

УДК 57.04:614.7

АККУМУЛЯЦИЯ ОТДЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ ПРОТИВОГОЛОЛЕДНЫХ МАТЕРИАЛОВ (ПГМ) В ТЕСТ-КУЛЬТУРЕ ALLIUM CEPА

Сбитнев А.В., Ахальцева Л.В., Водянова М.А., Ушакова О.В.

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, e-mail: asb21@yandex.ru

Изучена аккумуляция компонентов противогололедных материалов (ПГМ) в луковицах *Allium cepa* при их контакте с растворами реагентов в рамках комплексных экспериментальных исследований по оценке цито- и генотоксических эффектов ПГМ. Исследованы два модельных образца ПГМ с различным химическим и агрегатным составом: твердый ПГМ1 (NaCl 91%; CaCl₂ 8,7%) и жидкий ПГМ2 (25%-ный раствор MgCl₂) в восьми концентрациях. Химико-аналитические исследования позволили определить количественное соотношение основных ионов ПГМ (Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ и Cl⁻) в растительной массе экспериментальных луковиц после их проращивания на растворах тестируемых реагентов. На основе экспериментальных данных установлена тенденция накопления тест-культурой *Allium cepa* отдельных элементов ПГМ. В частности, корреляционный анализ данных выявил связь между количественным содержанием отдельных катионов Na⁺ и Mg²⁺ в растворах ПГМ и в растительной массе *Allium cepa*. Полученные данные представляют научный интерес для оценки влияния ионов ПГМ на показатели цитогенетического анализа клеток корневой меристемы тест-культуры *Allium cepa*. Представляется интересным дальнейшее изучение взаимосвязи между количественным содержанием аккумулированных компонентов ПГМ в тест-культуре и токсическими эффектами, регистрируемыми в клетках корневой меристемы *Allium cepa*.

Ключевые слова: противогололедный материал (ПГМ), реагент, тест-культура, *Allium cepa*, катион, аккумуляция, цито- и генотоксический эффект

ACCUMULATION OF SINGLE DEICING SALT COMPOUNDS IN ALLIUM CEPА TESTING CULTURE

Sbitnev A.V., Akhaltseva L.V., Vodyanova M.A., Ushakova O.V.

Center for Strategic Planning, Russian Ministry of Health, Moscow, e-mail: asb21@yandex.ru

A deicing salt compounds (DS) accumulation in *Allium cepa* exposed to deicer solutions within the complex studies of deicing salt cyto- and genotoxic effects was researched. Eight concentrations of two different chemical and aggregate compositions of DS using as a model objects such as the solid DS1 (NaCl 91%; CaCl₂ 8,7%) and the liquid DS2 (25% MgCl₂ solution) were analyzed. Analytical analyses were allowed to establish a quantitative ratio of basic deicer ions (Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ and Cl⁻) in biomass of test onions after its deicer solution germinating. Experimental data provided to establish the accumulation trend of single deicing elements by *Allium cepa* testing culture. In particular a correlation analysis found the Na⁺ и Mg²⁺ single cation connection between a quantitative content of such elements in deicer solutions and in *Allium cepa* biomass. Obtained data may have a scientific interest for further research of deicing salt ions effect on cytogenetic analysis criteria of *Allium cepa* testing culture root meristem cells.

Keywords: deicing salt (DS), deicer, testing culture, *Allium cepa*, cation, accumulation, cyto- and genotoxic effect

Одной из модельных тест-культур в цитогенетике, использующейся для оценки цито- и генотоксических эффектов различных химических веществ, являются луковицы *Allium cepa* [1]. Клетки апикальной меристемы корней данной культуры являются удобным материалом для оценки цитогенетических нарушений, индуцируемых различными химическими соединениями [2–4]. К настоящему времени на *Allium cepa* подробно изучена цито- и генотоксичность различных химических соединений, а также отдельных компонентов окружающей среды [5–7].

В наших исследованиях на *Allium cepa* подробно изучены фито- и цитогенотоксические свойства одного из видов противогололедных материалов (ПГМ) как отдельной группы химических соединений, обладающих фитотоксичностью [8]. В продолжение исследований проводится комплексная оценка цито- и генотоксических эффектов других видов ПГМ, в рамках которой исследуется аккумуляция хими-

ческих соединений ПГМ в тест-культуре *Allium cepa*.

Цель работы: оценка аккумуляции компонентов ПГМ в тест-культуре *Allium cepa* при ее контактном взаимодействии с водными растворами реагентов.

Материалы и методы исследования

Экспериментальные исследования проводились на двух модельных образцах ПГМ с различным химическим составом: твердый ПГМ1 (NaCl 91%; CaCl₂ 8,7%) и жидкий ПГМ2 (25%-ный раствор MgCl₂).

Луковицы проращивались в условиях непосредственного контакта корней *Allium cepa* с растворами ПГМ в течение трех суток в условиях постоянной температуры: +25(±1)°C. Контрольные луковицы проращивались на дистиллированной воде. Диапазон тестируемых концентраций ПГМ1 и ПГМ2 был выбран исходя из задач, определенных в рамках комплексного исследования цито- и генотоксических свойств ПГМ с использованием тест-культуры *Allium cepa*.

Таблица 1

Объем исследований и схема эксперимента

Направление исследований	Метод исследования	Характеристика исследуемых объектов	Количество проб (повторность)
Анализ химического состава экспериментальных луковиц <i>Allium cepa</i>	ИСП-МС, элементный анализ (минерализация растительного материала в системе микроволнового разложения проб)	Экспериментальные луковицы, выращенные на модельных растворах ПГМ1 и ПГМ2 (концентрации: 0, 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 5; 10; 20 г/л)	27 на каждый исследуемый образец ПГМ (3-кратная повторность для каждой концентрации)

Таблица 2

Катионно-анионный состав луковиц *Allium cepa*, выращенных на растворах ПГМ1 с различной концентрацией по основным ионам (Na⁺, Ca²⁺, Cl⁻)

Концентрация растворов ПГМ, г/л	Концентрация ионов в луковицах, мг/г				Массовая доля ионов в луковицах, %		
	Na ⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	сумма ионов (Na ⁺ , Ca ²⁺ , Cl ⁻)	Na ⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻
контроль	0,1	0,4	1,3	1,8	5,5	22,3	72,1
0,5	0,14	0,5	1,1	1,8	7,5	29,1	63,4
1	0,15	0,4	1,1	1,7	8,9	24,6	66,5
1,5	0,11	0,7	1,3	2,1	5,3	33,3	61,4
2	0,16	0,6	1,4	2,1	7,3	28,5	64,1
2,5	0,23	0,4	1,4	2,0	11,9	19,7	68,4
5	0,29	0,7	1,4	2,3	12,4	29,2	58,4
10	0,37	0,5	1,6	2,5	15,0	21,5	63,5
20	0,55	0,4	1,1	2,0	27,5	19,4	53,1

Химический анализ растворов ПГМ и луковиц проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) в соответствии с ГОСТ [9]. Пробы растительного материала для элементного анализа готовили с использованием микроволновой системы разложения проб под давлением. Объем исследований представлен в табл. 1.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили методом корреляционного анализа с помощью непараметрического коэффициента корреляции рангов Спирмена при использовании компьютерных программ Microsoft Office Excel 2010 г. и Statistica 10.

Результаты исследования и их обсуждение

В табл. 2 представлены данные по основным катионам и анионам ПГМ1, определенным в составе луковиц *Allium cepa*, выращенных на дистиллированной воде без добавления реагента (контроль) и на растворах тестируемого вещества (ПГМ1) в разных дозах.

На основе экспериментальных данных определено количественное соотношение основных компонентов ПГМ1 в составе опытных луковиц. В частности, установлено увеличение суммарного количества ионов (Na⁺, Ca²⁺, Cl⁻) с ростом их концен-

трации в растворах ПГМ1, на которых проращивались луковицы по сравнению с контролем. Следует также отметить, что динамика аккумуляции отдельных ионов существенно отличается.

Рассчитывали коэффициент, отражающий степень аккумуляции ионов в тест-культуре *Allium cepa*, по формуле: $K = Co/Ck$, где Co – концентрация определяемого иона в опытном варианте эксперимента, Ck – концентрация определяемого иона в контроле. Установлена тенденция увеличения концентрации данного элемента в луковицах *Allium cepa* с ростом концентрации раствора ПГМ1 (табл. 3).

Таблица 3

Величины коэффициентов, характеризующие степень накопления ионов ПГМ в луковицах *Allium cepa* относительно контроля

Концентрация ПГМ1 в растворе, г/л	Na ⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻
0,5	1,4	1,3	0,9
1	1,6	1,1	0,9
1,5	1,1	1,7	1,0
2	1,6	1,5	1,1
2,5	2,4	1,0	1,1
5	2,9	1,7	1,1
10	3,8	1,3	1,2
20	5,6	1,0	0,8

Таблица 4
Данные корреляционного анализа зависимости концентрации ионов ПГМ1 в растворе и содержания ионов в луковицах *Allium sera*

Ион	Число луковиц	Коэффициент ранговой корреляции Спирмена R	p*
Na ⁺	24	0,9732	0,003
Ca ²⁺	24	-0,3562	0,529
Cl ⁻	24	-0,1257	0,199

Примечание. *p-уровень значимости коэффициентов корреляции в соответствии с t-критерием Стьюдента.

Оценка связи между количественным составом ионов в растворах ПГМ1 и в луковицах проводилась методом корреляционного анализа (табл. 4, рис. 1–3). Выявлено, что в пределах изученного диапазона концентраций ПГМ1 (от 0,1 до 20 г/л) имеется прямая значимая корреляционная связь

($R = 0,9$, $P = 0,003$) между количеством ионов Na⁺ в растворе ПГМ1 и в луковицах *Allium sera*. Линии регрессии для Ca²⁺, Cl⁻ показывают обратную зависимость количества ионов в растворах и луковицах, при этом корреляционных связей по данным элементам не выявлено (табл. 4, рис. 2, 3). Таким образом, данные свидетельствуют об избирательной аккумуляции луковицами Na⁺ при проращивании тест-культуры *Allium sera* на растворах ПГМ1.

В табл. 5 представлены данные по количественному составу основных ионов ПГМ2 в луковицах *Allium sera* после их проращивания в растворах реагента. Согласно полученным данным выявлена тенденция аккумуляции луковицами катиона магния (Mg²⁺) относительно контроля. Схожая тенденция прослеживается по общему количеству ионов ПГМ2 (Mg + Cl₂) для луковиц, выращенных на растворах с высокой концентрацией ПГМ (10 и 20 г/л) (табл. 5).

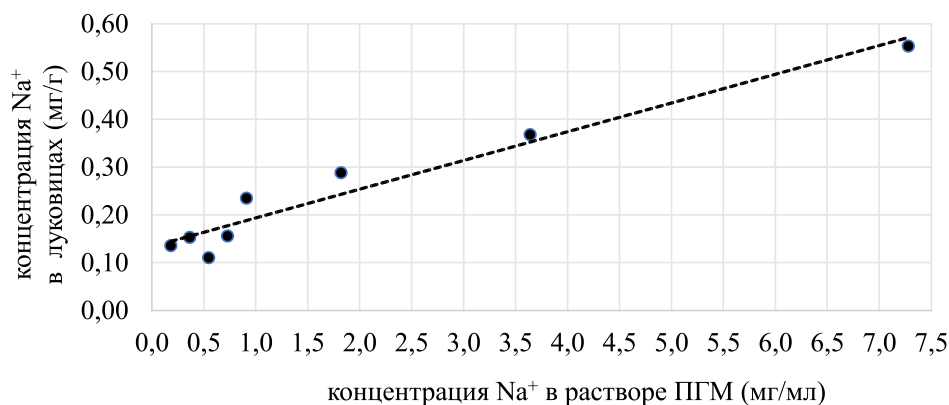


Рис. 1. Зависимость содержания ионов Na⁺ в тест-культуре *Allium sera* от концентрации раствора ПГМ1

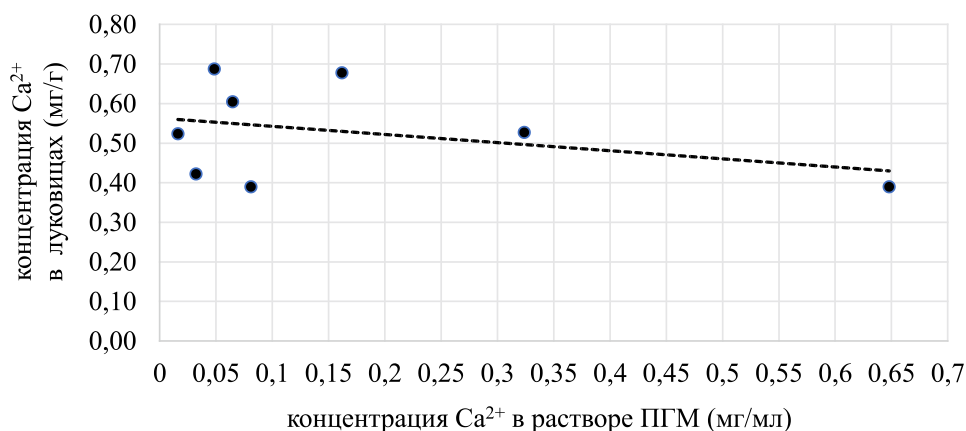


Рис. 2. Зависимость содержания ионов Ca²⁺ в тест-культуре *Allium sera* от концентрации раствора ПГМ1

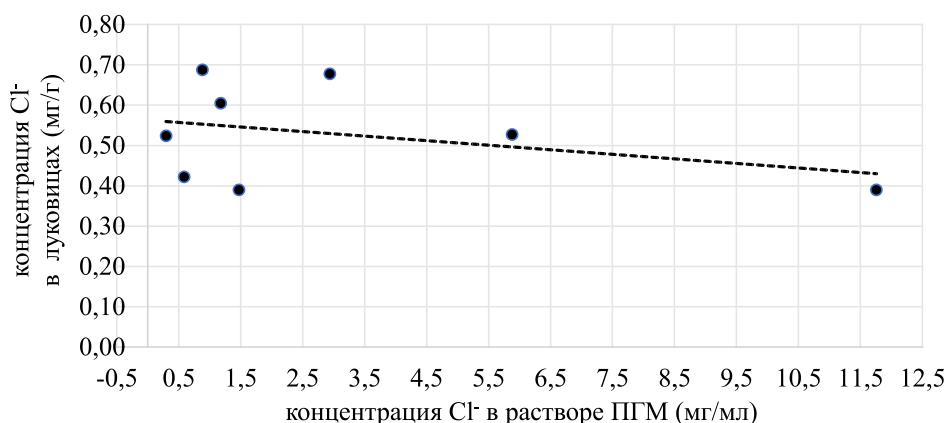


Рис. 3. Зависимость содержания ионов Cl⁻ в тест-культуре *Allium сера* от концентрации раствора ПГМ1

Таблица 5

Катионно-анионный состав лукович *Allium сера*, выращенных на растворах ПГМ2

Концентрация ПГМ, г/л	Концентрация ионов в луковиче, мг/г		Сумма ионов (Mg ²⁺ + Cl ⁻)	Массовая доля ионов в луковичах, %	
	Mg ²⁺	Cl ⁻		Mg ²⁺	Cl ⁻
контроль	0,15	1,16	1,31	11,37	88,63
0,5 г/л	0,14	0,72	0,86	16,74	83,26
1 г/л	0,15	0,78	0,93	16,41	83,59
1,5 г/л	0,21	1,01	1,22	16,95	83,05
2 г/л	0,21	0,64	0,85	24,93	75,07
2,5 г/л	0,22	0,46	0,68	32,11	67,89
5 г/л	0,22	0,46	0,68	32,41	67,59
10 г/л	0,67	1,55	2,22	30,05	69,95
20 г/л	0,90	1,67	2,57	34,85	65,15

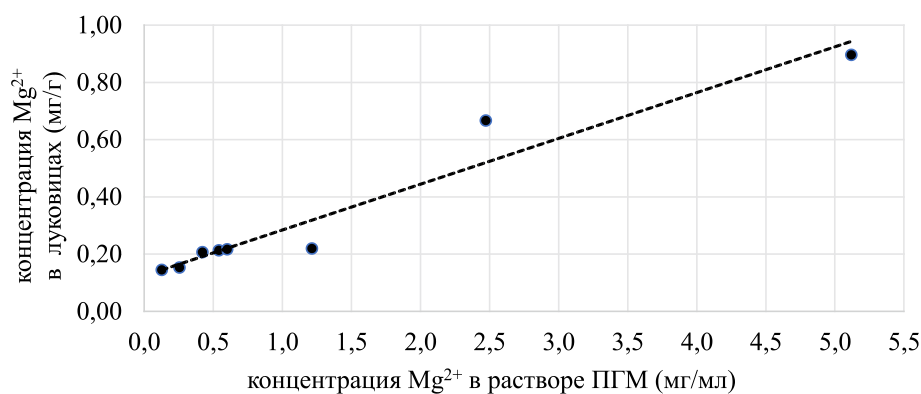


Рис. 4. Зависимость содержания ионов Mg²⁺ в тест-объекте от концентрации раствора ПГМ2

Выявлена положительная значимая корреляция ($P = 0,004$) между содержанием Mg²⁺ в луковичах и в растворах ПГМ2, характеризующаяся наличием сильной связи ($R = 0,9$) между оцениваемыми по-

казателями ($R = 0,9$) (табл. 6, рис. 4). Напротив, значимой корреляционной зависимости между анионом Cl⁻ в составе лукович и в растворе ПГМ2 не установлено ($P = 0,5$).

Таблица 6

Данные корреляционного анализа зависимости концентрации ионов ПГМ2 в растворе и содержания ионов в луковицах *Allium cepa*

Ион	Число луковиц	Коэффициент ранговой корреляции Спирмена R	p*
Mg ²⁺	24	0,969	0,001
Cl ⁻	24	0,805	0,529

Примечание. *p-уровень значимости коэффициентов корреляции в соответствии с t-критерием Стьюдента.

Заключение

Таким образом, исследование химического состава луковиц после контактного взаимодействия корневой системы *Allium cepa* с растворами ПГМ позволило выявить избирательное накопление катионов Na⁺ и Mg²⁺ в растительной массе тест-культуры, используемой при оценке цито- и генотоксичности ПГМ. Представляется интересным дальнейшее изучение взаимосвязи между количественным содержанием аккумулярованных компонентов ПГМ в тест-культуре и токсическими эффектами, регистрируемыми в клетках корневой меристемы *Allium cepa*.

Список литературы

1. Fiskesjo G. The Allium Test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*. 1985. Vol. 102. P. 99–112.
2. Rank J., Nielsen M.H. A modified Allium test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. *Hereditas*. 1993. Vol. 18. P. 49–53.
3. Ma T.-H., Xu Z., Xu C., McConnell H. The improved Allium/Vicia root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. *Mutat. Res.* 1995. Vol. 334. P. 185–195.
4. Liman R., Acikbas Y., Cigerci I.H. Cytotoxicity and genotoxicity of cerium oxide micro and nanoparticles by Allium and Comet tests. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2019. Vol. 168. P. 408–414.
5. Фаррухшина Л.Р., Иванова Г.А., Зарипова С.К., Сысоева М.А., Газизова Ф.Ф. Исследование токсичности и мутагенности пищевых красителей с помощью тест-системы *Allium cepa* // Вестник технологического университета. 2018. № 21 (1). С. 186–189.
6. Чернышева Н.Н., Хлебова Л.П., Пронина Р.Д. Использование тест-системы *Allium cepa* L. для оценки генотоксичности воды р. Чумыш // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2016. № 3 (137). С. 90–95.
7. Pesnya D.S., Romanovsky A.V. Comparison of cytotoxic and genotoxic effects of plutonium-239 alpha particles and mobile phone GSM 900 radiation in the *Allium cepa* test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2013. Vol. 750 (1–2). P. 27–33.
8. Сбитнев А.В., Водянова М.А., Сычева Л.П., Журков В.С., Крятов И.А., Ахальцева Л.В. Цитогенетическая и фитотоксическая оценка противогололедного материала на модельной тест-системе лук (*Allium cepa*). *Гигиена и санитария*. 2018. Т. 97. № 2. С. 144–148.
9. ГОСТ Р 56219-2014 (ИСО 17294-2:2003) Вода. Определение содержания 62 элементов методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. [Электронный ресурс]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200115431> (дата обращения: 12.11.2019).