

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ *ALLIUM CEPA* L. ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ

Попова Е.И.¹, Кайгородов Р.В.²

¹Тобольская комплексная научная станция УрО РАН, Тобольск, e-mail: popova-3456@mail.ru;

²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, e-mail: r-kaygorodov@yandex.ru

В статье приведены результаты исследования антропогенных придорожных фитоценозов с помощью биоиндикации. Для исследования были подобраны 8 участков вблизи автодорог юга Тюменской области в пределах пяти административных районов: Упоровского, Заводоуковского, Ялutorовского, Ярковского, Тобольского. Определены тяжелые металлы Zn, Cd, Pb, Cr, Ni. Токсическое воздействие загрязнителей окружающей среды на живые объекты проверяли *Allium*-тестом. В работе исследовался митоз корневой меристемы *Allium cepa* L. Определяли частоту аномалий в митозе корневых меристем лука репчатого (*Allium cepa* L.), обработанного растительными концентратами тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.), вейника тростникового (*Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth), лабазника обыкновенного (*Filipendula vulgaris* Moench), произрастающих на придорожных фитоценозах. Биотест *Allium cepa* является относительно быстрым, легким для выполнения испытаний, а также высокочувствительным и воспроизводимым.

Ключевые слова: *Allium cepa* L., *Achillea millefolium* L., *Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth, *Filipendula vulgaris* Moench, митоз, корневые меристемы.

USE OF *ALLIUM CEPA* L. FOR THE DETERMINATION TOXICITY OF VEGETABLE EXTRACTS

Popova E.I.¹, Kaigorodov R.V.²

¹Tobolsk Complex Scientific Station UD RAS, Tobolsk, e-mail: popova-3456@mail.ru;

²Perm State University, Perm, e-mail: r-kaygorodov@yandex.ru

The article presents the results of research of anthropogenic roadside phytocoenoses with the help of bioindication. For the study, eight plots were selected, close to the roads of the south of the Tyumen Region within the five administrative districts: Uporovski, Zavodoukovsky, Yalutorovskiy, Yarkovsky, Tobolsk. The heavy metals Zn, Cd, Pb, Cr, Ni are determined. Toxic effects of environmental pollutants on living objects used *Allium* - a test. The mitosis of the root meristem of *Allium cepa* L. was investigated. The frequency of anomalies in mitosis of root meristems onions (*Allium cepa* L.), treated with the plant concentrates of *Achillea millefolium* L., *Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth, Lubaznik common (*Filipendula vulgaris* Moench), Growing on roadside phytocoenoses. The *Allium cepa* biotest is relatively quick, easy to perform, as well as highly sensitive and reproducible.

Keywords: *Allium cepa* L., *Achillea millefolium* L., *Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth, *Filipendula vulgaris* Moench., mitosis, root meristems.

В современных условиях фитоценозы подвергаются общему воздействию антропогенных факторов разной природы. Оценка состояния и прогноз антропогенного загрязнения естественных объектов базируется на результатах биомониторинга, в котором используются тест-системы живых организмов.

Растения – удачный объект для исследования антропогенного воздействия на окружающую среду. Растительные биотесты в настоящее время получают все большее значение при оценке мутагенного загрязнения среды. Это обусловлено целым блоком превосходств растений как индикаторов цитотоксичности разных факторов, так и сигнальных объектов при генетическом мониторинге загрязнения окружающей среды [1-4].

Корневая система - основная часть любого растения, она первой вступает в контакт с химическими загрязняющими веществами, находящимися в составе изучаемых объектов. Наблюдения за клетками корневой системы лука обыкновенного (*Allium cepa* L.) показали, что это растение является очень чувствительным к повышенному влиянию антропогенных загрязнителей. Общий эффект количественно может быть определен измерением сдерживания прироста развивающейся корневой системы, а подсчет и исследование хромосом некоторых клеток корневой системы может указать на возможные мутагенные изменения [5-9].

Для высших растений тест признан хорошей генетической моделью для выявления экологических мутагенов и нередко используется в мониторинговых исследованиях. Из многих видов растений *Allium cepa* L. был применен для оценки повреждений ДНК, таких как хромосомные aberrации и нарушения в митотическом цикле. Использование *Allium cepa* L. в качестве тест-системы для выявления мутагенов датируется 40-ми годами [10].

Материал и методы исследования

Популярным методом для изучения антропогенного воздействия на растительные объекты является тест на корневых меристемах *Allium cepa* L. (Allium-тест). Лук имеет 16 хромосом ($2n=16$), которые отлично окрашиваются и комфортны для работы с микроскопом.

Allium-тест является обычным для применения и может использоваться для мониторинга загрязняющих веществ. Чтобы найти в лабораторных условиях гено- и цитотоксические эффекты, часто используют *Allium cepa* L.

Allium-test рекомендован экспертами Всемирной организации здравоохранения как стандартный тест в цитогенетическом мониторинге окружающей среды. Полученные результаты прослеживают положительную корреляцию с тестами на других живых организмах: водорослях, растениях, насекомых, земноводных, пресмыкающихся, а также млекопитающих и человеке.

В настоящем исследовании представлена чувствительность и влияние токсических веществ на корневые меристемы *Allium cepa* L. В лабораторных условиях рассматривали частоту митозов в клетках корневых меристем лука репчатого (*Allium cepa*). Фиксировали разные типы митозов (мутагенные и нормальные). Клетки корневых меристем *Allium cepa* L. обрабатывали экстрактами 0,5%-ной концентрации растений тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.), вейника тростникового (*Calamagrostis arundinacea* L. Roth), лабазника обыкновенного (*Filipendula vulgaris* Moench). Данные виды растений являются общими и доминирующими на изучаемых участках.

Экстракт общей фитомассы, собранной на исследуемых участках, разводили дистиллированной водой до нужной концентрации.

После этого в приготовленный растительный экстракт помещали семена *Allium cepa* L. по 20 штук в 3 чашки Петри на вариант. Лабораторный опыт проводился по стандартной ацетоорсеиновой методике [10].

Выбор участков и описание растительности производились согласно методике проведения геоботанических исследований [11].

Кроме того, на геоботанических площадках визуально отмечалась степень антропогенного воздействия (воздействие отсутствует, слабое, умеренное, сильное, очень сильное) и его характер (наличие воздушных поллютантов, бытового неорганического и органического мусора, нефти и нефтепродуктов, рекреация, выпас домашних животных и др.).

Количественный химический анализ растительных образцов проводился в лаборатории экотоксикологии ТКНС УрО РАН на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Optima 7000DV.

Результаты

Для определения степени антропогенного воздействия были подобраны исследуемые участки с различной интенсивностью техногенной нагрузки. Антропогенные фитоценозы располагались вдоль автодорог.

Участок № 1. Фитоценоз расположен вдоль автодороги между поселком Черное и Шашова Уповоровского района. Древоостой представлен средне- и старовозрастными деревьями березы повислой, в связи с чем он довольно разрежен. К березе примешиваются средневозрастные деревья осины и в меньшей степени липы сердцевидной. Формула древоостоя: 5Б4Ос1Л.

Участок № 2. Фитоценоз сформирован на террасе реки Исети вдоль дороги Уповоро - Заводоуковск. Древоостой (9Ос1Л) представлен плотными зарослями средневозрастной осины с примесью молодых деревьев липы во 2-м подъярусе древоостоя. Наблюдается удовлетворительное возобновление липы.

Участок № 3. Фитоценоз расположен на надпойменной террасе реки Тобол в 1 км западнее Заводоуковска. В древоостое (6Л3Ос1Б) доминируют средневозрастные и приспевающие деревья липы сердцевидной, высокое проективное покрытие имеет также осина, к ним примешивается береза. Сомкнутость крон достаточно высокая, наблюдается удовлетворительное возобновление липы и пихты сибирской.

Участок № 4. Участок расположен около автодороги юго-западнее города Ялуторовска. Древоостой (7Б3Ос+С) представлен березой повислой и в меньшей степени осиной, к которым примешивается сосна лесная. Подрост развит удовлетворительно, состоит из липы сердцевидной с небольшим включением сосны сибирской и пихты сибирской.

Участок № 5. Фитоценоз расположен вдоль автодороги в 2,5 км юго-западнее поселка Новоатъялово. В древостое (9Ос1Б+К) лесного фитоценоза преобладает осина, к которой примешивается береза повислая, единичными экземплярами встречается сосна сибирская. Деревья высокорослые, лиственные – припевающие, сосна сибирская представлена взрослыми плодоносящими деревьями. Хорошо развит подрост липы.

Участок № 6. Фитоценоз расположен вдоль дороги Ялуторовск - Ярково. Древостой (6Л2Ос1Б1Е) площадки описания многопородный, в нем преобладают крупные средневозрастные деревья липы, как примесь к ней встречается ель сибирская, а также более низкие деревья березы и осины. В хорошо развитом подлеске преобладают малина и рябина, встречаются шиповник и смородина черная.

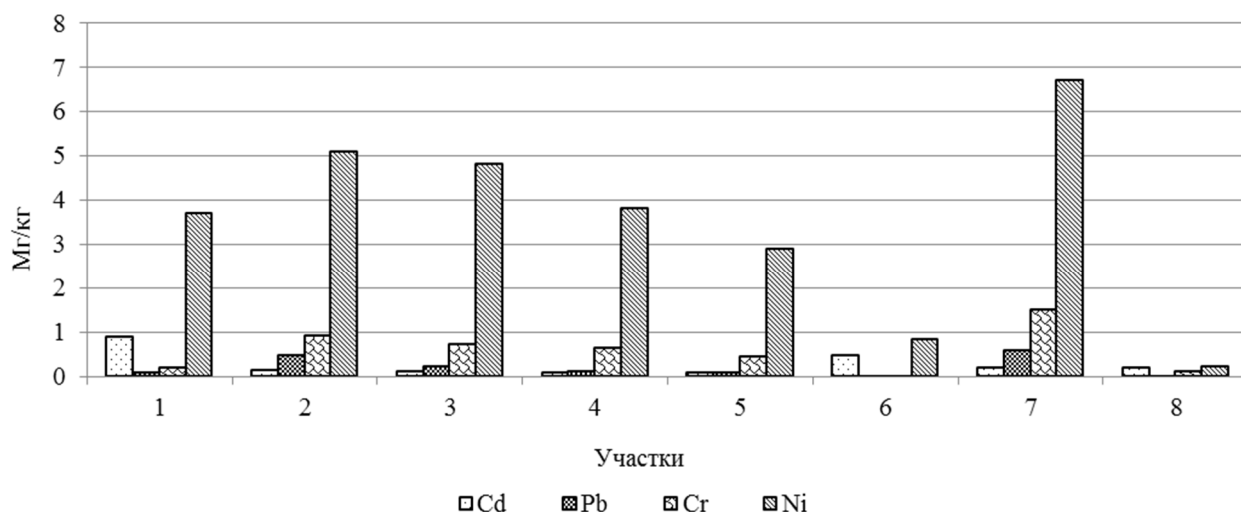
Участок № 7. Фитоценоз расположен вдоль автодороги Ярково - Тобольск. Древостой (10Ос) представлен взрослыми деревьями осины, имеющими высокую степень сомкнутости крон. Подлесок разрежен, представлен единичными особями черемухи и рябины, небольшим числом кустов шиповника.

Участок № 8. Фитоценоз представляет собой средневозрастной сосняк с небольшой примесью березы (10С+Б) с невысокой плотностью древостоя и несколько разреженным травяно-кустарничковым ярусом. Флористический состав фитоценоза вполне типичен для подобных сообществ (контрольный участок).

В результате проведенных исследований в составе изученных растительных фитоценозов выявлено 75 видов сосудистых растений из 21 семейства. Индекс синантропизации находится в интервале от 43 до 64%. Это говорит о том, что синантропные виды занимают большую часть участков, т.е. доминируют, образуя общий фон, в который вкраплены все прочие виды растительности.

Выявлены общие виды для всех площадок: Тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.), Вейник тростниковый (*Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth), Лабазник обыкновенный (*Filipendula vulgaris* Moench).

Чтобы определить антропогенную нагрузку, определяли наличие тяжелых металлов (Zn, Cd, Pb, Cr, Ni). Результаты исследований показали: по степени антропогенной нагрузки участки выстроились в следующем порядке: 8→6→1→5→4→3→2→7. Концентрация варьировала: Zn (от 19,4 до 62,3 мг/кг), Cd (от 0,9 до 0,21 мг/кг), Pb (от 0,02 до 0,6 мг/кг), Cr (от 0,06 до 1,51 мг/кг), Ni (от 0,84 до 6,71 мг/кг) (рисунок).



Содержание тяжелых металлов в растительных образцах изучаемых участков

Для определения антропогенной нагрузки на изучаемые участки использовали *Allium-test* с использованием *Allium cepa* L.

Изменение митотической активности тканей корневой меристемы можно рассматривать как показатель негативного воздействия факторов на растения. В определяемых лабораторных вариантах, где семена *Allium cepa* L. были подвержены воздействию 0,5%-ным концентратом *Achillea millefolium* L., определены следующие результаты. Число мутагенных митозов контрольного модельного участка № 8 (контрольный участок) равно 155 штук. Это больше, чем на участках с наибольшей антропогенной нагрузкой № 2 (312), № 7 (424) и № 4 (394) штук. Процент мутагенных митозов в загрязненных фитоценозах варьировал от 20,40 до 38,74%, нормальных - от 61,25 до 73,11%. Таким образом, процент нормальных митозов превосходит процент образования мутагенных митозов. Однако на долю патологических митозов антропогенных фитоценозов приходится значительная доля (табл. 1).

Таблица 1

Митозы в клетках корневой меристемы *Allium cepa* L., обработанной растительными экстрактами *Achillea millefolium* L., n=20

Участок	Митозов, шт.	Нормальные митозы, %		Мутагенные митозы, %	
		шт.	%±m %	шт.	%±m %
1	1044	732	72,11±1,62*	312	29,88±2,64*
2	1720	1189	69,12±1,40*	531	20,40±1,84*
3	1353	999	73,83±1,32*	354	26,16 ±2,50
4	1017	623	61,25±2,10*	394	38,74±2,41*

5	1123	725	64,55±1,61*	398	35,44±2,61*
6	1245	869	69,79±1,40*	376	30,20±2,41*
7	1102	678	61,52±1,90*	424	38,47±2,21*
8	1255	1100	87,64±0,63	155	1,35±5,21

Примечание: * - различия с контролем достоверны на уровне $P < 0,05$.

Частота мутагенных митозов в клетках корневой меристемы *Allium cepa* L., обработанной экстрактами *Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth, находится в интервале от 218 (контрольный участок) до 477 штук (участок № 7). Это самый высокий показатель. Число мутагенных митозов, вызванных экстрактами *Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth, варьируют от 217 до 42,83 штуки. Всего обнаружено 875 (1), 1062 (2), 1046 (3), 896 (4), 892 (5), 973 (6), 1236 (7) штук митозов (табл. 2).

Таблица 2

Митозы в клетках корневой меристемы *Allium cepa* L., обработанной растительными экстрактами *Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth, n=20

Участок	Митозов, шт.	Нормальные митозы, %		Мутагенные митозы, %	
		шт.	%±m %	шт.	%±m %
1	875	658	75,20±1,31	217	24,80±2,95*
2	1062	745	70,15±1,71*	317	29,84±2,51*
3	1046	832	79,61±1,57*	214	20,45±2,61
4	896	653	72,87±1,60*	243	27,12±2,70*
5	892	639	71,63±1,52*	253	28,36±2,94*
6	973	568	58,37±0,72*	405	41,62±3,79
7	1236	759	61,40±1,90*	477	42,83±2,23*
8	1650	1432	86,78±0,71	218	13,21±2,88*

Примечание: * - различия с контролем достоверны на уровне $P < 0,05$.

Процент нормально проходящих митозов, обнаруженных в клетках корневой меристемы *Allium cepa* L., обработанной растительным экстрактом *Filipendula vulgaris* Moench, варьировал от 623 (участок № 2) до 869 штук (участок № 4). Частота мутагенных митозов наблюдалась в интервале от 205 (участки № 3, 6) до 494 штук (участок № 4). Таким образом, изучая частоту митозов, были выявлены участки с наибольшей антропогенной нагрузкой (№ 2 и 4, 7) (табл. 3).

Таблица 3

Митозы в клетках корневой меристемы *Allium cepa* L., обработанной растительными экстрактами *Filipendula vulgaris* Moench, n=20

Участок	Митозов, шт.	Нормальные митозы, %		Мутагенные митозы, %	
		шт.	%±m %	шт.	%±m %
1	1565	819	52,33±1,71*	746	47,66±2,65*
2	896	623	69,53±1,92*	273	30,46±2,56*
3	974	769	78,95±1,18	205	21,05±3,01*
4	1363	869	63,75±1,50*	494	36,24±2,84
5	1200	689	57,41±1,32	511	42,58±2,86*
6	879	674	76,67±1,20*	205	23,32±3,03
7	1156	702	43,98±1,90*	454	39,27±2,21*
8	1596	1456	91,22±1,22	140	8,77±0,70

Примечание: * - различия с контролем достоверны на уровне $P < 0,05$.

Результаты проведенных опытов с экстрактом растений, собранных на исследуемых участках, показали, что даже в самой низкой 0,5%-ной концентрации сок из растений, собранных с загрязненных участков, оказывал значимое угнетающее влияние на клетки растений.

При действии 0,5%-ной концентрации растительного экстракта контрольного участка выявлено, что наименьшее число мутагенных митозов в клетках *Allium cepa* L. участка № 8 равно 56 шт., этот показатель значительно ниже, чем на участке № 7 (493 шт.).

Выводы

Исследована токсическая и мутагенная активность растительных экстрактов. Воздействуя растительными концентрированными растворами на клетки корневой меристемы *Allium cepa* L., обнаружили, что происходит увеличение количества мутагенных митозов 20,40-38,74% (*Achillea millefolium* L.); 20,45–42,83% (*Calamagrostis arundinacea* L. Roth); 21,05–47,66% (*Filipendula vulgaris* Moench). В контроле 1,35% (*Achillea millefolium* L.); 13,21% (*Calamagrostis arundinacea* L. Roth); 8,77% (*Filipendula vulgaris* Moench).

Полученные экспериментальные данные позволяют считать, что Allium-test с использованием *Allium cepa* L. может быть применен в качестве тест-объекта в рамках биомониторинга окружающей среды.

Статья подготовлена при финансовой поддержке ФАНО России в рамках темы ФНИ № 0408-2014-0018 «Анализ состояния фитоценозов Западной Сибири в современных антропогенных условиях».

Список литературы

1. Amin K.A., Abdel Hameid II H., Abd Elstar A.H. Effect of food azo dyes tartrazine and

carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats // *Food and Chemical Toxicology*. – 2010. – Vol. 48. – P. 2994-2999.

2. Barberrio A., Voltolini J.C., Mello M.L.S. Standardization of bulb and root sample sizes for the *Allium* test // *Ecotoxicology*. – 2011. – Vol. 20. – P. 927–935.

3. Fiskesjo G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring // *Hereditas*. – 2008. – Vol. 102. – P. 99–112.

4. Turkoglu S. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa* // *Food and Chem. Toxicol.* – 2008. – Vol. 46. – P. 2035–2041.

5. Atha D.H., Wang H., Petersen E.J. et al. Copper oxide nanoparticle mediated DNA damage in terrestrial plant models // *Environ. Sci. Technol.* - 2012. - V. 46. - P. 1819-1827.

6. Ghosh M., Bandyopadhyay M., Mukherjee A. Genotoxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles at two trophic levels: plant and human lymphocytes // *Chemosphere*. - 2010. - V. 81. - P. 1253-1262.

7. Fiskesjo G. The *Allium*-test as a standard in environmental monitoring // *Hereditas*. - 1985. - Vol. 102. - P. 99-102.

8. Sabti K. *Allium* test for air and water borne pollution control // *Cytobios.* - 1989. - Vol. 58. - P. 71-78.

9. Паушев З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1980. – 304 с.

10. Попова Е.И. Определение токсичности тканевых соков некоторых видов растений методом биоиндикации // *Современные проблемы науки и образования*. – 2014. – № 5. - URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=15226>.

11. Миркин Б.М. Современная наука о растительности / Б.М. Миркин, Л.Г. Наумова, А.И. Соломеш. – М.: Логос, 2000. – 669 с.