (głównie węgiel aktywny - AC). Adsorbenty unieszkodliwiają zanieczyszczenia zmniejszając ich mobilność, biodostępność i toksyczność. Mimo licznych badań dotyczących wpływu AC na toksyczność osadów brak jest danych jak materiały te wpływają na toksyczność osadów dennych w stosunku do roślin. Rośliny są wrażliwym wskaźnikiem zmian środowiska, który może dostarczyć cennych informacji na temat potencjalnego ryzyka. Celem badań było określenie toksyczności osadu dennego zanieczyszczonego związkami organicznymi i metalami ciężkimi po dodaniu wybranych adsorbentów. W badaniach zastosowano trzy potencjalnie użyteczne w remediacji materiały węglowe (CM): węgiel aktywny (AC), biowęgle (BC1, BC2) oraz wielościenne nanorurki węglowe (CNTs). Oceniano wpływ dawki, wielkości cząstek oraz czasu kontaktu między osadem a CM na efektywność procesu detoksykacji. Ocenę toksykologiczną wykonano w oparciu o test Phytotoxkit FTM stosując jako roślinę *Lepidium sativum*. Badane materiały obniżały negatywny wpływ osadów wywierany w stosunku do *L. sativum*. Najwyższą skuteczność osiągnięto po zastosowaniu AC (70% redukcja inhibicji kiełkowania, 27,5% redukcja hamowania wzrostu korzeni). Obniżenie fitotoksyczności osadów na skutek dodania BC1, BC2 i CNT wahało się w granicach od 30 do 40% (redukcja inhibicji kiełkowania) i od 17,7 do 28,9% (redukcja zahamowania wzrostu korzeni). Redukcja toksyczności osadu zmniejszała się wraz ze zmniejszającą się średnicą zastosowanego biowęgla. Wydłużenie czasu kontaktu między CM a osadem wpływało niekorzystnie na redukcję inhibicji wzrostu korzeni w przypadku wszystkich testowanych materiałów.

Wpływ nanocząstek tlenków metali na toksyczność i fototoksyczność wybranych leków dla pierwotniaków

GRZEGORZ NAŁĘCZ-JAWECKI*, M. KOWALIK, E. LICHNIAK, J. SAWICKI

Zakład Badania Środowiska, Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa
gnalecz@wum.edu.pl

Słowa kluczowe: Spirotox, Protoxkit FTM, diklofenak, propranolol

Tlenki metali: tytanu i żelaza, stosowane w wielu produktach np. kosmetykach, uważane są za nieszkodliwe dla człowieka oraz środowiska przyrodniczego. Ich rozdrobnienie do średnicy ziaren poniżej 100 nm powoduje znaczne zwiększenie powierzchni czynnej, na której mogą zachodzić reakcje np. fotodegradacji związków organicznych. Syntetyczne leki są nową grupą ksenobiotyków obecnych w ściekach, wodach powierzchniowych oraz glebach. Najważniejszą abiotyczną drogą ich przemian jest fotodegradacja, która może być przyspieszana na skutek fotokatalizy.

W projekcie zbadano wpływ obecności cząstek tlenków tytanu i żelaza(III) na toksyczność substancji czynnych wybranych leków: propranololu oraz diklofenaku. Analizy prowadzono w ciemności oraz stosując naświetlanie badanych próbek przy użyciu symulatora światła słonecznego Suntest CPS+. Zastosowano dwa filtry promieniowania: kwarcowy – zapewniający pełne światło słoneczne (UV+Vis) oraz „szybę okienną” – przepuszczającą jedynie światło widzialne (Vis). Przy użyciu chromatografii HPLC monitorowano stężenia leków, zaś toksyczność badanych roztworów/zawiesin analizowano przy użyciu dwóch testów na pierwotniakach: Spirotox (test toksyczności ostrej – *Spirostomum ambiguum*) oraz Protoxkit FTM (test toksyczności chronicznej *Tetrahymena termophila*).

Naświetlanie roztworów propranololu prowadziło do spadku toksyczności próbek w teście Spirotox, przy czym spadek ten był niższy niż spadek stężenia leku. Dodatek tlenku żelaza(III) w warunkach naświetlania UV+Vis spowodował nieznaczny wzrost toksyczności, zaś dodatek tlenku tytanu, niezależnie od stopnia rozdrobnienia oraz zastosowanego światła, aż dwukrotny wzrost toksyczności.

W przypadku diklofenaku dodatek TiO₂ spowodował znaczący wzrost toksyczności próbek naświetlonych światłem widzialnym. Brak zmian toksyczności dla *S.ambiguum* podczas naświetlania UV+Vis przy równoczesnej prawie 100% fotodegradacji wskazuje na to, że powstałe fotoprodukty są równie toksyczne jak związek macierzysty.

Badania finansowane z grantu NCN nr NN405024740 (2011-2012).

Ekotoksykologiczna charakterystyka biowęgla

I. JOŚKO¹, M. KUŚMIERZ², P. OLESZCZUK²

¹ Instytut Gleboznawstwa, Inżynierii i Kształtowania środowiska,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

² Zakład Chemii Środowiskowej,
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
e-mail: joskoiza45@gmail.com

Słowa kluczowe: biowęgiel, ocena toksyczności, biotesty

Biowęgiel, który powstaje z niepełnego spalania biomasy, posiada szereg zalet, dzięki którym znajduje zastosowanie w rekultywacji środowiska. Wykorzystanie biowęgla do remediacji gleby może przynieść pozytywne rezultaty w postaci redukcji koncentracji zanieczyszczeń, użyczenia gleb czy sekwestracji gazów cieplarnianych. Jednak istnieje potrzeba zbadania potencjalnej toksyczności biowęgla. Jest to podyktowane podobieństwem biowęgla do węgla aktywnego, który redukuje zawartość zanieczyszczeń w osadach dennych czy glebach, natomiast „sam w sobie” może być toksyczny. W eksperymencie zastosowano biowęgiel pochodzący z pirolizy różnej biomasy: wierzby energetycznej, miskanta, łuski orzecha kokosowego oraz słomy kukurydzy. Źródło biomasy odgrywa istotną rolę w kształtowaniu właściwości biowęgla, a co za tym idzie ich potencjalnego oddziaływania na organizmy żywe. Ocena potencjalnej toksyczności biowęgla została przeprowadzona w oparciu o różne grupy organizmów: bakterie (MARA, *Vibrio fischeri*), pierwotniaki (*Tetrahymena thermophila*), skorupiaki (*Daphnia magna*) oraz rośliny (*Lepidium sativum*, *Sinapis alba*). Dodatkowo zostały przeprowadzone analizy chemiczne określające zawartość metali ciężkich oraz WWA w biowęglach. Przeprowadzone badania pomogą określić potencjalne ryzyko wynikające z zastosowania biowęgla wykorzystywanego do rekultywacji gleb.

Zalety i ograniczenia stosowania matematycznego modelowania w ocenie toksyczności mieszanin chemicznych związków

RADOSŁAW CZERNYCH^{1*}, KATARZYNA SOSNOWIEC¹, GRAŻYNA GAŁĘZOWSKA¹, LIDIA WOLSKA^{1,2}

¹ Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Powstania Styczniowego 9b, 81-519 Gdynia, Polska

² Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk, Polska

* e-mail: r.czernych@gumed.edu.pl, tel: 58 3493735, fax: 58 6223354

Związki chemiczne występujące w przedziałach środowiskowych oddziałują za zamieszkujące je żywe organizmy, jako wieloskładnikowe, silnie zróżnicowane mieszaniny. Nie mniej jednak, badania ukierunkowane na ocenę oddziaływania występujących w środowisku zanieczyszczeń ukierunkowane są na badanie wpływu pojedynczych związków, nie zaś mieszanin. Badania nad współoddziaływaniem mieszanin od lat były domeną farmacji, gdzie leki są projektowane w taki sposób, aby połączenie dwóch lub więcej substancji aktywnych wywoływało pożądany efekt, np. wzmocnienia działania tego leku. Jednakże, doświadczone badanie współoddziaływania mieszanin, zarówno w farmacji, jak i toksykologii środowiskowej, są praco-, czaso- oraz kosztochłonne. Zastosowanie matematycznego modelowania toksyczności mieszanin jest znacznie tańszą i szybszą metodą oceny działania. Takie modele, opierając się na ocenie toksyczności pojedynczych związków, są w stanie ocenić toksyczność mieszaniny, w której skład wchodzi. Pierwsze modele proponowali Loewe (1926) oraz Bliss (1939). Modele te zakładały kolejno, podobny oraz rozbieżny mechanizm działania składników wchodzących w skład mieszaniny. Struktura tych modeli nie uwzględnia jednak antagonizmu oraz synergizmu, dwóch rodzajów współoddziaływania, które silnie mogą zaburzyć równowagę w ekosystemach.

Celem tej pracy jest ocena możliwości zastosowania matematycznego modelowania toksyczności mieszanin, wskazanie ograniczeń dotychczas stosowanych modeli oraz podkreślenie roli, jaką gra ocena toksyczności mieszanin, we współczesnych badaniach nad wpływem zanieczyszczeń na środowisko.

Nowo pojawiające się związki w środowisku

M. CIESZYŃSKA¹, R. CZERNYCH¹, G. GAŁĘZOWSKA¹, L. WOLSKA^{1,2}

¹ Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Powstania Styczniowego 9B, 81-519 Gdynia, tel. 58 349 1935

Cieszynskam@gumed.edu.pl

² Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk

Słowa kluczowe: środowisko, nowo pojawiające się związki, toksyczność

Środowisko naturalne podlega silnej antropopresji zarówno ze strony obszarów przemysłowych, bądź wykorzystywanych rolniczo jak i zurbanizowanych. Do środowiska uwalniane są nie tylko substancje znane i od lat regularnie monitorowane, ale także i takie, które wcześniej nie były w nim notowane tzw. nowo pojawiające się 'emerging contaminants' (ECs). Stanowią one bardzo zróżnicowaną grupę związków, o odrębnych właściwościach fizykochemicznych i toksycznych, do której zalicza się m. in. antybiotyki (ludzkie i weterynaryjne), leki, w tym leki hormonalne, pestycydy, środki powierzchniowo czynne i składniki kosmetyków, detergentów, substancje przeciwpalne i przeciwutleniające, stabilizatory, plastyfikatory, nanocząstki. Substancje te przed wprowadzeniem do obrotu handlowego były scharakteryzowane w pod kątem ich toksyczności i ekotoksyczności. Brak natomiast jest rzetelnej wiedzy na temat bezpośredniego działania wieloskładnikowych mieszanin takich nowo pojawiających się substancji, aktywności biologicznej wynikającej z zachodzących pomiędzy nimi interakcji (addytywność, antagonizm, synergizm) oraz związkami będącymi produktami przemian w organizmach żywych i środowisku.

Nowo pojawiające się substancje mogą zatem stwarzać poważne i słabo poznane zagrożenie dla środowiska poprzez szkodliwe oddziaływanie na poszczególne jego komponenty. W pracy podjęto próbę przeprowadzenia priorytetyzacji nowo pojawiających się związków w środowisku na podstawie dostępnych danych literaturowych. Uwzględniono w niej właściwości fizykochemiczne i toksykologiczne nie tylko czystych związków, ale również produktów ich przemian w organizmach żywych i środowisku. Przeprowadzona ocena ma na celu wskazanie, które z nowo pojawiających się substancji stanowią potencjalne zagrożenie dla środowiska, a zatem powinny być uwzględniane przy tworzeniu regulacji prawnych lub rozwijaniu nowych metod analitycznych.

Problemy wynikające z próby zastosowania biotestów do oceny jakości powietrza

K. SOSNOWIEC¹, L. WOLSKA^{1,2}

¹Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Powstania Styczniowego 9b, 81-519 Gdynia

² Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk
kasiaso@gumed.edu.pl

Słowa kluczowe: biotesty, jakość powietrza wewnątrz, lotne związki organiczne.

Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) ocenia zagrożenia wywoływane przez lotne związki organiczne (LZO, *ang. VOCs*), emitowane z większości materiałów jako najistotniejsze źródło emisji związków toksycznych do powietrza wewnątrz. Mimo ciągłego rozwoju metod chemicznych, służących identyfikacji LZO, współczesna analityka nadal spotyka się z problemem oznaczania tych związków. Są one oznaczane w powietrzu wewnątrz przede wszystkim z zastosowaniem chromatografii gazowej sprzężonej z spektrometrią mas. Jednak przy szacowaniu ryzyka zdrowotnego metody analityczne zawodzą. Nie uwzględniają one faktu występowania szerokiego spektrum związków o zróżnicowanym zakresie stężeń, wykazujących różnorodne własności toksykologiczne, i pomijają efekt współdziałania pomiędzy nimi.

Wydaje się, że poszerzenie oceny jakości powietrza wewnątrz o metody bioanalityczne (biotesty) może stanowić cenne źródło informacji, uzupełniającej wyniki badań chemicznych. Dotychczas biotesty wykorzystywane były do oceny próbek wód i osadów. W ocenie jakości powietrza biotesty używane są sporadycznie (np. niektóre rośliny, bakterie, drożdże, zwierzęta oraz linie komórkowe). Wynika to stąd, że w biotestach wykorzystuje się szeroko znane i często stosowane organizmy wskaźnikowe bytujące w wodzie.

W pracy zostanie przedstawiona próba zaadoptowania do oceny jakości powietrza biotestów pierwotnie polecanych do oceny środowiska wodnego, takich jak Microtox® czy Thamnotoxkit F™. Badania wykazały, że próg wrażliwości nawet dla takich organizmów jak *Thamnocephalus platyurus* był zbyt niski. Stąd podjęto próbę wzbogacania LZO na sorbencie i wykorzystania testu Ostracodtoxkit F, który dedykowany jest oznaczaniu toksyczności osadów lub gleb. Modyfikacja procedury pobierania próbek polegała na zastąpieniu gleby referencyjnej, zdefiniowanym sorbentem stałym, na którym wzbogacane były związki emitowane z wybranego materiału budowlanego czy wyposażeniowego. Badania wykazały, że w próbce kontrolnej/zerowej małżoraczki wykazywały wzrost spełniający warunki testu, co pozwoliło zamienić piach referencyjny (stosowany jako kontrola w standardowej procedurze) na inny sorbent stały. Modyfikacja procedury umożliwi ocenę większej ilości materiałów użytku budowlanego i wyposażeniowego. Pozwoli także na wstępną ocenę jakości materiałów budowlanych i wyposażeniowych przy zastosowaniu biotestu Ostracodtoxkit F. W trakcie badań zidentyfikowano problemy wynikające z próby zastosowania biotestów do oceny jakości powietrza, ale także przedstawiony zostanie potencjał informacyjny zawarty w metodach bioindykacyjnych, które mogą stanowić uzupełnienie informacji uzyskiwanych w trakcie tradycyjnego monitoringu chemicznego.

Wpływ wybranych WWA na mikroorganizmy i rośliny w glebach o zróżnicowanej historii zanieczyszczenia

A. KLIMKOWICZ-PAWLAS, B. MALISZEWSKA-KORDYBACH, B. SMRECZAK

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
e-mail: agnes@iung.pulawy.pl

Słowa kluczowe: WWA, mikroorganizmy, rośliny, zanieczyszczenia gleb, ekotoksyczność, fitotoksyczność.

Zanieczyszczenie gleb przez wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), ze względu na ich właściwości toksyczne, mutagenne i rakotwórcze, może stwarzać zagrożenie dla wszystkich organizmów żyjących w danym ekosystemie. Reakcja zarówno mikroorganizmów glebowych jak i roślin na obecność zanieczyszczeń zależy od czynników środowiskowo-glebowych i właściwości związków chemicznych, ale także od czasu ich kontaktu (narażenia na działanie ksenobiotyku). W glebach poddawanych działaniu związków toksycznych przez dłuższy czas mikroorganizmy mogą wykazywać adaptację do specyficznych warunków środowiskowych oraz mniejszą czułość w stosunku do tych substancji przy ich powtórny wprowadzeniu do gleby (Macleod i Semple 2002). Informacje na temat różnic w oddziaływaniu WWA w glebach o różnej historii zanieczyszczenia są bardzo istotne przy ocenie ryzyka oraz w procesach bioremediacji gleb zanieczyszczonych tymi związkami. Niestety dotychczasowe dane w literaturze z tego zakresu są bardzo ograniczone (Sverdrup 2001, Klimkowicz-Pawlas i Maliszewska-Kordybach 2003).

Celem badań była ocena ekotoksykologicznego oddziaływania wybranych WWA (fenantrenu i pirenu) w glebach o zróżnicowanej historii zanieczyszczenia. Materiał glebowy do badań pochodził z 20 gleb o zróżnicowanych właściwościach i różnym okresie narażenia na oddziaływanie WWA (tereny niezanieczyszczone i obszary długotrwale podane wpływowi WWA). Wszystkie gleby sztucznie zanieczyszczano fenantrenem i pirenem w zakresie 1 - 1000 mg pojedynczego związku na kg gleby. Badania ekotoksykologiczne obejmowały określenie reakcji mikroorganizmów glebowych oraz roślin w początkowym etapie rozwoju. W testach mikrobiologicznych uwzględniono czułą na obecność WWA grupę bakterii nitryfikacyjnych – przeprowadzono pomiary potencjału nitryfikacji (ISO 15685:2004) po 7 dniach narażenia na oddziaływanie węglodorów. W testach fitotoksyczności zastosowano jako roślinę testową pomidor (*Lycopersicon esculentum* Miller), wytypowany na podstawie wcześniej prowadzonych badań (Klimkowicz-Pawlas 2005). Ocenę oddziaływania fenantrenu i pirenu oparto na pomiarach wysokości siewek oraz świeżej i suchej masy części nadziemnych po 14 dniach wzrostu roślin.

Stwierdzono, iż wprowadzenie dodatkowego ładunku WWA do gleb uprzednio niezanieczyszczonych spowodowało silniejsze zahamowanie aktywności bakterii nitryfikacyjnych i wzrostu pomidora w porównaniu do gleb przez wiele lat narażonych na oddziaływanie związków toksycznych. Wyższą odporność organizmów w glebach z terenów zanieczyszczonych można tłumaczyć wytworzeniem mechanizmów adaptacyjnych i aklimatyzacyjnych do warunków środowiskowych i obecności zanieczyszczeń. Historia zanieczyszczenia gleb jest więc jednym z czynników, które należy uwzględniać przy ocenie wyników badań ekotoksyczności.

Literatura:

1. Klimkowicz-Pawlas A., Maliszewska-Kordybach B. 2003. Effect of anthracene and pyrene on dehydrogenases activity in soils exposed and unexposed to PAHs. *Water Air Soil Poll.*, 145, 169-186.
2. Macleod C.J.A., Semple K.T. 2002. The adaptation of two similar soils to pyrene catabolism. *Environ. Poll.*, 119, 357-364.
3. Klimkowicz-Pawlas A. 2005. Wpływ wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych na aktywność mikrobiologiczną gleb i na rośliny. *Praca doktorska..* IUNG-PIB, Puławy.
4. Sverdrup L.E. 2001. Toxicity of tar constituents in terrestrial ecosystem. Effects of eight polycyclic aromatic compounds on terrestrial plants, soil invertebrates and microorganisms. *Ph.D. Thesis*, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Oslo.

Badania były realizowane w ramach projektów: programu wieloletniego IUNG-PIB zadanie 1.2 oraz działalności statutowej IUNG-PIB temat 4.3.2.

Wielowymiarowa ocena skażenia gleb z torów kolejowych

M. WIERZBICKA¹, O. BEMOWSKA^{1,2}, B. GWOREK²

¹ Instytut Botaniki, Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, I. Miecznikowa 1, 02-09 Warszawa, Polska

² Instytut Ochrony Środowiska – Państwowy Instytut Badawczy, Krucza 5/11d, 00-548 Warszawa, Polska
wierzbicka@biol.uw.edu.pl

Słowa kluczowe: kolej, tory kolejowe, gleba, zanieczyszczenia, biotesty

Transport kolejowy może stanowić źródło skażenia gleb i organizmów żywych. Jego specyfiką, oprócz złożoności samego procesu przewozowego, jest obecność rozbudowanej i skomplikowanej infrastruktury. Różnorodne wykorzystanie obszarów kolejowych wiąże się z dużym zróżnicowaniem zanieczyszczeń. Najważniejszymi substancjami skażającymi są tu: WWA, PCB, substancje ropopochodne (m.in. oleje mineralne), pestycydy i metale ciężkie. Badania dotyczące skażenia środowiska przez transport kolejowy nie są powszechne i dotyczą jedynie rodzaju, rozmieszczenia oraz poziomu substancji skażających. Opierając się wyłącznie na parametrach fizykochemicznych środowiska trudno w pełni przewidzieć reakcję organizmów, populacji, czy biocenoz na skażenie. Związki toksyczne mogą występować w wielu formach o różnej dostępności i wykazywać zróżnicowane działanie. Pełna ocena stopnia skażenia obszarów kolejowych wymaga przeprowadzenia także badań biologicznych, które uzupełnią dane i pomogą uzyskać pełen obraz badanego problemu. Celem badań była wielowymiarowa ocena stopnia toksyczności i skażenia gleb z wybranych obszarów kolejowych za pomocą biotestów oraz badań fizykochemicznych.

Przeprowadzono analizy gleb z torów kolejowych (próby pobrano pomiędzy i na zewnątrz szyn w obrębie toru z głębokości 0–20 cm) położonych w północno-wschodniej Polsce. Próby pochodziły ze stacji: Białystok Fabryczny [region podlaski; czynna; transport towarowy o niewielkim natężeniu; przechodzi tędy linia nr 37 (połączona z linią nr 32)]; Waliły [region podlaski; czynna; transport towarowy; linia nr 37]; Hajnówka [region podlaski; czynna; transport towarowy; linia nr 31 (połączona z linią nr 32)]; Siemianówka [region podlaski; czynna; transport towarowy; linia nr 31]; Iława Główna [zachodnia część regionu mazurskiego; czynna; transport pasażerski i towarowy; ważne skrzyżowanie dróg kolejowych; przechodzą tędy linie nr: 9, 251 i 353]. Ocenę toksyczności badanych prób glebowych przeprowadzono za pomocą biotestów: PhytotoxkitTM [organizmy testowe: *Lepidium sativum* L., *Sinapis alba* L., *Sorghum saccharatum* (L. emend. L.) Moench]; Ostracodtoxkit FTM [*Heterocypris incongruens* (Ramdohr, 1808)]; Daphtoxkit FTM [*Daphnia magna* (Straus, 1820)]; Microtox [*Vibrio fischeri*]. W badaniach fizykochemicznych wybrane próby przebadano pod kątem obecności: WWA, PCB i węglowodorów ropopochodnych (sumy benzyn i olejów mineralnych), metali ciężkich Cu, Pb, Cd, Zn, Cr, Ni i Hg oraz pozostałości środków ochrony roślin.

W teście Phytotoxkit najbardziej toksyczne okazały się gleby ze stacji Siemianówka i Białystok Fabryczny. Korzeniowe indeksy toksyczności dla stacji Siemianówka dochodziły do 90%, zaś dla stacji Białystok Fabryczny do 70%. Zaobserwowano tu także zjawisko geotropizmu ujemnego korzeni. Gleby z pozostałych stacji wykazywały nieznaczną toksyczność lub jej brak. W teście Ostracodtoxkit najwyższa śmiertelność organizmów wystąpiła po kontakcie z glebami ze stacji Białystok Fabryczny (100%) i Siemianówka (~97%). W pozostałych próbach śmiertelność organizmów wynosiła około 30%. Najwyższe

hamowanie wzrostu wystąpiło u organizmów inkubowanych z glebą ze stacji Siemianówka (100%). W teście Daphtokit podczas badań skринingowych najwyższą śmiertelność (100%) wykazały organizmy umieszczone w próbie ze stacji Białystok Fabryczny, zaś średnią w próbie ze stacji Siemianówka. Jedynie w tych próbach przekroczony został poziom LC_{50} . W rozcieńczonych ekstraktach prób ze stacji Białystok Fabryczny i Siemianówka (100–6,25%) odnotowano spadek śmiertelności organizmów wraz z malejącymi rozcieńczeniami. Stuprocentową śmiertelność powodowały stężenia 100, 50, 25 i 12,5% próby ze stacji Białystok Fabryczny oraz stężenie 100% próby ze stacji Siemianówka. Organizmy, które przeżyły inkubację w niższych stężeniach tych prób wykazywały zmniejszoną aktywność. Podczas badań skринingowych w teście Microtox najwyższe hamowanie intensywności świecenia bakterii (powyżej EC_{50}) zostało zaobserwowane dla prób ze stacji Białystok Fabryczny (~100%) i Siemianówka (63%). Reszta badanych prób nie przekroczyła poziomu EC_{50} i charakteryzowała się średnią lub niską szkodliwością. W kolejnych rozcieńczeniach ekstraktów prób ze stacji Białystok Fabryczny i Siemianówka (100–0,02%) najwyższe hamowanie intensywności świecenia bakterii zostało zaobserwowane dla stężeń 100, 50% (przekroczenie EC_{50} po 5 min. ekspozycji) i 25% (EC_{50} po 15 min.) próby ze stacji Białystok Fabryczny oraz stężenia 100% próby ze stacji Siemianówka (EC_{50} po 5 min.). Opierając się na wynikach biotestów wytypowano do badań fizykochemicznych gleby ze stacji Białystok Fabryczny i Siemianówka oraz niewykazującą szkodliwego działania glebę ze stacji Waliły jako materiał odniesienia. Najwyższe zawartości substancji ropopochodnych (Σ benzyn $134,1 \pm 40,2$ mg/kg; Σ olei min. $2520,0 \pm 730,8$ mg/kg), WWA ($20,5 \pm 4,9$ mg/kg) i PCB ($0,116 \pm 0,046$ mg/kg) wykryto w próbie ze stacji Białystok Fabryczny, zaś średnie w próbie ze stacji Siemianówka. W żadnej z gleb nie wykryto pozostałości środków ochrony roślin. We wszystkich próbach odnotowano obecność metali ciężkich (najwięcej w glebie ze stacji Białystok Fabryczny). Jedynie wyniki zawartości olei mineralnych dla próby ze stacji Białystok Fabryczny po doliczeniu oszacowanej niepewności przekraczają polskie normy dopuszczalnych stężeń ustalone dla gleb terenów przemysłowych i komunikacyjnych (Rozp. MŚ z 09.09.2002 r. w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi; zgodne z prawem UE).

Zastosowanie zespołu biotestów pozwoliło dokonać kompleksowej oceny wpływu badanych prób na organizmy z różnych poziomów troficznych. Wykazano, że toksyczność gleb z torów kolejowych jest dość zróżnicowana. Najbardziej szkodliwe były gleby ze stacji Białystok Fabryczny (najwyższa toksyczność) i Siemianówka. Gleby ze stacji Iława Główna wykazały średni efekt toksyczny, zaś w próbach ze stacji Hajnówka i Waliły odnotowano jego brak lub znikomy efekt. Szkodliwość prób zależy m.in. od stężenia substancji skażających oraz wrażliwości organizmów. Wyniki analiz fizykochemicznych potwierdziły, że na obszarach kolejowych występują skażenia substancjami ropopochodnymi, WWA, PCB i metalami ciężkimi. Skażenie gleb z torów kolejowych jest zróżnicowane i ma charakter lokalny, zaś w przypadku substancji ropopochodnych również punktowy. Główną przyczyną tak dużej toksyczności gleb ze stacji Białystok Fabryczny i Siemianówka mogą być wysokie zawartości substancji ropopochodnych zawartych w tych próbach, zaś ich obecność na obszarach kolejowych może stanowić zagrożenie dla środowiska. Przedostając się w głąb gleby substancje ropopochodne powodują jej zbrylanie, zmianę właściwości fizykochemicznych i biologicznych, a także pogorszenie zdolności produkcyjnych.

Na podstawie uzyskanych danych stwierdzono, iż transport kolejowy może stanowić potencjalne zagrożenie dla środowiska przyrodniczego, zwłaszcza gdy występujące tu skażenia okażą się biodostępne dla organizmów.

Ocena potencjału genotoksycznego substancji pochodzących od cyjanobakterii

A. SIEROSŁAWSKA

Katedra Fizjologii i Ekotoksykologii, Instytut Biotechnologii, Katolicki Uniwersytet Lubelski
Jana Pawła II, Konstantynów 1I, 20-708 Lublin
ansie@kul.lublin.pl

Słowa kluczowe: sinicowe zakwitły wód, cyjanotoksyny, genotoksyczność, test Ames, test umuC

Cyjanobakterie są źródłem wielu substancji biologicznie aktywnych o różnorodnej budowie chemicznej i zróżnicowanym sposobie działania. Wśród nich znajdują się cyjanotoksyny, które ze względu na efekt toksyczny przy ekspozycji ostrej dzielone są na hepatotoksyny, neurotoksyny, cytotoxyny, toksyny powodujące podrażnienia oraz działające na układ pokarmowy (Codd et al., 2005).

Oprócz tych najbardziej ewidentnych efektów działania, należy brać pod uwagę również inne konsekwencje związane z intoksykacją produktami cyjanobakterii, w tym ich działanie genotoksyczne. Na podstawie dostępnych wyników badań, hepatotoksyna mikrocystyna-LR zakwalifikowana została przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem do grupy 2B, czyli substancji przypuszczalnie rakotwórczych dla ludzi, dla których istnieje ograniczony dowód działania rakotwórczego na ludzi i wystarczający dowód rakotwórczości u zwierząt doświadczalnych. (IARC, 2010). W przypadku kolejnej hepatotoksyny, cylindrospermopsyny, nie ma wystarczających informacji, na podstawie których możliwe byłoby potwierdzenie lub zaprzeczenie jej działania kancerogennego. Brak jest również badań nad potencjalnym działaniem genotoksycznym i rakotwórczym na człowieka neurotoksyny, anatoksyny-a.

Celem pracy była ocena działania genotoksycznego trzech cyjanotoksyn w postaci czystej, mikrocystyny-LR, cylindrospermopsyny oraz anatoksyny-a, z wykorzystaniem testów bakteryjnych. Badaniom poddano również ekstrakty uzyskane z komórek sinic zebranych w czasie zakwitów ze zbiorników wodnych Lubelszczyzny. Spośród dziesięciu przebadanych ekstraktów, obecność toksyn w różnych proporcjach wykryto w ośmiu. Badania potencjału genotoksycznego cyjanotoksyn w postaci czystej przeprowadzono za pomocą testu umuC oraz testu Ames (Xenometrix, Switzerland), przy najwyższym użytym stężeniu cyjanotoksyn, odpowiednio, 5 i 10 µg/ml.

Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że wszystkie badane toksyny zdolne były w teście umuC do indukcji genów systemu SOS u bakterii *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002, odpowiedzialnego za naprawę powstałych uszkodzeń DNA. Jednocześnie, w teście Ames, nie stwierdzono działania mutagennego badanych cyjanotoksyn wobec bakterii *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 oraz *Escherichia coli* WP2 uvrA i WP2 [pKM101].

Natomiast ocena potencjału mutagennego ekstraktów uzyskanych z komórek sinic, ujawniła w kilku przypadkach statystycznie istotny wzrost liczby rewertantów. W każdym z tych ekstraktów obecne były cyjanotoksyny, jednakże na podstawie badań nad toksynami w postaci czystej, wydaje się, że obserwowane działanie mutagenne ekstraktów indukowane było przez inne, niezidentyfikowane składniki pochodzące z komórek sinic.

Praca naukowa finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, Grant Nr N N304 306940.

Piśmiennictwo:

Codd G.A., Morrison L.F., Metcalf J.S., 2005. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Tox. Appl. Pharmacol.* 203, 264– 272.

IARC, 2010. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. WHO Press, Vol. 94.

Wykorzystanie markerów genetycznych dla oceny występowania genotypów toksycznych sinic odpowiedzialnych za produkcję hepatotoksyn

¹GAGAŁA I., ³PAWEŁCZYK J., ³DZIADEK J. ^{1,2}MANKIEWICZ-BOCZEK J.

¹Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii p/a UNESCO, ul. Tylna 3, 90-364 Łódź

²Katedra Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

³Instytut Biologii Medycznej PAN, ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź
e-mail: i.gagala@erce.unesco.lodz.pl

Słowa kluczowe: wczesny monitoring, real-time PCR, Microcystis, gen mcyA, genotypy toksyczne, hepatotoksyn sinicowe - mikrocytyny

Występowanie toksycznych zakwitów wody zdominowanych przez sinice może być niebezpieczne i szkodliwe dla środowiska, jak też zdrowia ludzi i zwierząt. Skala problemu została zauważona przez WHO oraz UE, której Dyrektywa 2006/07/WE dotycząca zarządzania jakością wody na kąpieliskach została przyjęta w polskim Prawie Wodnym (2001).

Jednakże w naszym prawodawstwie brak jest dokładnie opisanego postępowania w wypadku wykrycia sinic w wodzie, tzn. schematu monitoringu ze wskazaniem metod umożliwiających właściwą identyfikację problemu.

Zastosowanie zintegrowanych procedur monitoringu toksycznych zakwitów sinicowych jest niezbędne w celu oceny stanu ekosystemów wodnych w odniesieniu do występowania ww. zakwitów i potencjalnego zagrożenia zdrowia. W Polsce, jak do tej pory, najczęściej wykrywanymi toksynami sinicowymi są mikrocytyny (MCs) należące do hepatotoksyn. Długofalowe badania prowadzone na Zbiorniku Sulejowskim (Polska Centralna) pozwoliły na opracowanie i wdrożenie systemu monitorowania sinic produkujących MCs dla ww. zbiornika. Należy podkreślić, że system monitoringu hepatotoksycznych sinic może być z powodzeniem rekomendowany dla zastosowania w przypadku innych zbiorników słodkowodnych. Ważnym elementem tego systemu, umożliwiającym wczesne wykrycie zagrożenia oraz zrozumienie warunków promujących występowanie genotypów toksycznych sinic oraz toksyn sinicowych, było wprowadzenie badań molekularnych w oparciu o metody PCR (*ang.* Polymerase Chain Reaction) oraz qRT-PCR (*ang.* quantitative Real-Time PCR).

Na potrzeby prezentowanej pracy zostały wybrane dwa specyficzne markery molekularne niezbędne do prześledzenia ilości sinic z rodzaju *Microcystis* (gen 16S rRNA) oraz ich toksycznych genotypów (gen *mcyA*; startery opracowane w ramach projektu NCN NN 305096439).

Analizy molekularne wykonane w roku 2009 i 2010, w sezonie letnim na Zbiorniku Sulejowskim, umożliwiły oszacowanie ilości oraz proporcji genotypów toksycznych w stosunku do całkowitej puli sinic z rodzaju *Microcystis*.

Otrzymane wyniki potwierdziły występowanie genotypów toksycznych o potencjale do produkcji MCs w obu miejscach monitoringowych (Tresta i Bronisławów) od kwietnia do października (rok 2009 i 2010). Ponadto wykazano zmienność w ilości genotypów toksycznych w stosunku do całkowitej puli sinic z rodzaju *Microcystis* (średni zakres 1% - 70%) w obu sezonach monitoringowych, co umożliwiło utrzymanie średniego stężenia MCs na podobnym poziomie 1-2 µg/L w roku 2009 i 2010, niezależnie od miejsca monitoringu.

Podsumowując, potwierdzono, iż jakościowa i ilościowa analiza genów 16S rRNA i *mcyA* specyficznych dla sinic z rodzaju *Microcystis* jest ważnym narzędziem dla wczesnego ostrzegania przed potencjalnym zagrożeniem ze strony sinic zdolnych do produkcji MCs. Jest

to metoda bardzo czuła (minimalna biomasa sinic w badanych próbkach wody wyniosła 0,02 mg/L), umożliwiającą analizę wielu próbek jednocześnie. Ponadto ilościowy monitoring genotypów toksycznych wraz z analizą innych parametrów środowiskowych umożliwia zrozumienie zależności przyczynowo-skutkowych wpływających na rzeczywiste stężenie hepatotoksyn sinicowych w wodzie, co w dalszym etapie jest niezbędne dla opracowania metod mających na celu poprawę jakości wody.

Praca finansowana oraz wykonana w ramach Projektu NCN NN 305096439 „Wyjaśnienie związków przyczynowo-skutkowych pomiędzy występowaniem toksynogennych zakwitów sinic a czynnikami abiotycznymi i biotycznymi ze szczególnym uwzględnieniem roli wirusów i bakterii”.

Zastosowanie testów bioindykacyjnych w badaniach genotoksyczności pyłowych zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego

KATARZYNA PIEKARSKA, AGNIESZKA TRUSZ-ZDYBEK, MACIEJ BEŁCIK

Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska, Wydział Inżynierii Środowiska
Politechnika Wrocławska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław
katarzyna.piekarska@pwr.wroc.pl

Słowa kluczowe: aglomeracja miejska, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), nitro-WWA, test Salmonella, SOS chromotest

Powietrze stanowi nośnik ksenobiotyków na które narażony jest organizm człowieka drogą oddechową. Powietrzem oddychamy w sposób niezamierzony przez całą dobę, pobierając w tym czasie około 11m³ powietrza. W zanieczyszczonym powietrzu atmosferycznym występuje ponad 2000 związków z różnych klas chemicznych, które tworzą bardzo złożone mieszaniny o nieznanymi właściwościami biologicznymi. Najpowszechniej znane jest działanie mutagenne i kancerogenne wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA). Znaczącym źródłem WWA w powietrzu atmosferycznym są procesy niepełnego spalania związków organicznych. W trakcie spalania paliw oraz w wyniku reakcji chemicznych zachodzących w atmosferze pomiędzy występującymi tam zanieczyszczeniami powstają też inne związki genotoksyczne: polarne związki aromatyczne, związki heterocykliczne i fenole. Znaczną mutagennością odznaczają także się nitrowe i aminowe pochodne WWA. Większość zanieczyszczeń powietrza to zanieczyszczenia gazowe. Drugą grupę zanieczyszczeń stanowią zanieczyszczenia pyłowe (PM, ang. particulate matter), będące złożoną mieszaniną substancji organicznych i nieorganicznych. Pyłem nazywamy mieszaninę małych cząstek stałych zawieszonych w powietrzu. Mogą one przyjmować postać od submikrocząstkowych aerozoli do widocznych cząstek pyłów. W zależności od rozmiaru cząstek dzielimy go na pył o średnicach mniejszych niż 10 µm (PM10), mniejszych od 5 µm (PM5), mniejszych od 2.5 µm (PM2.5) i mniejszych od 1 µm (PM1). Skutki zdrowotne, jakie pył zawieszony może wywoływać u ludzi, zależą zarówno od wielkości jego cząstek, jak i od ich stężenia. Cząstki respirabilne (<5µm) posiadają duże znaczenie biologiczne, ponieważ ich stosunkowo długie czasy półtrwania w atmosferze, warunkują większe prawdopodobieństwo przedostania się do układu oddechowego człowieka. Ze względu na znaczną powierzchnię czynną płuc resorpcja związków chemicznych zaadsorbowanych na cząstkach pyłów zachodzi z dużą intensywnością głównie w pęcherzykach płucnych. Cienka, delikatna natura tej tkanki czyni ją podatną na absorpcję substancji mutagennych i na uszkodzenia przez nie spowodowane. Te zanieczyszczenia, które znajdują się na powierzchni pęcherzyków płucnych mogą przeniknąć bezpośrednio do układu krwionośnego i spowodować ekspozycję na związki mutagenne innych tkanek.

Oceny stopnia zanieczyszczenia powietrza dokonuje się poprzez określenie stężenia pyłu zawieszonego oraz WWA z listy USEPA (United State Environmental Protection Agency), a następnie porównanie ich wartości z dopuszczalnymi wartościami określonymi przepisami prawa. Postępowanie takie pozwala jedynie na ocenę aktualnego stanu środowiska, a nic nie mówi na temat oddziaływania zanieczyszczeń na organizmy żywe. Pełna analiza chemiczna zanieczyszczeń powietrza jest nierealna ze względu na złożoność ich składu oraz ze względu na wzajemne oddziaływania poszczególnych zanieczyszczeń w mieszaninie. Analiza chemiczna nie może więc być podstawą do prognozowania biologicznych skutków jakie mogą zanieczyszczenia wywołać w stosunku do ludzi i zwierząt. Stąd też konieczność

zastosowania w kontroli jakości środowiska atmosferycznego badań bioindykacyjnych obok metod analitycznych.

Wobec wprowadzania, przez człowieka, do środowiska naturalnego setek nowych substancji rocznie, jedynie mała część z nich może być przebadana na zwierzętach. Stąd też do wstępnej oceny genotoksyczności i cytotoksyczności związków chemicznych stosuje się testy przesiewowe (krótkoterminowe) nie wymagające wykorzystywania zwierząt doświadczalnych. W badaniach nad oceną mutagenności zanieczyszczeń środowiskowych najszersze zastosowanie znalazł bakteryjny test *Salmonella* (test Ames), opracowany w latach 70. XX wieku przez amerykańskiego profesora Bruca Ames. Test opiera się na sprawdzeniu, czy badany materiał powoduje mutację powrotną (rewersję) specjalnych histydynozależnych (*his^r*) szczepów bakterii *Salmonella typhimurium* LT2. W celu metabolicznej aktywacji promutagenów stosowana jest w teście frakcja S9, składająca się z enzymów mikrosomalnych wyizolowanych z wątroby szczura indukowanej mieszaniną bifenyli. Wprowadzenie wariantu z aktywacją metaboliczną daje możliwość przenoszenia wyników uzyskanych w teście bakteryjnym na organizmy ssaków.

Konieczność badania wielu próbek środowiskowych w krótkim czasie doprowadziła do wzrostu zapotrzebowania na bardziej praktyczne i łatwe w wykonaniu metody pozwalające określić wpływ skażeń na organizmy żywe, a w dalszym etapie na stan całego ekosystemu. Wzrosło więc znaczenie szybkich zminiaturyzowanych testów toksyczności i genotoksyczności zwanych mikrobiotestami. Alternatywny w stosunku do testu *Salmonella*, należący do grupy mikrobiotestów, SOS chromotest, opiera się na uruchomieniu procesu naprawy DNA, zwanego systemem SOS, w komórkach bakterii *Escherichia coli* K12 PQ37. Jego uruchomienie wskazuje na uszkodzenie DNA. W SOS chromoteście wykorzystywana jest również frakcja S9, pod wpływem której promutageny ulegają przemianie w mutageny bezpośrednio. Testy przeprowadzane w obecności różnych związków chemicznych wykazały wysoką korelację pomiędzy wynikami otrzymanymi w SOS chromoteście a wynikami otrzymanymi w teście *Salmonella*. Dla 82% badanych substancji otrzymano podobną odpowiedź w obu testach. W literaturze niewiele jest doniesień na temat badań ekstraktów pyłów zawieszonych przy pomocy SOS chromotestu oraz porównania uzyskanych w nich wyników z wynikami testu *Salmonella*. Zastosowanie SOS chromotestu do oceny działania genotoksycznego zanieczyszczeń powietrza, zamiast tradycyjnie stosowanego testu Ames, wiązałoby się z wieloma korzyściami takimi jak: zmniejszenie pracochłonności wykonania i ilości potrzebnego sterylonego szkła laboratoryjnego jak również skrócenia czasu trwania badań. Ponadto, test *Salmonella* nie identyfikuje wszystkich zmian w DNA komórkowym. Wszystkie związki chemiczne, które powodują uszkodzenia DNA prowadzące do mutacji czy rozwoju nowotworów określane są jako genotoksyczne. Przy czym genotoksyczność utożsamiana ze szkodliwym działaniem na materiał genetyczny niekoniecznie musi być związana z działaniem mutagennym wykrywanym w teście Ames. Może prowadzić do uszkodzeń DNA przy braku bezpośrednich dowodów na powstanie mutacji. Przy pomocy SOS chromotestu można więc wykryć większą ilość końcowych efektów genetycznych wywoływanych przez organiczne zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego.

Celem badań była ocena mutagenności i genotoksyczności zanieczyszczeń chemicznych zaadsorbowanych na cząstkach pyłu zawieszzonego pobranego na terenie aglomeracji miejskiej Wrocławia oraz porównanie możliwości aplikacyjnych testu Ames i mikrobiotestu SOS chromotest do wykrywania substancji mutagennych i genotoksycznych w powietrzu atmosferycznym.

Praca została zrealizowana w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego Nr N523 612939 (2010-2013)