



VPLIV ČISTOSTI VODE NA CITOGENETSKI MATERIAL ČEBULE

Naja Klinar Prosenjak, Ariana Povše

Mentorja: Peter Firbas, univ. dipl. biol.,

Darja Rizmal, prof.

Celje, 2025

KAZALO VSEBINE

1	UVOD	4
2	TEORETIČNI DEL	5
2.1	Onesnaženost.....	5
2.2	Allium test.....	5
2.3	Celični cikel.....	6
2.3.1	Interfaza.....	6
2.3.2	Profaza.....	6
2.3.3	Metafaza	6
2.3.4	Anafaza.....	7
2.3.5	Telofaza.....	7
2.4	Čistilna naprava.....	7
2.4.1	Čiščenje odpadnih vod	7
2.4.2	Model ČN.....	8
2.4.3	Čistilna naprava Celje	8
3	METODOLOGIJA	11
3.1	Metode.....	11
3.2	Materiali	15
4	REZULTATI	16
5	RAZPRAVA	21
6	ZAKLJUČEK	22
7	BIBLIOGRAFIJA	23

KAZALO SLIK

Slika 1:Faze delitve celice: A-interfaza; B-profaza, C-metafaza, D-anafaza, E-telofaza [4]	7
Slika 2:Model ČN in vzorčna mesta	9
Slika 3:Čistilna naprava Celje [6]	10
Slika 4:Vzorčenje iz reke Savinje [6].....	10
Slika 5:Vzorci vode [6]	13
Slika 6:Allium test-priprava [6]	14
Slika 7:Allium test-priprava [6]	14
Slika 8:Allium test-priprava [6]	14
Slika 9:Allium test-preparat [6]i	14
Slika 10:Dolžina korenin čebulic-vzorec RS pred CČN [6]	17
Slika 11:Dolžina korenin čebulic-vzorec WW [6]	17
Slika 12:Dolžina korenin čebulic-vzorec FTE [6]	18
Slika 13:Dolžina korenin čebulic-vzorec RS po CČN [6]	18
Slika 14:Preparat WW pod mikroskopom [6].....	19
Slika 15:Preparat RS pred CČN [6]	20

POVZETEK

V raziskovalni nalogi smo raziskovali kakovost vode v reki Savinji ter učinkovitost čistilne naprave pri čiščenju odpadne vode. Za analizo je bil uporabljen Allium test, biološka metoda, ki omogoča odkrivanje genotoksičnosti in fitotoksičnosti z opazovanjem celičnih delitev v koreninskih vršičkih navadne čebule (*Allium cepa* L.). Metoda temelji na oceni mitotskega indeksa in identifikaciji kromosomskih aberacij v vzorcih vode pred in po čiščenju.

Rezultati raziskave kažejo, da ima voda reke Savinje pred centralno čistilno napravo (CČN) podobno stopnjo genotoksičnosti in mitotski indeks v primerjavi z vodo reke po CČN. Mitotski indeks vzorcev Savinje pred čiščenjem je znašal 16 %, po celotnem čiščenju pa 15 %. Največjo stopnjo genotoksičnosti (28,5 %) so izkazali vzorci neobdelane odpadne vode (WW), medtem ko so vzorci očiščene vode (FTE) imeli nižjo stopnjo (8,2 %). Ugotovljeno je bilo, da CČN CE učinkovito zmanjšuje prisotnost nekaterih škodljivih snovi, vendar čiščenje ne odpravi vseh genotoksičnih komponent.

Prisotnost kromosomskih aberacij (mikrojederne tvorbe, kromosomski mostovi in fragmenti) nakazuje na potencialne dolgoročne negativne vplive na organizme v okolju. Rezultati poudarjajo pomen nadaljnjega spremljanja genotoksičnosti očiščene vode za zaščito ekosistema

Ključne besede: Allium test, Savinja, čistilna naprava, genotoksičnost

1 UVOD

V naši raziskovalni nalogi smo se osredotočili na Allium test, biološko metodo, ki omogoča ocenjevanje genotoksičnosti in splošne toksičnosti različnih okoljskih vzorcev, predvsem vode. Z njegovo pomočjo zaznamo prisotnost potencialno škodljivih snovi, ki vplivajo na celične procese in dedni material organizmov. Metoda temelji na analizi celičnih delitev v rastlinskih celicah koreninskih vršičkov navadne čebule (*Allium cepa* L.). Ta rastlina zaradi svojih velikih kromosomov omogoča enostavno opazovanje sprememb v procesu mitoze.

V okviru raziskave smo preverjali, kako različni vzorci vode vplivajo na celične delitve pri čebuli, analizirali smo tudi kromosomske poškodbe, ki lahko nakazujejo na prisotnost genotoksičnih snovi. Zanima nas, ali okoljski vzorci vsebujejo snovi, ki lahko zavirajo mitozo ali povzročajo kromosomske aberacije. To bi namreč pomenilo potencialno tveganje tudi za druge organizme, vključno s človekom.

Kromosomske aberacije predstavljajo strukturne spremembe kromosomov, ki lahko nastanejo zaradi različnih fizikalnih, kemičnih ali bioloških dejavnikov. Med najpogostejše aberacije sodijo kromosomski mostovi, mikrojedrne tvorbe, fragmenti in razcepljeni kromosomi. Te spremembe so posledica nepravilnosti v delitvi celic, kot so nepravilna razporeditev kromosomov, zavrtja citokineza ali poškodbe vretenastega aparata. V raziskavi so bile prav te aberacije in napake v procesu mitoze ključni pokazatelji vpliva onesnažene vode na celično strukturo navadne čebule (*Allium cepa* L.). Podatki, pridobljeni z Allium testom, so omogočili vpogled v morebitne škodljive učinke odpadne vode pred in po čiščenju v CCN CE.

Glavni cilj naše raziskave je: določiti mitotski in genotoksični indeks ter analizirati strukturne spremembe v kromosomih celic, ki smo jih izpostavili različnim vodnim vzorcem reke Savinje. Vzorci so bili vzeti pred čistilno napravo Celje in po njej, vzorčili pa smo tudi odpadno dotočno vodo in čiščeno odtočno vodo v čistilni napravi. Naša hipoteza je, da čistilna naprava uspešno zmanjšuje prisotnost nekaterih škodljivih snovi. Rezultati bodo pokazali, ali onesnaženje je ali ga ni. Omogočili bodo spoznanja o vplivu in posledicah genotoksičnih snovi na organizme. Z našim raziskovanjem želimo prispevati k ozaveščanju o potrebi po nadzoru onesnaževal, ki lahko negativno vplivajo na ekosisteme in zdravje organizmov.

2 TEORETIČNI DEL

2.1 Onesnaženost

V okolju, zlasti v vodah, se kopičijo številne kemikalije, ki jih odlaga industrija z nenadzorovanimi izpusti v okolje, intenzivno kmetijstvo in tudi turizem. Te snovi v določenih koncentracijah na organizem delujejo mutageno, kar povzroča različno stopnjo okvar in poškodb genskega materiala, da pri tem sploh ne govorimo o industrijskih kemikalijah, težkih kovinah, kemikalijah farmacevtskega izvora, hormonskih motilcih in drugih onesnaževalcih. Nadzor nad ogromno množico toksičnih in genotoksičnih snovi v okolju se večinoma izvaja z analitsko kemijo. [1]

2.2 Allium test

Biološki testi kažejo posledice toksičnosti in genotoksičnosti. Genotoksiki so snovi, ki povzročajo kromosomske poškodbe, raziskave o njih pa imenujemo genotoksični testi.

Čebulni test (Allium test) je test za ugotavljanje genotoksičnosti v vodnih, kopenskih in zračnih ekosistemih. Zelo primeren je tudi za ugotavljanje strupenosti kemikalij in drugih najrazličnejših biocidov. Mednarodni program rastlinskih bioloških testov (International Program on Plant Bioassays, IPPB) je čebulni test potrjuje za biomonitoring in testiranje okoljskih onesnaževalcev. V okviru teh programov je test standardiziran in validiran.

Čebulni test je eden od rastlinskih testov, pomemben je za raziskavo različnih vrst voda (pitne vode, površinske stoječe in tekoče vode, odpadne komunalne vode, izcedne vode odlagališč in padavinske vode). Gre za dopolnilno metodo kemičnim analizam.

Testna rastlina, navadna čebula *Allium cepa* L., se odziva na vse snovi v vodi - ne glede na to, koliko jih je.

Prednost tega testa je tudi v tem, da vodni vzorci ne potrebujejo kakršne koli predhodne obdelave. Sočasno se s čebulnim testom ugotavlja splošna toksičnost in genotoksičnost. Rezultati se lahko z visoko zanesljivostjo prenesejo na človeka.

Prvotni Allium test se sedaj obravnava kot ALLIUM METODA, ki je razdeljena na tri ravni.

Allium splošni fitotoksični (Allium F) test: dolžina korenin testne rastline. Odpadne vode zavirajo celične delitve, kar se kaže v kratki dolžini in rasti korenin testnih rastlin *Allium cepa* L.

Allium anafazno-telofazni (Allium A-T) test: okvare v procesu celične delitve oz. mitoze

Allium metafazni (Allium M) test: kromatidne in kromosomske poškodbe v metafazi mitoze. [1]

Testna rastlina *Allium cepa* L. ima 16 kromosomov; kromosomi pa so relativno veliki in zelo primerni za detekcijo kromatidnih in kromosomskih poškodb. Pogostnost kromosomskih poškodb (KP) se ugotavlja v celicah ravnih vršičkov korenin testne rastline, navadne čebule (*Allium cepa* L.). [2]

2.3 Celični cikel

Celični cikel obsega mitozo (M fazo) in interfazo. Pri rastlinskih celicah traja povprečno od 20 do 30 ur, pri tem mitozo predstavlja krajši del cikla, in sicer traja 1 do 2 uri. Po končani mitozii se lahko v celicah začne nov celični cikel (embrionalna tkiva) ali pa celice preidejo v trajno stanje (trajna tkiva). Mitozo lahko pri rastlinah največkrat opazujemo v koreninskih ravnih vršičkih, saj so ti za opazovanje pod mikroskopom najprimernejši. Pri mitozii ločimo štiri faze, in sicer: profazo, metafazo, anafazo in telofazo.

2.3.1 Interfaza

Interfaza poteka najdalj časa, saj traja povprečno devetkrat dlje kot delitev celic ali M-faza. Interfazo delimo na tri podobdobja: G1 je prva rastna faza, med njo se vrši priprava na sintezo DNK. S je obdobje sinteze DNK (podvojevanje), dvojni vijačnici se odvijeta in po vzorcu matične DNK sintetizirata novi kopiji; G2 je druga rastna faza; med njo se vrši sinteza beljakovin delitvenega vretena.

2.3.2 Profaza

V začetku profaze je kromatin v obliki tankih, dolgih odvitih niti. Proti koncu profaze se kromatinske niti zgostijo, zavijejo in krajšajo, zaradi tega so po mikroskopom dobro vidni kromosomi. Prične se tudi vzdolžna delitev profaznih kromosomov na dve sestrski kromatidi, ki ležita tesno druga ob drugi. Kromatidi ostaneta spojeni na mestu kromosoma, imenovanem primarna zožitev ali centromera. Ob koncu profaze se prične tvoriti ovoj kromosomov.

2.3.3 Metafaza

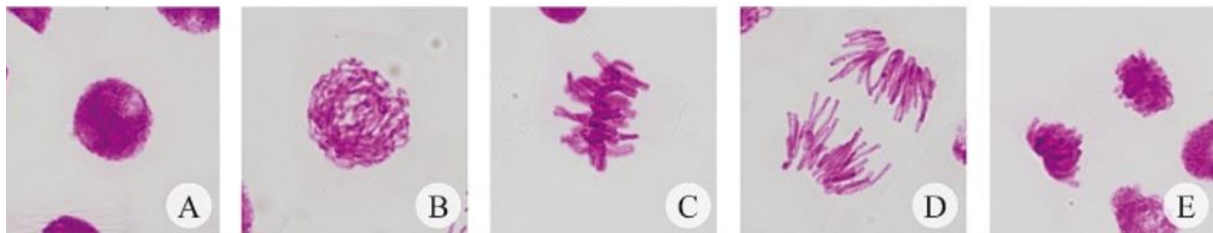
V metafazi se dokončno izoblikuje delitveno vreteno, tvorijo se polni mikrotubuli. Kromosomi so v metafazi najkrajši, najbolj zgoščeni in primerni za opazovanje in štetje. Metafazni kromosomi se dokončno razdelijo v dve sestrski kromatidi, ki sta spojeni le še v centromeri. V idealnem primeru so kromosomi razporejeni v ekvatorialni ravnini celice.

2.3.4 Anafaza

Sestrski kromatidi se v tej fazi dokončno ločita z nitmi delitvenega vretena. Kromatidi vleče proti nasprotnima poloma celice in dedna snov se enakomerno prerazporedi na hčerinski celici. Ko sta kromatidi vsaka na svojem celičnem polu, se anafaza konča.

2.3.5 Telofaza

V telofazi se kromosomi despiralizirajo, odvijajo, podaljšajo, izgubijo ovoj in preidejo v kromatin. Dedna snov z odvijanjem preide v delovno obliko. Niti delitvenega vretena razpadejo. Po opisanih procesih v jedru celice je telofaza nasprotna profazi. [3]



Slika 1: Faze delitve celice: (A-interfaza; B-profaza, C-metafaza, D-anafaza, E-telofaza [4])

2.4 Čistilna naprava

2.4.1 Čiščenje odpadne vode

Vodni biotopi so sestavni del ekosistema. Površinski vodotoki so končni sprejemniki in najbolj občutijo ali imajo posledice za sprejemanje čiščene iztočne vode (FCE – final cleaned effluent) iz čistilnih naprav ČN (WWTP – waste water treatment plant). Odpadna voda je kompleksna zmes (complex mixtures) kemikalij. Tvorijo jo, zelo heterogene molekulske skupine. Vključujejo tudi meteorni odtok, saj se s cest in parkirišč skupno s padavinami spirajo škodljive snovi (derivati petroleja, olja). Omeniti moramo tudi padavine s streh. Velike količine odpadne vode iz bivalnih okolij, industrijskih sektorjev in podjetij je potrebno čistiti, preden se sprostijo nazaj v okolje. Čiščena iztočna voda je bolj ali manj neločljivo povezana z drugimi vrstami okoljskih vod-splah kadar gre za njihovo rabo. Izraz »čiščenje odpadne vode« je pravzaprav »čiščenje kanaliziranih odplak oz. vsega, kar priteče na ČN.« Naravni procesi imajo sposobnost biorazgradnje odpadne vode, le kadar gre za manjše količine. ČN zmanjšujejo ali eliminirajo strupena onesnažila v odpadnih vodah v stabilne nestrupene produkte, tako se čiščena voda v določenih normativih vrne (odda) nazaj v okolje. Deloma neučinkovito čiščenje v ČN onesnažuje vodna okolja in lahko vpliva na življenje organizmov, populacij in ekosistemov. [2]

2.4.2 Model ČN

Model ČN je pristop k vrednotenju okoljske biotehnologije učinkovitega čiščenja, pri katerem z biomonitoringom sledimo biodegradaciji posamičnih strupenih kompleksih snovi v odpadni vodi (v manjše nestrupene molekulske produkte v čiščenih iztočnih vodah). Model ČN temelji na raziskavi štirih vzorcev: (i) vodotok pred ČN; (ii) dotočna nečiščena voda v ČN; (iii) čiščena iztočna voda iz ČN; (iv) vodotok po iztoku ČN (Slika 2).

Z raziskavo dobimo dva relevantna rezultata:

- učinek čiščenja v ČN,
- posledični vpliv čiščenih vod na sprejemni vodotok in stanje površinskega vodotoka na lokacijah v smeri vodotoka.

Učinek čiščenja na ČN in vpliv čiščenih iztokov iz ČN se kontrolira z ustreznimi fizikalno-kemijskimi, kemijskimi analizami in biološkimi testi. Fizikalno-kemijske in kemijske analize nam omogočajo mejo zaznavnosti (LOD – Limits of Detection) in mejo določljivosti (LOQ – Limits of Quantification) v okoljskih vzorcih. Različni biološki testi pa omogočajo, ali pri ugotovljenih koncentracijah kemijskih količinah prihaja do škodljivih učinkov v bioloških sistemih in ekosistemih. Ugotovimo lahko tudi oceno tveganja. [2]

2.4.3 Čistilna naprava Celje

Reka **Savinja**, ki teče skozi Celje, je bila pred začetkom delovanja čistilne naprave obremenjena zaradi dotoka komunalne in tehnološke vode. Odpadna voda je Savinjo in druge vodotoke tako onesnažila, da niso bile ogrožene samo živali in rastline, pač pa tudi človek.

Aprila leta 2004 je bila v Tremerjah zgrajena Čistilna naprava Celje. Zgrajena je za biološko čiščenje komunalne odpadne vode. Čisti odpadno vodo mesta Celja in okoliških naselij. Čistilna naprava Celje (z zmogljivostjo 85.000 populacijskih enot) sodi med večje čistilne naprave v Sloveniji. ČN Celje se nahaja na levem bregu Savinje ob cesti Celje - Laško blizu naselja Tremerje.

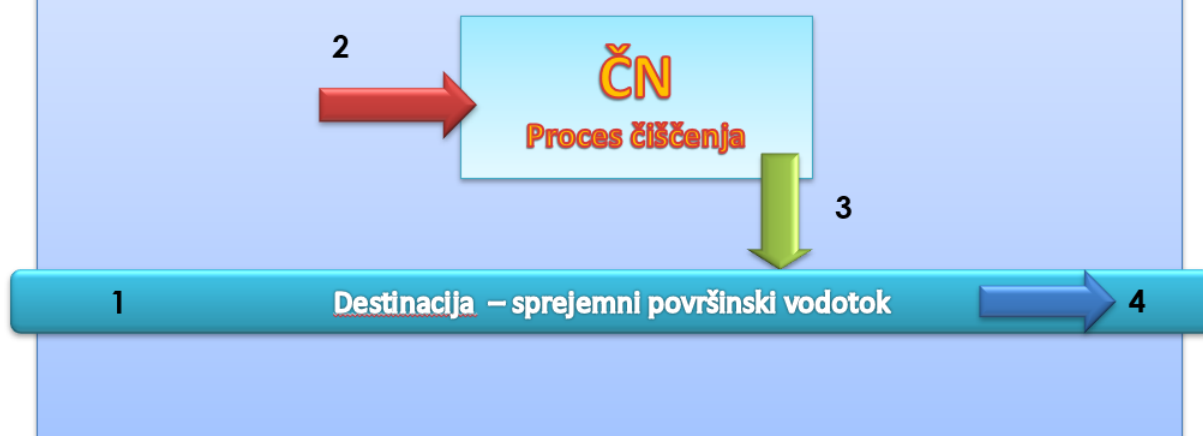
Naprava obsega:

- primarno (mehansko predčiščenje),
- sekundarno čiščenje (odstranjevanje ogljikovih spojin),
- terciarno čiščenje (odstranjevanje dušikovih in fosforjevih spojin).

Biološko čiščenje odpadne vode se vrši s suspenzijo biološkega blata. Čiščenje odpadne vode obsega odstranjevanje mehanskih delcev, organskih, dušikovih in fosforjevih spojin. Dušikove spojine se odstranjujejo z intermitenčno nitri/denitrifikacijo, fosforjeve spojine pa s kombiniranim biološko-kemijskim izločanjem fosforja. V ta namen sta zgrajena anaerobna bazena. Potreben kisik za delovanje mikroorganizmov v suspenziji biološkega blata se v prezračevalne/aerobne bazene dovaja preko puhal s stisnjenim zrakom. Podvodna mešala, vgrajena v anaerobnem bazenu, anoksičnem in oksičnem delu prezračevalnega bazena, mešajo vsebino bazenov in preprečujejo usedanje biološkega blata na dnu bazenov. [5]

Model ČN in destinacija finalnega efluenta

Vzorčna mesta in vzorci : 1. lokacija pred ČN (čistilna naprava), 2. odpadna dotočna voda, 3. čiščena iztočna voda, 4. lokacija za ČN



Slika 2: Model ČN in vzorčna mesta



Slika 3: Čistilna naprava Celje [6]



Slika 4: Vzorčenje iz reke Savinje [6]

3 METODOLOGIJA

3.1 Metode

Priprava vzorcev

Čebulice čebule (*Allium cepa*) se postavijo v vodo, da spodbudijo rast korenin.

Korenine se kalijo v posodah z vzorci vode (odpadna voda pred čiščenjem, očiščena voda in kontrola-destilirana voda).

Korenine so izpostavljene vzorcem od 48 do 72 ur, da se zagotovi ustrezna celična odzivnost.

Koreninski vršički dolžine 1–2 cm se odrežejo z ostrim skalpelom.

Fiksacija in barvanje

Korenine se odrežejo in fiksirajo v mešanici etanola in očetne kisline (3:1 ali 6:1) za več ur, da se celice ohranijo.

Nato se izperejo in obarvajo s Feulgenovim barvilom, orceinom ali acetokarminom, ki selektivno obarva DNA v jedru.

Mikroskopska analiza

Z drobljenjem vršičkov korenin na stekelcu se pripravijo mikroskopski preparati (t.i. "squash" metoda).

Opazujemo mitotski indeks (število delitvenih celic glede na skupno število celic).

Pod svetlobnim mikroskopom pregledamo preparate pri večji povečavi (običajno 400-krat ali 1000-krat).

Štetje celic se izvaja na naključno izbranih mikroskopskih poljih.

V vsakem polju se identificira in prešteje število delitvenih celic (mitoza) ter celic v interfazi.

Analiziramo kromosomske aberacije: mikrojedrne tvorbe, mostove, cepitve ali fragmentacije kromosomov.

Označevanje in evidentiranje prešteti celic

Za označevanje celic se uporabljajo označevalne mreže ali digitalne slike z oznakami.

Celice s kromosomskimi aberacijami (mikrojedra, kromosomski mostovi, fragmenti) se posebej označijo in evidentirajo.

Vzorci se obravnavajo ločeno glede na izvor vode.

Statistična obdelava podatkov

Podatke o mitotskem indeksu in prisotnosti kromosomskih poškodb primerjamo (kontrolne skupine).

Pogosto se uporabi statistična analiza (npr. t-test, ANOVA) za določanje pomembnosti razlik.

Postopek Allium testa

Za vsak vzorec in obe kontroli uporabimo 5 čebulic *Allium cepa* L. Vzamemo 4 vzorce vode in vsak vzorec vode razporedimo v 5 epruvet. Nato s skalpelom vzamemo 20 mladih čebul in jih olupimo, pri tem pa pazimo na primordialni obroč, iz katerega bodo pognale korenine. Pripravljene čebule namestimo v epruvete in jih pustimo gojiti 72 ur. Dolžine korenin testnih rastlin podajajo rezultate splošne toksičnosti. [1] Nato zmešamo etanol in očetno kislino v razmerju 3:1 in iz vsake čebulice odrežemo 2 korenini, ki jih potopimo v kemikalije. Te ustavijo vse celične procese - fiksirajo korenine. Korenine namakamo nekaj ur, nato previdno odlijemo kemikalije. Nato koreninam dodamo Feulgenovo barvilo, orceinom ali acetokarminom (barvilo) in jih segrejemo na gorilniku. Pustimo jih vreti nekaj minut in pazimo, da jih ne prekuhamo, saj bi potem bile neuporabne. S pinceto jih previdno vzamemo iz čaše in jih položimo na krovno steklo. S skalpelom odrežemo temen del korenine, ostalo zavržemo. S topim delom skalpela zmečkamo korenine in jih prekrijemo s steklom. Dobro pritisnemo in obrišemo tekočino okoli stekla. Zdaj imamo preparat, ki ga lahko opazujemo pod mikroskopom in opazujemo faze mitoze. Pod mikroskopom lahko štejemo faze mitoze in izračunamo mitotski indeks.

$$MI = \frac{\text{število mitoz}(\text{profaza} + \text{metafaza} + \text{anafaza} + \text{telofaza}) \times 100}{\text{število vseh pregledanih celic}}$$

Mitotski indeks nam pove število delitvenih celic glede na skupno število celic

Genotoksični indeks

$$GI = \frac{\text{število aberantnih mitoz} \times 100}{\text{število mitoz}}$$

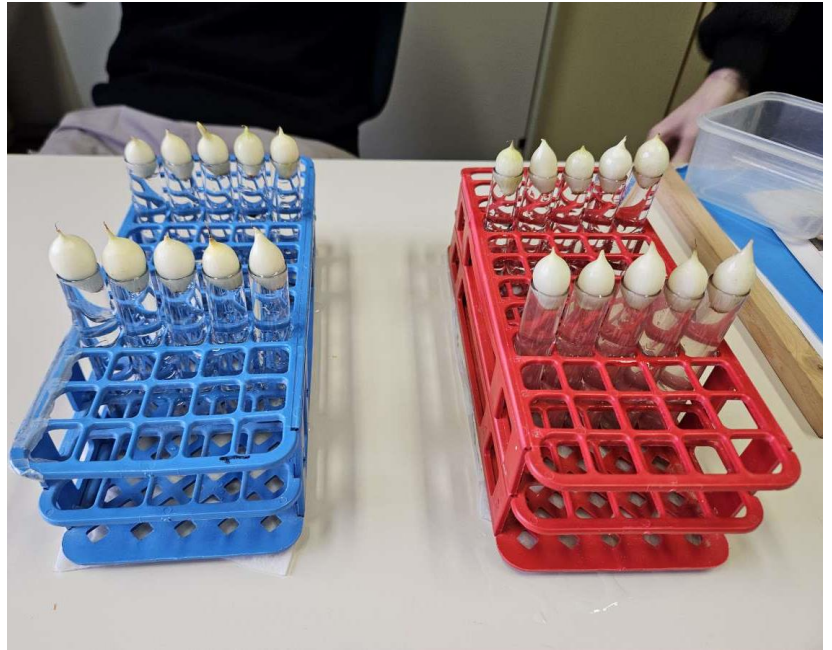
Genotoksični indeks nam pove število aberantnih mitoz glede na skupno število mitoz. **[vir: praktični pouk pri Petru Firbasu]**



Slika:5 Vzorci vode [6]



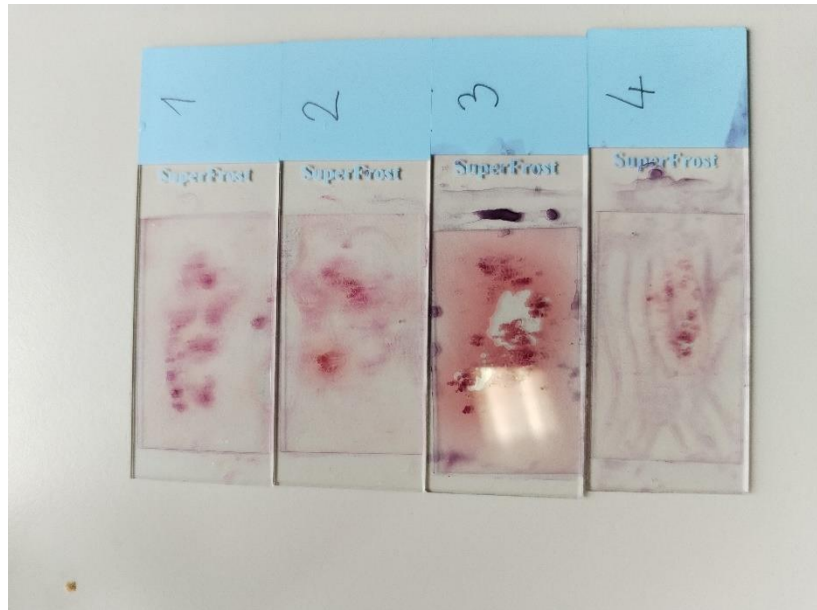
Slika 7: Allium test- priprava [6]



Slika 6: Allium test - priprava [6]



Slika 8: Allium test- priprava [6]



Slika 9: Allium test- preparat [6]

3.2 Materiali:

- mlada čebula
- epruvete
- stojala za epruvete
- mikroskopska stekla
- menzure (valjasta posoda za merjenje tekočin)
- čaše za vzorce
- laboratorijske škarje
- gorilnik
- azbestna plošča s stojalom
- pincete
- skalpeli
- mikroskop
- kalkulator
- ravnilo
- bel papir
- kemikalije
- destilirana voda
- kolhicin 5 g (0,1 % vodna raztopina)
- propionska kislina (1 liter)
- metanol (2 litra)
- etanol (1 liter)
- karminocetno barvilo (0,5 % raztopina: 0,5 g karmi- na, 45 ml ledocetne kisline in 50 ml destilirane vode)
- metil-metan-sulfamid - MMS 5 g SIGMA
- tekoči ogljikov dioksid (CO₂), -70 °C.
- anisol 100 ml
- evparal 100 ml [1]

4 REZULTATI

Tabela 1 prikazuje naše vzorce in število celic, ki smo jih pregledali. Podan je mitozni indeks, ki nam pove, v kolikšnem odstotku celic se pojavlja mitoza.

Vzorec	Št. pregledanih celic	Mitoza	Mitozni indeks (%)
RS pred CČN	500	80	16
WW	500	21	4,21
FTE	500	61	12,2
RS po CČN	500	75	15

Tabela 1: Mitozni indeks vzorcev

Legenda: RS: Reka Savinja; CČN CE: Centralna čistilna naprava Celje; WW: wastewater (odpadna voda – dotok na CČN); FTE: final treated effluent (čiščena voda – iztok iz CČN CE).

Tabela 2 prikazuje naše vzorce in število mitoz v vsakem vzorcu. Podana je stopnja genotoksičnosti, ki nam pove, kolikšen odstotek mitoz je aberantnih. Prikazuje tudi podatek o dolžini korenin, na tej osnovi sklepamo o fitotoksičnosti.

Vzorec	Število mitoz	Št. aberantnih mitoz	Stopnja genotoksičnosti (%)	Povprečna dolžina korenin (mm)
RS pred CČN	80	4	5	30
WW	21	6	28,5	5
FTE	61	5	8,2	30
RS po CČN	75	4	5,3	35

Tabela 2: Fitotoksičnost in stopnja genotoksičnosti

Legenda: *Aberration*: poškodba, okvara; Fitotoksičnost: splošna strupenost ali generalna toksičnost (dolžina korenin testnih rastlin *Allium cepa* L.); stopnja genotoksičnosti (indukcija mitoznih okvar in kromosomskih poškodb).



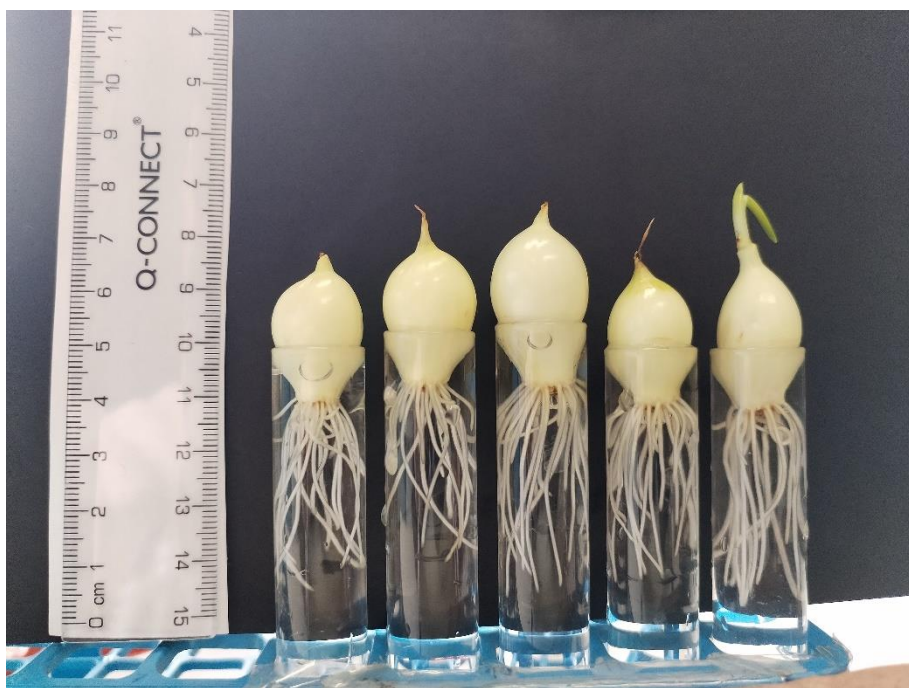
Slika 10: Dolžina korenin čebulic-vzorec RS pred CČN [6]



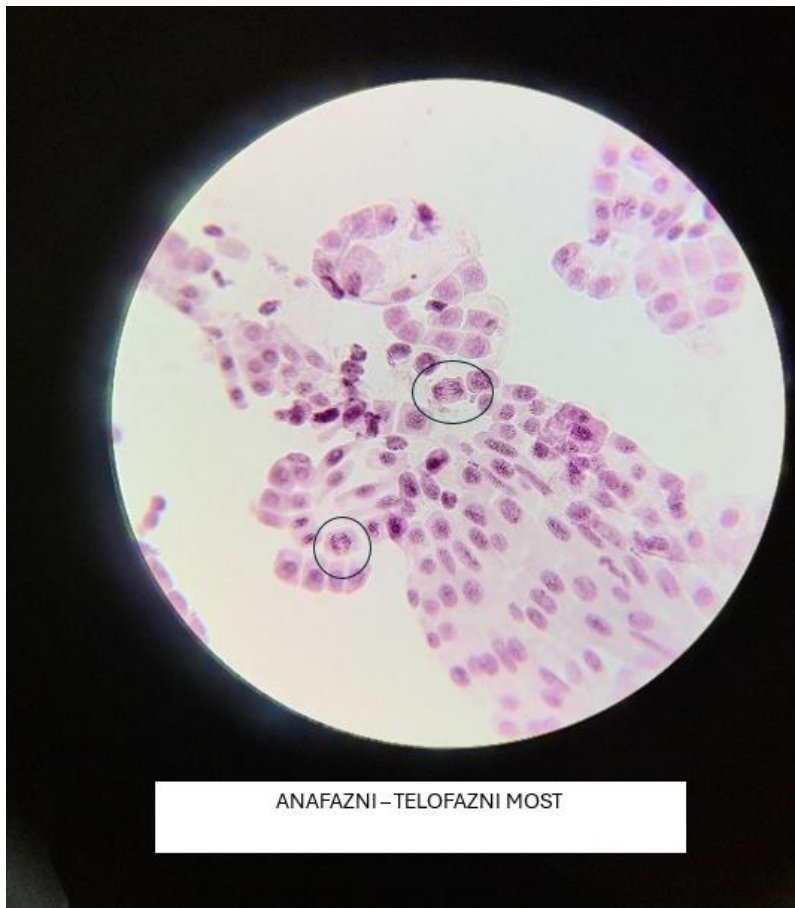
Slika 11: Dolžina korenin čebulic-vzorec WW [6]



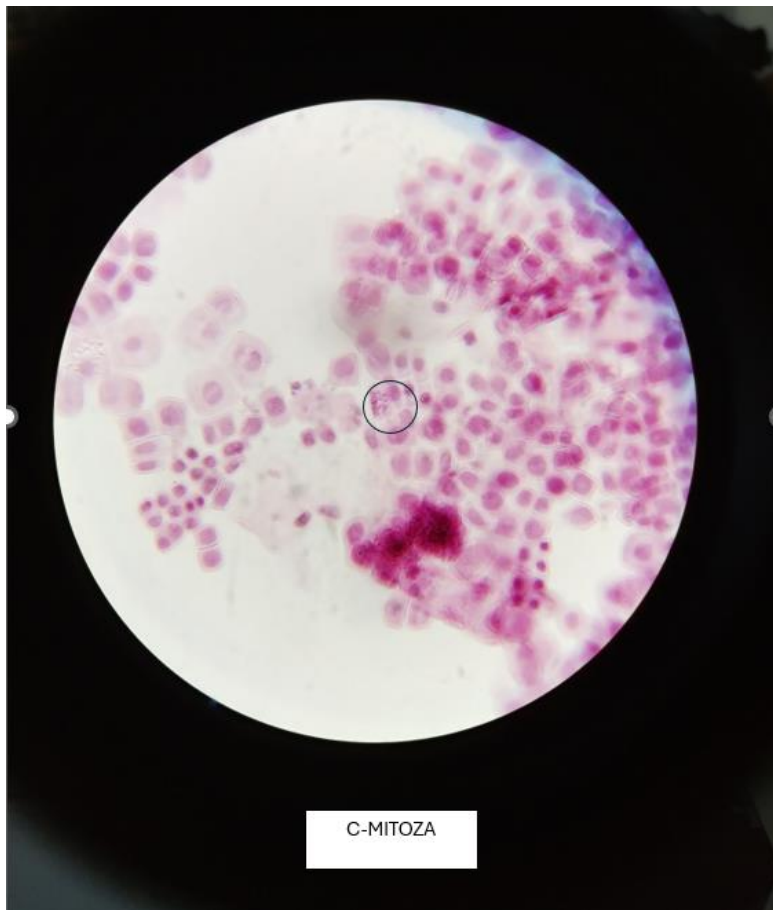
Slika 12: Dolžina korenin čebulic-vzorec FTE [6]



Slika 13: Dolžina korenin čebulic-vzorec RS po CČN [6]



Slika 14:Preparat WW pod mikroskopom [6]



Slika 15:Preparat RS pred CCN [6]

5 RAZPRAVA

Rezultati analiz mitotskega indeksa so pokazali, da so imeli vzorci odpadne vode pred čistilno napravo Celje višjo stopnjo genotoksičnosti in fitotoksičnosti v primerjavi z vzorci po čiščenju. To potrjuje, da čistilna naprava uspešno zmanjšuje prisotnost nekaterih škodljivih snovi. Kljub temu pa določene kromosomske aberacije in nižji mitotski indeksi v vzorcih očiščene vode nakazujejo, da čiščenje ne odstrani vseh potencialno nevarnih snovi, kar bi lahko dolgoročno vplivalo na okolje in zdravje organizmov.

V raziskovalnih vzorcih so se pojavile naslednje aberacije:

- mikronukleus (MN)- nastane zaradi nepravilne segregacije kromosomov med celično delitvijo,
- anafotno-telofazni most- povezan s težavami pri ločevanju kromatid v anafazi,
- kromosomski fragment- kosi kromosomov, ki so ločeni od glavne strukture,
- C-mitoza- gre za napako pri delitvi celice, kjer pride do zaustavitve mitoze, apoptoza- razpad jedra na manjše mikronukleuse (MN),
- multipolarna anafaza- več kot dva pola pri mitotični delitvi.

Te aberacije so pogosto posledica genotoksičnih dejavnikov, kot so mutageni, kemoterapevtiki, radiacija ali drugi stresni vplivi na celice.

Prisotnost kromosomskih aberacij (mikrojederne tvorbe, anafazno-telofazni mostovi, kromosomski fragmenti in multipolarne anafaze) kaže na potencialno škodljive učinke določenih onesnaževal v vodi. Te spremembe lahko privedejo do genskih mutacij, ki vplivajo na rast, razvoj in razmnoževanje organizmov. Pomembno je poudariti, da se toksični in genotoksični učinki ne odražajo le na rastlinah, temveč imajo lahko dolgoročne posledice tudi na življenje živali in ljudi, ki so del istega ekosistema.

Študija, ki jo je izvedel Firbas [2], podaja Model ČN in analizira štiri vzorčne primere vode, (kot naša raziskava, a na primeru Kamniške Bistrice in CČN Domžale-Kamnik). Podobno kot pri naši raziskavi se je tudi v tej študiji raven genotoksičnosti dotočnim odpadnim vodam v procesu čiščenja znižala (33 % na 14 %).

6 ZAKLJUČEK

V raziskovalni nalogi smo preučevali vpliv različnih vzorcev vode iz reke Savinje na celične delitve pri navadni čebuli (*Allium cepa* L.) s pomočjo *Allium* testa. Ta biološki test nam je omogočil oceno genotoksičnosti in splošne toksičnosti vodnih vzorcev. Razkril je morebitne vplive onesnaževal na celične procese. Na podlagi rezultatov smo ugotovili, da ima kakovost vode pomembno vlogo pri normalnem poteku mitoze. Onesnaževala v določenih koncentracijah lahko povzročijo kromosomske poškodbe in zaviranje celične delitve. Potrdili smo hipotezo, da čistilna naprava uspešno zmanjšuje prisotnost nekaterih škodljivih snovi.

Naši rezultati potrjujejo, da je *Allium* test zanesljiva, preprosta in dostopna metoda za oceno toksičnosti vodnih virov ter da omogoča zgodnje zaznavanje potencialno nevarnih snovi v okolju. Kljub temu bi bilo smiselno rezultate podkrepiti z dodatnimi fizikalno-kemijskimi analizami, ki bi omogočile natančnejšo identifikacijo prisotnih onesnaževal. Prav tako bi bilo koristno raziskavo razširiti na daljše časovno obdobje, da bi bolje razumeli sezonske spremembe in dolgoročne trende onesnaženja reke Savinje.

Na podlagi ugotovitev lahko sklenemo, da so redni biomonitoring vodnih virov, nadzor nad industrijskimi in komunalnimi izpusti ter ozaveščanje javnosti ključnega pomena za varovanje okolja in zdravja vseh živih bitij. Z nadaljnjimi raziskavami bi lahko še podrobneje ugotovili, katere specifične snovi prispevajo k toksičnosti in kako bi jih lahko še učinkoviteje odstranili iz vodnega okolja.

Le s trajnostnim upravljanjem vodnih virov in izboljšanjem čistilnih procesov lahko zagotovimo varno in zdravo okolje za prihodnje generacije.

7 BIBLIOGRAFIJA

- [1] F. P., *Kako zdrava je voda*, Ljubljana: ARA založba, 2016.
- [2] P. Firbas, „Model ČN: efekt čiščenja odpadnih vod v ČCN Domžale-Kamnik in kakovost reke Kamniške Bistrice vrednotena z Allium testom In Pisces MN testom,“ *Ekolist: revija o okolju*, pp. 28-36, 2015.
- [3] E. Žun, „Allium test na izcednih vodah odlagališča hidrometalurške jalovine Boršt (zaključna naloga),“ 2014. [Elektronski]. [Poskus dostopa 1 2 2025].
- [4] L. e. a. Alaceto, „Toxicological effects of the waste of the sugarcane industry, used as agricultural fertilizer, on the test sistem Allium cepa,“ *Chemosphere*, pp. 31-42, 2017.
- [5] „<https://www.vo-ka-celje.si/dejavnosti/ciscenje-odpadnih-vod/cistilna-naprava-celje/>,“ [Elektronski]. Available: <https://www.vo-ka-celje.si/dejavnosti/ciscenje-odpadnih-vod/cistilna-naprava-celje/>. [Poskus dostopa 20 2 2025].
- [6] A. Povše, *Lastni arhiv*, Celje, 2025.

