



Број / № CH-2605

Датум / Date 19. 12. 2022.

M Centar group d.o.o,
Smetanina 9, Beograd
Dejan Grek, direktor

Rezultati testiranja uzoraka vode *Allium* anafazno-telofaznim testom na genotoksičnost

Uvodne napomene

Allium test se preporučuje kao veoma pogodan test sistem za ispitivanje uzoraka vode (česmenske vode, rečne, jezerske i otpadnih voda) od strane Royal Swedish Academy of Science (1973) i GENE-TOX programa (Grant, 1982). Prednost ovog testa je što se uzorci ispituju bez prethodnog koncentrovanja ili uparavanja. Pored toga moguće je testirati kvalitet voda koje se pakuju ili odlažu u pakovanja ili posude proizvedene od različitih materijala. Značajno je da ovaj test pokazuje odličnu korelaciju sa testovima koji se obavljaju na sisarima u uslovima *in vivo* (Fiskesjö, 1985), tako da se rezultati mogu sa visokom pouzdanošću ekstrapolirati na čoveka.

Genotoksičnost je mera sposobnosti hemijskih agenasa da dovedu do oštećenja genetičkog materijala (DNK). Efekti na DNK mogu biti direktni ili indirektni. Za razliku od mutagena, da bi neka supstanca imala genotoksični efekat potrebno je da njen efekat bude nasledan, odnosno da se prenose na sledeću generaciju. Prednost *Allium* testa je što omogućava procenu nivoa genotoksičnosti bez znanja o hemijskom sastavu uzorka koji se testira. To je naročito važno za testiranje prirodnih voda, koje najčešće sadrže složene mešavine različitih hemijskih supstanci.

Procedura testa

Test je obavljen po prilagođenoj proceduri (Fiskesjö, 1985, 1993; i Rank i Nielsen, 1993) označenoj kao *Allium* anaphase-telophase genotoxicity assay. Za test uzorak i dve kontrole upotrebljeno je po dvanaest lukovica *Allium cepa*. Lukovi su stavljeni direktno u test uzorke i u uslovima mraka na temperaturi od 25°C su rasli tokom 72 časa. Svaka 24 sata svi test uzorci su menjani sa svežim. Na kraju procedure korenčići su sečeni, hidrolizovani u 1N HCl i bojeni 24 sata Orceinom.

Od vrhova korenčića (meristemsko tkivo) napravljeni su mikroskopski preparati za analizu genotoksičnosti. Kao pozitivna kontrola korišćen je metil metan sulfonat – MMS (SIGMA M-4016) u koncentraciji od 10 µg/l. Negativna kontrola je bila česmenska voda, koja je uzimana iz posude, koja nije imala magnetni tretman (Slika 1) posle 10 minuta

držanja u posudi. Cilj testiranja je bio uporediti kvalitet vode koja je držana 10 minuta u Molecule pet bowl (Slika 2) u odnosu na vodu iz posude bez magnetnog tretmana.



Slika 1. Posuda bez magnetnog tretmana



Slika 2. Molecule pet bowl

Mikroskopska analiza kodiranih mikroskopskih preparata obuhvatala je sve normalne i sve aberantne deobe. Aberantne anafazne i telofazne obuhvatale su: c-mitozu, vagrantne hromosome, mostove, fragmente i multipolarno vreteno. Ukupno je analizirano više od 500 ćelija po uzorku.

REZULTATI ISPITIVANJA GENOTOKSIČNOSTI

I – česmenska voda iz Molecule pet bowl

K- – česmenska voda iz posude bez magnetnog tretmana

K+ – MMS (poznati mutagen)

Grupa	Ćelije bez aberacija	Aberantne ćelije	% aberacija
I	607	29	4.56
K-	465	46	9.00
K+	410	142	24.7

Analizirani uzorak (I) se statistički značajno razlikuje od pozitivne kontrole, odnosno poznatog mutagena. Pored toga statistički značajna razlika postoji između negativne kontrole K- (uzorka vode u posudi bez magnetnog tretmana) i uzorka vode u Molecule pet bowl (I) $X^2=9.142$, $p=0.002$.

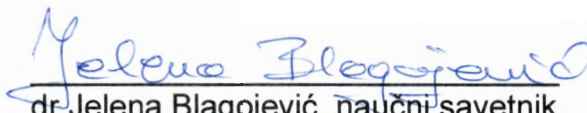
Zaključak

Voda posle 10 minuta tretmana u Molecule pet bowl značajno poboljšava kvalitet česmenske vode. Sem toga, konstatovana je bolja klijavost lukovica u uzorcima vode iz Molecule pet bowl.

Reference

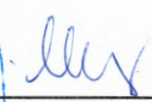
- Fiskesjö, G. (1985) The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102:99-112.
- Fiskesjö G, Levan A. (1993) Evaluation of the First Ten MEIC Chemicals in the *Allium* Test. *Alternatives to Laboratory Animals* 21(2):139-149.
- Grant, W.F. (1982) Chromosomal aberration assays in *Allium*: A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat. Res.* 99: 273-291.
- Rank, J. & Nielsen, M.H. (1994) Screening of toxicity and genotoxicity in wastewater by the use of the *Allium* test. *Hereditas* 121: 249-254
- Royal Swedish Academy of Science (1973) Evaluation of genetic risks of environmental chemicals. *Ambio* 3.

Beograd, 19.12.2022.



dr Jelena Blagojević, naučni savetnik
Rukovodila Odeljenja za genetička istraživanja




dr Mirjana Mihailović, naučni savetnik
Direktor IBISS