

УДК 504.054

doi: 10.17223/19988591/51/9

**Т.С. Лопатина¹, Ю.В. Александрова¹, О.В. Анищенко¹,
И.В. Грибовская¹, Н.А. Оськина¹, Т.А. Зотина^{1,2}, Е.С. Задереев^{1,2}**

¹ Институт биофизики СО РАН, Красноярский научный центр СО РАН,
г. Красноярск, Россия

² Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, Россия

Влияние растворов противогололёдной смеси на *Moina macroura* и *Allium* *sepa* в биотестовом эксперименте

Исследование выполнено при финансовой поддержке совместного гранта РФФИ, Правительства Красноярского края и Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности № 19–44–240014.

В острых и хронических тестах исследовано действие растворов противогололёдного материала «Бионорд», содержащего в своём составе хлориды натрия и кальция (до 85% от общего состава), на параметры роста и размножения ветвистоусого рачка Moina macroura и лука репчатого Allium sepa. Установлена гибель 50% рачков при концентрации антигололёдной смеси в растворе 5,1 г/л в острых 48-часовых тестах. В хронических тестах смесь в диапазоне концентраций 0,3–5,0 г/л не оказывала значимого влияния на среднюю продолжительность жизни, удельную скорость ювенильного роста и плодовитость самок рачков. Средняя длина корней, суммарная длина корней на каждой луковице и пролиферативная активность в кончиках корней (митотический индекс) лука снижались на 50% по сравнению с контролем при концентрациях смеси в растворе 6,3; 5,2 и 10,4 г/л соответственно. Электропроводность растворов смеси, оказавших негативное влияние на выбранные тест-объекты, совпадала с ранее полученными значениями электропроводности растворов хлорида натрия, токсичных для ракообразных. На основании этого можно предположить, что основное действие противогололёдной смеси «Бионорд» на исследуемые объекты связано с входящими в её состав солями хлора и натрия. Основываясь на критических для роста и развития использованных тест-объектов концентрациях смеси «Бионорд» в растворе и нормативах ее применения установлено, что сток с 1 м² обработанной поверхности может привести к загрязнению 8–13 л пресной воды. Таким образом, регламентированная правилами использования препарата очистка обработанных поверхностей от «Бионорда» – базовое требование к применению соледержащих средств. Иначе постепенное накопление в водоёмах хлоридов натрия и кальция может привести к серьёзным нарушениям в функционировании водных экосистем.

Ключевые слова: солёность; биотестирование; ветвистоусые ракообразные; Allium-тест; водные экосистемы.

Введение

Антропогенное химическое загрязнение окружающей среды антигололёдными реагентами вызывает повышение солёности в водных экосистемах во многих регионах мира [1]. Наиболее популярными средствами для борьбы со льдом на дорогах являются хлористые соли [2–4]. Использование таких средств приводит к поступлению катионов (Na^+ , Ca^{2+} и т.д.) и хлорид-аниона (Cl^-) в поверхностные и подземные водоёмы и водотоки прилегающих территорий [2, 5]. Известно, что функционирование водных экосистем в значительной степени зависит от солёности воды, поскольку это один из ключевых факторов, определяющих видовой состав, структуру трофических сетей и продуктивность сообществ в водоёмах [5, 6]. В последние годы опубликовано значительное количество работ, рассматривающих регулярное и долговременное применение солесодержащих смесей как причину постепенного химического загрязнения водных экосистем [1–4, 7, 8]. В Северной Америке и Европе применение соли для удаления наледи на автомобильных дорогах, практикуемое уже более 50 лет [3], признано одним из основных источников хлоридов в подземных водах, ручьях, реках и озёрах [9].

Во многих городах Российской Федерации в последние годы резко возросла интенсивность применения солесодержащих смесей для борьбы с обледенением дорожных покрытий и пешеходных зон [10]. Использование таких смесей вызывает обеспокоенность общественности и привлекает внимание контролирующих органов. Для прогноза последствий возможного химического загрязнения водных и наземных экосистем в результате долговременного применения солесодержащих смесей необходимо иметь представление о пределах устойчивости организмов, населяющих пресноводные объекты и почвенные системы, к компонентам, входящим в их состав [11]. На территории России исследования, устанавливающие такие пределы, немногочисленны и представлены преимущественно работами по изучению влияния противогололёдных средств на микробиоту почвенного покрова вдоль дорожных полотен и высшие растения [12, 13].

Цель данной работы – определить пороговые концентрации растворов противогололёдной солевой смеси «Бионорд», содержащей в своем составе хлориды натрия и кальция, при которых наблюдаются негативные эффекты на параметры развития животных и растительных тест-объектов.

Материалы и методики исследования

Для оценки пороговых концентраций растворов противогололёдной солевой смеси использованы стандартный для экологического мониторинга луковый тест (*Allium*-тест) на основе лука репчатого *Allium cepa* L. (Liliopsida: Amaryllidaceae) [14–17], а также острый и хронический тесты с пресноводным рачком *Moina macroscopa* (Straus, 1820) (Cladocera: Moinidae) [18, 19].

Во всех экспериментах в качестве модельного антигололёдного средства протестирована содесодержащая смесь «Бионорд» [20, 21]. Тестируемые растворы готовили путем разведения исходного стокового раствора с концентрацией смеси 200 г/л. Элементный состав всех тестируемых растворов и контрольной среды определяли с помощью ИСП-спектрометра iCAP 6300 Duo («Thermo Scientific», Великобритания) [18], удельную электропроводность – с помощью кондуктометра STARTER ST300C («Ohaus Corporation», США), водородный показатель – с помощью рН-метра РВ-11 («Sartorius», Германия). Калибровка приборов проводилась перед каждой серией измерений. Измерения выполнены в аналитической лаборатории Института биофизики СО РАН (г. Красноярск).

Физико-химическая характеристика растворов антигололёдной смеси. На основании химического анализа выделены элементы, концентрация которых в воде линейно зависела от концентрации растворенной смеси (коэффициент детерминации R^2 от 0,99 до 0,60). Сумма этих элементов составляла 85,0% от количества растворенной смеси (Cl: 48,0±5,8%; Na: 28,7±2,1%; Ca: 7,9±0,5%; S: 0,2±0,1%; K: 0,20±0,01%; Mg: 0,01±0,01%; Sr: 0,006±0,001%; B, Ba, Cr, Cu, Ga, Li, Mn, Mo, V в сумме: 0,003%). Концентрации Al, As, Bi, Cd, Co, Fe, Ni, P, Pb, Sb, Se, Sn, Ti, Zn слабо зависели от концентрации смеси в растворе (R^2 от 0,5 до 0,003). Доля неучтенных при анализе растворов элементов в массе смеси не превышала 15%.

Доля нерастворимой минеральной фракции в массе смеси составила 1,18±0,15% (n = 4). Для её определения раствор смеси центрифугировали в течение 30 мин при 8 000 г, 20 °С. После первичного центрифугирования осадок трижды промывали дистиллированной водой и центрифугировали, затем высушивали при температуре 105 °С и взвешивали на аналитических весах.

Зависимость удельной электропроводности раствора (y) от концентрации растворенной смеси (x) описывается линейным уравнением $y = 1,22x + 1,57$ ($R^2 = 0,99$). Величина рН растворов не зависела от концентрации смеси, в острых и хронических тестах на ветвистоусых ракообразных составляла 7,7±0,2, в тестах на луке репчатом – 7,0±0,7.

Allium-тест. Для экспериментов использовали головки лука репчатого сорта Штуттгартер Ризен диаметром 1,8±0,1 см, массой 2,27±0,17 г. Перед экспериментом луковицы вынимали из холодильника, где они хранились при температуре 5 °С в течение двух недель, далее вымачивали несколько часов в дистиллированной воде и после удаляли отмершие поверхностные ткани. Подготовленные луковицы помещали на 48 ч корневой частью в пробирки, содержащие по 20 мл растворов смеси в различной концентрации или водопроводной воды. Для каждой концентрации смеси и в контроле протестировано по три луковицы. Проведено два последовательных эксперимента, в каждом из которых протестировали растворы со следующими концентрациями смеси в дистиллированной воде: 1,0; 2,5; 5,0; 7,0; 10,0; 15,0; 20,0; 50,0 г/л.

Для оценки общей токсичности измеряли длину корней и рассчитывали среднюю и суммарную длину корней на каждой луковице (см). Для оценки цитотоксичности рассчитывали митотический индекс (МИ) – отношение числа делящихся клеток в апикальной меристеме корней к общему числу клеток. Для подсчета МИ для каждой концентрации реагента отбирали по пять корешков лука длиной 0,8–1,4 см случайным образом из корней, выросших на трех луковицах. Корешки фиксировали, красили 2% раствором ацеоорсеина и готовили из них препараты по ранее описанной методике [14]. Препараты просматривали под микроскопом ($\times 400$). В каждом препарате просматривали такое количество полей, чтобы набрать в сумме около тысячи интерфазных и делящихся клеток. МИ рассчитывали как долю делящихся клеток, находящихся в стадиях профазы, метафазы, анафазы и телофазы, к сумме делящихся и интерфазных клеток и выражали в процентах.

Острые и хронические тесты с рачками. В работе тестировали лабораторную культуру *M. macroscopa*, полученную из покоящихся яиц. Культура рачков вместе с грунтом предоставлена В.К. Чугуновым из временного пересыхающего пруда в окрестностях Института биологии внутренних вод РАН (пос. Борок, Ярославская область).

Для всех экспериментов тестируемых ювенильных самок получали от материнских особей, которых культивировали индивидуально в благоприятных для партеногенетического размножения условиях (температура 26 °С; фотопериод 16 ч свет : 8 ч темнота; концентрация пищи 200×10^3 кл./мл; объем среды 20 мл) [18, 19]. В острых и хроническом экспериментах самок в первые сутки их жизни (размер тела 0,5–0,6 мм) рассаживали по одной в стаканчики с отстоянной (не менее 72 ч) водопроводной водой (20 мл) с добавкой смеси в определенной концентрации. Контроль – группа животных в водопроводной воде. Стаканчики с животными во время острых и хронического экспериментов находились в контролируемых условиях (температура 26 °С; фотопериод 16 ч свет : 8 ч темнота). Для каждой концентрации смеси в растворе и контроля протестировано по 20 животных в острых и по 15 животных в хроническом экспериментах.

На основе литературных данных о влиянии солености на пресноводных ветвистоусых ракообразных [22, 23] и оценки элементного состава смеси, для острых тестов выбраны следующие концентрации «Бионорда»: 1,3; 2,5; 4,0; 5,0; 6,0; 8,0; 10,0 г/л. Животных в острых тестах не кормили. Смертность рачков определяли через 24 и 48 ч после начала эксперимента. Для всей линейки концентраций проведено три последовательных эксперимента.

В хроническом эксперименте протестирован следующий ряд концентраций «Бионорда» в среде: 0,3; 0,6; 1,3; 2,5; 5,0; 6,0 и 8,0 г/л. Исходные тестируемые растворы смеси «Бионорд» готовили в объеме, достаточном для проведения всего хронического эксперимента. В качестве корма в хроническом тесте использовали неаксеничную культуру зелёной водоросли *Chlorella vulgaris* (Chlorellales: Chlorellaceae) [18, 19]. Среду культивирова-

ния в опытных и контрольных стаканах меняли ежедневно. В начале эксперимента и каждые следующие сутки при обновлении среды вносили корм в концентрации 200×10^3 клеток/мл. Хронический эксперимент вели до гибели всех тестируемых животных. В первые сутки жизни и за сутки до отрождения первого потомства у каждой самки определяли линейные размеры тела как длину от вершины головы до конца створок панциря под бинокулярной лупой ($\times 16$). На основе линейных размеров тела рассчитывали удельную скорость ювенильного роста животных [19]. Каждые сутки фиксировали количество мертвых животных, для каждой самки подсчитывали количество отрожденных потомков, которых после этого удаляли. На основании этих данных для каждой концентрации смеси рассчитывали среднюю продолжительность жизни и среднюю плодовитость рачков.

Статистический анализ. Для анализа регрессионных зависимостей результаты двух независимых *Allium*-тестов объединили в один массив данных на основе попарного сравнения индикаторных параметров, полученных для одинаковых концентраций, с помощью двухвыборочного *t*-теста, который не выявил статистически значимого различия сравниваемых выборок ($T \leq t$, $p > 0,05$, предварительно оценивалась статистическая значимость различия дисперсий с помощью *F*-теста); три последовательных острых эксперимента с рачками объединили в один массив данных на основе отсутствия статистически значимых отличий выживаемости рачков в контроле (тест различия между двумя пропорциями, $p > 0,32$).

Параметры регрессионных зависимостей представлены в виде значений угла наклона (*b*), верхнего предела показателя теста (*d*), концентраций смеси, при которых происходит снижение значений показателей теста на 50% по сравнению с верхним предельным значением (EC_{50} , LC_{50}), и стандартной ошибки этих значений ($\pm SE$). Значения параметров и их статистическую значимость определяли с помощью пакета программного обеспечения «drc» в программе R [24].

Данные по влиянию растворов противогололёдной смеси на параметры жизненного цикла *Moina macroscopa* в хроническом эксперименте представлены в виде средних значений продолжительности жизни самок (*L*, сутки), удельной скорости роста ювенильных самок (μ_{juv} , 1/сутки), плодовитости (*F*, потомков/самку) со стандартным отклонением ($\pm SD$). Статистическую значимость влияния концентрации противогололёдной смеси на параметры жизненного цикла оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA).

Результаты исследования и обсуждение

Для экологического прогнозирования качества среды обитания и осуществления мер по защите экосистем от химического загрязнения соледержащими смесями чрезвычайно важно иметь представление о том, насколько солёность может превысить фоновые концентрации в среде, не

оказав негативного воздействия на биоту. В настоящей работе исследовалось влияние противогололёдного реагента на живые организмы с помощью нескольких контактных биотестов на основе растительных и животных тест-объектов (лук репчатый *A. cepa*, ветвистоусый рачок *M. macroscopa*). Угнетающее действие реагента оценивалось на уровне организма (выживаемость и параметры жизненного цикла рачков, ростовые параметры лука) и клеточном уровне (митотический индекс).

Концентрации смеси, при которых наблюдалось 50% угнетение роста корней лука (EC_{50}) и 50% смертность рачков (LC_{50}), оказались достаточно близкими (табл. 1).

Таблица 1 [Table 1]

Влияние растворов противогололёдной смеси на индикаторные параметры *Allium*-тест и острых тестов с *Moina macroscopa*
[The effect of deicing salt solutes on the endpoints of *Allium*-test and acute tests with *Moina macroscopa*]

Показатель теста [Test indicator]	df	Параметр [Parameter]	Значение параметра \pm SE [Parameter value \pm SE]	<i>p</i> -value
<i>Allium</i> -тест [<i>Allium</i> -test]				
Средняя длина корня, см [Average root length, cm]	33	b	1,23 \pm 0,50	0,019
		d	1,18 \pm 0,12	<0,001
		EC_{50}	6,30 \pm 1,94	0,003
Сумма длин корней, см [Sum of the root lengths, cm]	30	b	1,48 \pm 0,81	0,080
		d	44,80 \pm 6,02	<0,001
		EC_{50}	5,17 \pm 1,91	0,011
Митотический индекс [Mitotic index], %	32	b	23,28 \pm 93,79	0,805
		d	6,93 \pm 0,37	<0,001
		EC_{50}	10,40 \pm 1,65	<0,001
24/48-часовой тест на ветвистоусых рачках [24/48-hour Cladocera test]				
Выживаемость рачков, шт. [Survival of animals, numbers]	22	b	8,1 \pm 1,7/9,5 \pm 1,8	<0,001
		d	19,7 \pm 0,7/19,8 \pm 0,6	<0,001
		LC_{50}	5,8 \pm 0,2/5,1 \pm 0,1	<0,001

Примечание. df – число степеней свободы. Параметры логистической функции: b – угол наклона, d – верхнее предельное значение показателя теста, EC_{50} , LC_{50} – концентрация смеси, при которой происходит снижение значения показателя теста на 50% по сравнению с верхним предельным значением.

[*Note.* df - degrees of freedom. Parameters of logistic function: b - The relative slope, d - Upper limit of the test indicator, EC_{50} , LC_{50} - The concentration producing a response of the test indicator 50% below the upper limit].

Дозовые зависимости средней длины лука и выживаемости рачков отличались скоростью реакции на увеличение концентрации растворенной смеси (рис. 1). Для индикаторных показателей лука наблюдалось относительно равномерное снижение показателя по мере увеличения концентрации (рис. 1, *a*). Выживаемость рачков резко снижалась при достижении пороговой концентрации смеси 4 г/л (рис. 1, *b*). Полное ингибирование роста корней лука наблюдалось при концентрации смеси 20 г/л, тогда как гибель всех тестируемых животных в острых опытах происходила при концентрации 8 г/л.

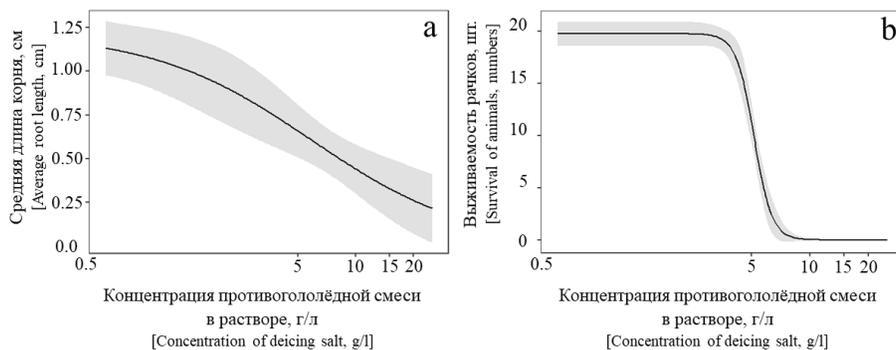


Рис. 1. Регрессионные зависимости средней длины корня лука *Allium cepa* в *Allium*-тесте (а) и выживаемости рачков *Moina macroscopa* в остром 48-часовом тесте (б) от концентрации противогололёдной смеси в растворе. Область, выделенная серым цветом вокруг регрессионной кривой, – границы 95% доверительного интервала [Fig. 1. Regression curves for average root lengths of *Allium cepa* in *Allium*-test (a) and survival of *Moina macroscopa* females in an acute 48-hour test (b) under the effect of the concentration of deicing salt. The gray band around the regression curve is the 95% confidence interval for predicted values]

Хронический тест не показал значимого влияния растворов смеси в диапазоне концентраций от 0,3 до 5,0 г/л на выживаемость и плодовитость самок *M. macroscopa*. Удельная скорость ювенильного роста рачков статистически значимо ($p \leq 0,05$) отличалась от контроля только при концентрации смеси в растворе 5,0 г/л. Полная гибель животных наблюдалась на вторые сутки эксперимента при концентрации смеси в растворе 6,0 г/л и выше (табл. 2).

Таблица 2 [Table 2]

**Влияние растворов противогололёдной смеси на параметры
жизненного цикла *Moina macroscopa***

[The effect of deicing salt solutes on the life cycle parameters of *Moina macroscopa*]

Концентрация смеси, г/л [Concentration of deicing salt, g/l]	L ± SD	$\mu_{\text{juv}} \pm \text{SD}$	F ± SD
Control	9,0 ± 3,6	0,38 ± 0,03	53,93 ± 31,10
0,3	8,7 ± 3,8	0,40 ± 0,03	56,20 ± 31,61
0,6	11,1 ± 4,9	0,39 ± 0,03	80,00 ± 48,23
1,3	9,7 ± 4,5	0,38 ± 0,03	66,93 ± 37,76
2,5	9,3 ± 5,9	0,39 ± 0,03	58,73 ± 47,15
5,0	9,2 ± 4,0	0,33 ± 0,08**	51,47 ± 33,69
6,0	1,3 ± 0,5*	–	–
8,0	1,0 ± 0,0*	–	–

Примечание. L – продолжительность жизни, сутки; μ_{juv} – удельная скорость роста ювенильных самок, 1/сутки; F – плодовитость, потомков/самку; * $p < 0,001$, ** $p = 0,038$.

[*Note.* L - Lifespan, days; μ_{juv} - Specific growth rate of juvenile females, 1/day; F - Fecundity, neonates/female; * $p < 0,001$, ** $p = 0,038$].

В работе зафиксированы схожие по величине концентрации соледержащей смеси в растворе, при которых наблюдаются угнетение роста корней лука и снижение выживаемости рачков. Эти величины в целом соответству-

ют величине критической солёности 5–8‰, при превышении которой происходят качественные изменения во внешней и внутренней среде организмов [25].

Как и большинство часто используемых химических средств для борьбы со льдом на дорогах, соледержащая смесь «Бионорд» содержит большое количество (около 85% от общей массы) хлоридов натрия и кальция [3]. Механизм действия растворов соледержащей смеси на живые организмы может быть связан как с непосредственным действием солей, так и других примесей, которые входят в её состав.

Литературные данные по влиянию хлорида натрия на *M. macroscopa* показывают, что параметры жизненного цикла представителей этого вида [26] и скорость роста популяции [22] практически не изменяются в диапазоне концентраций соли от 0 до 4,0–4,5 г/л. В настоящем исследовании параметры жизненного цикла не снижались при воздействии концентраций модельной смеси до 5,0 г/л, что с учётом массовой доли хлоридов натрия и кальция даёт схожие оценки.

Удельная электропроводность – интегральный показатель, который позволяет оценить количество растворённых в воде катионов и анионов и указывает на условия, к которым должна приспособиться система осмотической регуляции пресноводных организмов. Сравнение полученных в работе полулетальных концентраций используемой смеси с литературными данными по влиянию хлорида натрия на выживаемость рачка *Daphnia magna* показывает сопоставимые значения концентраций и удельной электропроводности растворов. Так, LC_{50} для NaCl в острых 48-часовых тестах на *D. magna* составляла 5,5 и 6,6 г/л, а соответствующие этим концентрациям электропроводности – 9,8 и 10,0 мС/см [23, 27]. В проведённой работе значению LC_{50} 5,1 г/л в остром 48-часовом тесте соответствует электропроводность 8,2 мС/см. Можно предположить, что негативный эффект растворов соледержащей смеси, протестированной в экспериментах, в первую очередь связан с действием входящих в её состав хлористых солей и может оцениваться по величине электропроводности раствора. Если бы в её состав входили токсичные вещества, действующие в низких концентрациях, следовало бы ожидать проявления негативных эффектов при более низких концентрациях или значениях электропроводности, не совпадающих с литературными данными по воздействию солей хлора на пресноводные организмы.

На основании результатов экспериментов и нормативов применения смеси «Бионорд» можно оценить опасность загрязнения пресных вод этим реагентом. Рекомендованная норма расхода смеси, в зависимости от погодных условий, составляет 40–65 г/м² [21]. В качестве наихудшего сценария рассмотрим случай, когда при отсутствии своевременной уборки обработанной поверхности, регламентированной правилами использования [20, 21], смесь вместе со сточными водами попадёт в водоём. В такой ситуации, основываясь на полученных в работе значениях LC_{50} для выживаемости пре-

сноводного ветвистоусого рачка (5,1 г/л) и EC_{50} для угнетения роста корней лука (5,2 г/л), сток с 1 м² обработанной поверхности может привести к загрязнению 8–13 л пресной воды. В реальной ситуации степень загрязнения антигололёдными смесями окружающей среды зависит от режима уборки и характеристики обрабатываемых территорий, климатических и других факторов [8]. Поэтому для конкретной местности или ситуации оценка уровня потенциального загрязнения требует детального исследования.

При оценке концентраций растворов соледержащей смеси, которые оказывают негативное воздействие на ветвистоусых ракообразных и репчатый лук, показано статистически значимое ($p \leq 0,05$) влияние на выживаемость рачка *M. macroscopa* и ингибирование роста корней лука *A. cepa* при концентрациях смеси, близких к уровню критической солёности для биологических объектов (5–8%). При этом последствия химического загрязнения поверхностных и подземных вод необходимо рассматривать в долгосрочной перспективе. Тенденцию постепенного накопления хлоридов в водных экосистемах, расположенных вблизи территорий, где в течение продолжительного периода времени применялись соледержащие антигололёдные средства, подтверждают многочисленные исследования [1–3, 8, 28, 29]. Более того, в литературе приведены данные о достаточно высоких концентрациях солей в пробах воды из природных источников во время стока дорожных солей. Например, концентрация солей в пробах, отобранных из ручьев в районе города Милуоки (США) достигала 10 г/л [30]. Также следует отметить работы исследователей, продемонстрировавших негативное влияние дорожных солей на структуру пищевых сетей и взаимоотношения водных организмов даже при относительно низком уровне химического загрязнения [1, 3, 4].

Заключение

Таким образом, проведена оценка полулетальных (LC_{50}) концентраций противогололёдной соледержащей смеси «Бионорд» в острых 24- и 48-часовых опытах на ветвистоусых рачках *M. macroscopa* (5,8 и 5,1 г/л соответственно). С применением *Allium*-тест оценены полуэффективные (EC_{50}) концентрации противогололёдной смеси для угнетения показателей роста корней лука (6,3; 5,2 и 10,4 г/л для средней и суммарной длин и пролиферативной активности соответственно).

Сравнение с данными о влиянии NaCl на ветвистоусых ракообразных дает основание заключить, что негативное воздействие растворов соледержащей смеси «Бионорд» в первую очередь связано с входящими в её состав солями хлора и натрия и может определяться по значению электропроводности раствора. По результатам работы дана оценка ситуации, когда всё использованное по нормативу средство вместе со сточными водами попадёт в водоём. В этом случае сток с каждого квадратного метра обработанной по-

верхности приведет к загрязнению 8–13 л пресной воды. Такое загрязнение хлоридами натрия и кальция водных экосистем может оказать негативное влияние на выживаемость пресноводного зоопланктона и привести к значительным экологическим последствиям.

Полученные в настоящей работе критические концентрации растворов противогололёдной соледержащей смеси «Бионорд» можно использовать для грубой оценки потенциальной опасности воздействия этого реагента для водных экосистем. Для более точных оценок возможных негативных последствий требуется проведение натурных измерений, долговременного мониторинга, моделирования распространения и накопления входящих в состав реагента компонентов в различных звеньях природных экосистем в местах его интенсивного применения.

Литература

1. Meter R.J.V., Swan Ch.M., Leips J., Snodgrass J.W. Road salt stress induces novel food web structure and interactions // *Wetlands*. 2011. Vol. 31, № 5. PP. 843–851. doi: [10.1007/s13157-011-0199-y](https://doi.org/10.1007/s13157-011-0199-y)
2. Godwin K.S., Hafner S.D., Buff M.F. Long-term trends in sodium and chloride in the Mohawk River, New York: the effect of fifty years of road-salt application // *Environmental Pollution*. 2003. Vol. 124. PP. 273–281. doi: [10.1016/s0269-7491\(02\)00481-5](https://doi.org/10.1016/s0269-7491(02)00481-5)
3. Schuler M.S., Hintz W.D., Jones D.K., Lind L.A., Mattes B.M., Stoler A.B., Sudol K.A., Relyea R.A. How common road salts and organic additives alter freshwater food webs: in search of safer alternatives // *Journal of Applied Ecology*. 2017. Vol. 54, № 5. PP. 1353–1361. doi: [10.1111/1365-2664.12877](https://doi.org/10.1111/1365-2664.12877)
4. Hofman J., Trávníčková E., Anděl P. Road salts effects on soil chemical and microbial properties at grassland and forest site in protected natural areas // *Plant, soil and environment*. 2012. Vol. 58, № 6. PP. 282–288. doi: [10.17221/5994-PSE](https://doi.org/10.17221/5994-PSE)
5. Velasco J., Gutie´rrez-Ca´novas C., Botella-Cruz M., Sa´nchez-Ferna´ndez D., Arribas P., Carbonell J.A., Milla´n A., Pallare´s S. Effects of salinity changes on aquatic organisms in a multiple stressor context // *Philosophical Transaction of the Royal Society B*. 2019. Vol. 374, № 1764. doi: [10.1098/rstb.2018.0011](https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0011)
6. Kefford B., Dunlop J., Nugegoda D., Choy S. Understanding salinity thresholds in freshwater biodiversity: freshwater to saline transition. In: *Salt, Nutrient, Sediment and Interactions: Findings from the National River Contaminants Program*. Land & Water Australia, 2007. PP. 9–28.
7. Fay L., Shi X. Environmental Impacts of Chemicals for Snow and Ice Control: State of the Knowledge // *Water Air and Soil Pollution*. 2012. Vol. 223, № 5. PP. 2751–2770. doi: [10.1007/s11270-011-1064-6](https://doi.org/10.1007/s11270-011-1064-6)
8. Ramakrishna D.M., Viraraghavan T. Environmental impact of chemical deicers – a review // *Water, Air, and Soil Pollution*. 2005. Vol. 166. PP. 49–63. doi: [10.1007/s11270-005-8265-9](https://doi.org/10.1007/s11270-005-8265-9)
9. Dugan H.A., Bartlett S.L., Burke S.M., Doubek J.P., Krivak-Tetley F.E., Skaff N.K., Summers J.C., Farrell K.J., McCullough I.M., Morales-Williams A.M., Roberts D.C., Ouyang Z., Scordo F., Hanson P.C., Weathers K.C. Salting our freshwater lakes // *PNAS*. 2017. Vol. 114, № 17. PP. 4453–4458. doi: [10.1073/pnas.1620211114](https://doi.org/10.1073/pnas.1620211114)
10. Никифорова Е.М., Кошелева Н.Е., Хайбрахманов Т.С. Экологические последствия применения противогололедных реагентов для почв восточного округа Москвы // *Вестник Московского университета. Серия 5: География*. 2016. № 3. С. 40–49.
11. Peredo-Alvarez V.M., Sarma S.S.S., Nandini S. Combined effect of concentrations of

- algal food (*Chlorella vulgaris*) and salt (sodium chloride) on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera) // *Revista de Biologia Tropical*. 2003. Vol. 51, № 2. PP. 399–407.
12. Герасимов А.О., Чугунова М.В. Изучение воздействия хлоридных противогололедных реагентов на высшие растения и почвенные микроорганизмы в лабораторном и полевом экспериментах // *Инженерная геология*. 2016. № 6. С. 48–53.
 13. Шишова Т.К., Матвеева Т.Б., Казанцев И.В. Влияние противогололедного материала «Бионорд» на развитие растений // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2017. Т. 26, № 1. С. 78–84.
 14. Зотина Т.А., Трофимова Е.А., Александрова Ю.В., Анищенко О.В. Оценка качества донных отложений среднего участка р. Енисей с помощью *Allium* теста // *Сибирский экологический журнал*. 2019. № 3. С. 327–340. doi: [10.15372/SEJ20190309](https://doi.org/10.15372/SEJ20190309)
 15. Fiskesjö G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring // *Hereditas*. 1985. Vol. 102. PP. 99–112. doi: [10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x](https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x)
 16. Leme D.M., Marin-Morales M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application // *Mutation Research*. 2009. Vol. 682. PP. 71–81. doi: [10.1016/j.mrrev.2009.06.002](https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002)
 17. Junior H.M., Silva J.D., Arenson A., Portela C.S., Ferreira I.C.F.d.S., Henriques J.A.P. Evaluation of genotoxicity and toxicity of water and sediment samples from a Brazilian stream influenced by tannery industries // *Chemosphere*. 2007. Vol. 67. PP. 1211–1217. doi: [10.1016/j.chemosphere.2006.10.048](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.048)
 18. Oskina N., Lopatina T., Anishchenko O., Zadereev E. High resistance of resting eggs of cladoceran *Moina macrocopa* to the effect of heavy metals // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2019. Vol. 102, № 3. PP. 335–340. doi: [10.1007/s00128-018-2473-7](https://doi.org/10.1007/s00128-018-2473-7)
 19. Лопатина Т.С., Бобровская Н.П., Оськина Н.А., Задереев Е.С. Сравнительное исследование токсического воздействия никеля и кадмия на активные и покоящиеся стадии ветвистогого рачка *Moina macrocopa* // *Журнал Сибирского федерального университета. Биология*. 2017. Т. 10, № 3. С. 358–372. doi: [10.17516/1997-1389-0031](https://doi.org/10.17516/1997-1389-0031)
 20. Стандарт организации СТО 001–80119761–2010. Противогололедные материалы «Бионорд». Технические условия. ООО «Уральский завод противогололедных материалов». Пермь, 2010. 22 с. URL: <http://www.sakhsnabservice.ru/data/uploads/cert/7def7457b14db93343382fe698d12e99.pdf> (дата обращения: 06.04.2020).
 21. Инструкция по использованию противогололедного материала «БИОНОРД» (ТУ 2149–009–93988694–2007) на дорогах с твердым покрытием, пешеходных тротуарах, в том числе плиточных, пассажирских платформах, грузовых площадках, привокзальных территориях, пешеходных и автомобильных мостах. 5 с. URL: http://vdknl.ru/file/0007/7072/%D0%9F%D0%91_bionord.pdf (дата обращения: 06.04.2020).
 22. Sarma S.S.S., Nandini S., Morales-Ventura J., Delgado-Martínez I., Gonza'lez-Valverde L. Effects of NaCl salinity on the population dynamics of freshwater zooplankton (rotifers and cladocerans) // *Aquatic Ecology*. 2006. Vol. 40. PP. 349–360. doi: [10.1007/s10452-006-9039-1](https://doi.org/10.1007/s10452-006-9039-1)
 23. Schuytema G.S., Nebeker A.V., Stutzman T.W. Salinity tolerance of *Daphnia magna* and potential use for estuarine sediment toxicity test // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 1997. Vol. 33, № 2. PP. 194–198. doi: [10.1007/s002449900242](https://doi.org/10.1007/s002449900242)
 24. Ritz Ch., Streibig J.C. Bioassay analysis using R // *Journal of Statistical Software*. 2005. Vol. 12, № 5. doi: [10.18637/jss.v012.i05](https://doi.org/10.18637/jss.v012.i05)
 25. Хлебович В.В. Критическая соленость биологических процессов. Л. : Наука, 1974. 235 с.
 26. Rasdi N.W., Suhaimi H., Hagiwara A., Ikhwanuddin M., Ghaffar M.A., Yuslan A., Najwa S. Effect of different salinities gradient on fatty acid composition, growth, survival

- and reproductive performance of *Moina macroscopa* (Straus 1820) (Crustacea, Cladocera) // Preprints. 2019. 2019060205. doi: [10.20944/preprints201906.0205.v1](https://doi.org/10.20944/preprints201906.0205.v1)
27. Martínez-Jerónimo F., Martínez-Jerónimo L. Chronic effect of NaCl salinity on a freshwater strain of *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera): a demographic study // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2007. Vol. 67, № 3. PP. 411–6. doi: [10.1016/j.ecoenv.2006.08.009](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.08.009)
28. Howard K.W.F., Maier H. Road de-icing salt as a potential constraint on urban growth in the Greater Toronto Area, Canada // Journal of Contaminant Hydrology. 2007. Vol. 91, № 1–2. PP. 146–170. doi: [10.1016/j.jconhyd.2006.10.005](https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2006.10.005)
29. Thunqvist E.L. Regional increase of mean chloride concentration in water due to the application of deicing salt // Science of the Total Environment. 2004. Vol. 325, № 1–3. PP. 29–37. doi: [10.1016/j.scitotenv.2003.11.020](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.11.020)
30. Corsi S.R., Graczyk D.J., Geis S.W., Booth N.L., Richards K.D. Fresh look at road salt: aquatic toxicity and water-quality impacts on local, regional, and national scale // Environmental Science and Technology. 2010. Vol. 44, № 19. PP. 7376–7382. doi: [10.1021/es101333u](https://doi.org/10.1021/es101333u)

Поступила в редакцию 12.05.2020 г.; повторно 17.07.2020 г.; 05.08.2020 г.
принята 19.08.2020 г.; опубликована 25.09.2020 г.

Авторский коллектив:

Лопатина Татьяна Станиславовна – канд. биол. наук, н.с. лаборатории биофизики экосистем, Институт биофизики СО РАН, Красноярский научный центр СО РАН (Россия, 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/50).

E-mail: lopatinats@mail.ru

Александрова Юлия Владимировна – м.н.с. лаборатории биоломинесцентных и экологических технологий, Институт биофизики СО РАН, Красноярский научный центр СО РАН (Россия, 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/50).

E-mail: Yuliyana_alexandrova@mail.ru

Анищенко Олеся Валерьевна – канд. биол. наук, зав. аналитической лабораторией, Институт биофизики СО РАН, Красноярский научный центр СО РАН (Россия, 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/50).

Грибовская Ильяда Владимировна – канд. биол. наук, с.н.с. аналитической лаборатории, Институт биофизики СО РАН, Красноярский научный центр СО РАН (Россия, 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/50).

E-mail: gribov@ibp.ru

Оськина Наталья Александровна – м.н.с. лаборатории биоломинесцентных и экологических технологий, Институт биофизики СО РАН, Красноярский научный центр СО РАН (Россия, 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/50).

E-mail: oskina_nata@mail.ru

Зотина Татьяна Анатольевна – канд. биол. наук, доцент, с.н.с. лаборатории радиоэкологии, Институт биофизики СО РАН, Красноярский научный центр СО РАН (Россия, 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок 50/50); доцент базовой кафедры медико-биологических систем и комплексов, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Сибирский федеральный университет (Россия, 660049, г. Красноярск, пр. Свободный, 79).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-4792-1582>

E-mail: t_zotina@ibp.ru

Заdereев Егор Сергеевич – канд. биол. наук, доцент, в.н.с. лаборатории биофизики экосистем, Институт биофизики СО РАН, Красноярский научный центр СО РАН (Россия, 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок 50/50); доцент кафедры биофизики, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Сибирский федеральный университет (Россия, 660049, г. Красноярск, пр. Свободный, 79).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2366-8604>

E-mail: egzadereev@gmail.com

Для цитирования: Лопатина Т.С., Александрова Ю.В., Анищенко О.В., Грибовская И.В., Оськина Н.А., Зотина Т.А., Заdereев Е.С. Влияние растворов противогололёдной смеси на *Moina macrocopa* и *Allium cepa* в биотестовом эксперименте // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2020. № 51. С. 162–178. doi: 10.17223/19988591/51/9

For citation: Lopatina TS, Aleksandrova YV, Anishchenko OV, Gribovskaya IV, Oskina NA, Zotina TA, Zadereev ES. The effect of deicing salt solutes on *Moina macrocopa* and *Allium cepa* in a toxicity test experiment. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2020;51:162-178. doi: 10.17223/19988591/51/9 In Russian, English Summary

**Tatiana S Lopatina¹, Yuliyana V. Aleksandrova¹, Olesya V. Anishchenko¹,
Liada V. Gribovskaya¹, Nataliya A. Oskina¹, Tatiana A Zotina^{1,2}, Egor S. Zadereev^{1,2}**

¹ *Institute of Biophysics, Federal Research Centre Krasnoyarsk Scientific Centre, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation*

² *Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation*

The effect of deicing salt solutes on *Moina macrocopa* and *Allium cepa* in a toxicity test experiment

Chloride salts are the most commonly used deicing materials for winter maintenance of roads. Numerous studies indicate a significant increase in the salinity of aquatic ecosystems associated with the long-term use of deicing materials in countries located in cold climates. The functioning of ecosystems largely depends on salinity, since salinity is one of the key factors determining the species composition, the structure of food webs and the productivity of aquatic communities. Given the growing threat of salinization of groundwater and surface waters, it is extremely important to study the effect of deicing materials on the biota and functioning of aquatic ecosystems. The aim of this research is to determine the threshold concentrations of solutions of the deicing salt mixture “Bionord” containing sodium and calcium chlorides, at which negative effects on the development of animal and plant test objects are observed.

In this study, we used the salt-containing mixture “Bionord” as a model deicer. Similarly, with the most commonly used ice melting chemicals, the «Bionord» salt mixture contains a large amount of sodium and calcium chlorides (about 85% of the total weight). To evaluate the toxicity of the deicer solutions, we used acute and chronic toxicity tests with cladoceran *Moina macrocopa* (Straus, 1820) (Cladocera: Moinidae) and standard onion-based test with *Allium cepa* L. (Liliopsida: Amaryllidaceae) (*Allium*-test). In acute and chronic toxicity tests with Cladocera, the females on the first day of their life (body size 0.5-0.6 mm) were placed individually in jars with aged (not less than for 72 h) tap water with a volume of 20 ml with the addition of a deicer at a certain concentration. A group of animals that was placed in the medium without the deicer was used as a control. In the acute toxicity tests, we used the following concentration of the deicer: 1.3; 2.5; 4.0; 5.0; 6.0; 8.0; 10.0 g/l. The mortality of animals was recorded 24 and 48 hours after the start of the experiment. The concentration of the deicer (LC₅₀) at which 50% of animals was observed to die, compared to the control, was determined in the acute toxicity test. In a chronic toxicity test, animals were tested in the following range of concentrations of the deicer: 0.3; 0.6; 1.3; 2.5; 5.0; 6.0 and 8.0 g/l. The chronic toxicity test was conducted until the death of all test animals. Based on the data obtained in the chronic toxicity test, the specific growth rate of juvenile females, average fecundity, and average life span of *M. macrocopa* were calculated for each concentration of the deicer. Bulbs of onions of the Stuttgarterisen variety with a diameter of 1.8 ± 0.1 cm and a weight of 2.27 ± 0.17 g were used in the onion test.

Bulbs with their bottoms were placed in test tubes containing 20 ml of a solute of the deicer or tap water for 48 hours. Three bulbs were tested for each concentration and for the control. The following concentrations of the deicer were used in the onion test: 1.0; 2.5; 5.0; 7.0; 10.0; 15.0; 20.0; 50.0 g/l. The general toxic and cytotoxic effects were evaluated in the onion test. The average root length and the total root length on each bulb were used as indicators of the total toxicity of the solutions of deicer. To evaluate proliferative activity, we calculated the mitotic index as the fraction of dividing cells in the apical root meristem to the total number of cells. Based on the results of the experiments, we determined median effective mixture concentrations (EC_{50}) at which there is a 50% decrease, compared to the control, in the values of root growth indicators: average root length, sum of root lengths on each bulb and mitotic index.

Median lethal concentration (LC_{50}) of the deicing salt determined in the 48-hour acute toxicity test with females of *M. macrocopa* was equal to 5.1 g/l. In the chronic test, we showed that the exposure to the solutions of the deicing salt in the range of concentrations from 0.3 to 5.0 g/l does not affect the life span, specific growth rate of juveniles and fecundity of females of *M. macrocopa*. The median effective concentration (EC_{50}) of the deicing salt determined in the *Allium*-tests were 6.3, 5.2 and 10.4 g/l for the sum of root lengths, average root length on each bulb and proliferative activity at the tips of roots (mitotic index), respectively (See Table 1 and 2). Complete inhibition of onion root growth was observed at the concentration of the deicer equal to 20 g/l, while the death of all test animals in the acute toxicity test occurred at the concentration of the deicer equal to 8,0 g/l (See Fig. 1).

Thus, we demonstrated that similar concentrations of the deicer induced 50% inhibition of the growth of onion roots and 50% mortality of cladocerans. These values, in general, corresponded to a critical salinity of 5-8 ‰ above which qualitative changes occur both in the external and internal condition of aquatic animals. The electrical conductivity of the deicer solutions, which had a negative effect on the selected test species, coincides with the previously obtained values of the electrical conductivity of sodium chloride solutions harmful to cladocerans. We can assume that the main mechanism of the effect of the deicing material that we study is associated with the biological effect of its chlorine and sodium salts. Taking this into account, the value of electrical conductivity measured for solutions of deicing salt can be used to assess its negative potential effects. We estimated that in the absence of timely cleaning, regulated by the rules for using the material, the runoff from each square meter of the treated surface can lead to the pollution of 8-13 liters of fresh water. Thus, the basic requirement for the use of deicing salts on roads is the need to comply with the cleaning regime of the treated surfaces. Otherwise, the gradual accumulation of sodium and calcium chlorides in water bodies can cause an increase in salinity which will affect the survival of freshwater aquatic organisms and lead to serious disturbances in the functioning of aquatic ecosystems.

The paper contains 1 Figure, 2 Tables and 30 References.

Key words: salinity; toxicity test; Cladocera, *Allium*-test; aquatic ecosystems.

Funding: This work was supported by the joint grant from the Russian Foundation for Basic Research, the Government of Krasnoyarsk Krai, and the Krasnoyarsk Krai Fund for Supporting Scientific and Scientific-Technical Activities (Grant No 19-44-240014).

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. Meter RJV, Swan ChM, Leips J, Snodgrass JW. Road salt stress induces novel food web structure and interactions. *Wetlands*. 2011;31(5):843-851. doi: 10.1007/s13157-011-0199-y

2. Godwin KS, Hafner SD, Buff MF. Long-term trends in sodium and chloride in the Mohawk River, New York: The effect of fifty years of road-salt application. *Environmental Pollution*. 2003;124:273-281. doi: [10.1016/s0269-7491\(02\)00481-5](https://doi.org/10.1016/s0269-7491(02)00481-5)
3. Schuler MS, Hintz WD, Jones DK, Lind LA, Mattes BM, Stoler AB, Sudol KA, Relyea RA. How common road salts and organic additives alter freshwater food webs: In search of safer alternatives. *J Applied Ecology*. 2017;54(5):1353-1361. doi: [10.1111/1365-2664.12877](https://doi.org/10.1111/1365-2664.12877)
4. Hofman J, Trávníčková E, Anděl P. Road salts effects on soil chemical and microbial properties at grassland and forest site in protected natural areas. *Plant, soil and environment*. 2012;58(6):282-288. doi: [10.17221/5994-PSE](https://doi.org/10.17221/5994-PSE)
5. Velasco J, Gutiérrez-Ca'novas C, Botella-Cruz M, Sa'ñchez-Ferna'ndez D, Arribas P, Carbonell JA, Millá'n A, Pallare's S. Effects of salinity changes on aquatic organisms in a multiple stressor context. *Philosophical Transaction of the Royal Society B*. 2019;374(1764):20180011. doi: [10.1098/rstb.2018.0011](https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0011)
6. Kefford B, Dunlop J, Nuggeoda D, Choy S. Understanding salinity thresholds in freshwater biodiversity: freshwater to saline transition. In: *Salt, Nutrient, Sediment and Interactions: Findings from the National River Contaminants Program*. Lovett S, Price P and Edgar B, editors. Publisher: Land & Water Australia Publ.; 2007. pp. 9-28.
7. Fay L, Shi X. Environmental impacts of chemicals for snow and ice control: State of the knowledge. *Water Air and Soil Pollution*. 2012;223(5):2751-2770. doi: [10.1007/s11270-011-1064-6](https://doi.org/10.1007/s11270-011-1064-6)
8. Ramakrishna DM, Viraraghavan T. Environmental impact of chemical deicers – A review. *Water, Air, and Soil Pollution*. 2005;166:49-63. doi: [10.1007/s11270-005-8265-9](https://doi.org/10.1007/s11270-005-8265-9)
9. Dugan HA, Bartlett SL, Burke SM, Doubek JP, Krivak-Tetley FE, Skaff NK, Summers JC, Farrell KJ, McCullough IM, Morales-Williams AM, Roberts DC, Ouyang Z, Scordo F, Hanson PC, Weathers KC. Salting our freshwater lakes. *PNAS*. 2017;114(17):4453-4458. doi: [10.1073/pnas.1620211114](https://doi.org/10.1073/pnas.1620211114)
10. Nikiforova EM, Kosheleva NE, Khaibrakhmanov TS. Ecological impact of antiglaze treatment on soils of the eastern district of Moscow. *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 5, Geografia = Moscow University Bulletin. Series 5, Geography*. 2016;3:40-49. In Russian, English Summary
11. Peredo-Alvarez VM, Sarma SSS, Nandini S. Combined effect of concentrations of algal food (*Chlorella vulgaris*) and salt (sodium chloride) on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *Revista de Biología Tropical*. 2003;51(2):399-407.
12. Gerasimov AO, Chugunova MV. Izuchenie vozdeystviya khloridnykh protivogolodnykh reagentov na vysshie rasteniya i pochvennye mikroorganizmy v laboratornom i polevom eksperimentakh [The study of anti-ice materials effect on the high plants and soil microorganisms in the laboratory and field experiments]. *Inzhenernaya geologiya*. 2016;6:48-53. In Russian
13. Shishova TK, Matveeva TB, Kazantsev IV. Vliyanie protivogolodnogo materiala «Bionord» na razvitie rasteniy [Influence of de-icing material “Bionord” on the development of plants]. *Samarskaya Luka: Problemy regional'noy i global'noy ekologii*. 2017;26(1):78-84. In Russian
14. Zotina TA, Trofimova EA, Alexandrova YuV, Anishchenko OV. Assessment of the quality of bottom sediments in the middle reaches of the Yenisei river by Allium test. *Contemporary Problems of Ecology*. 2019;12(3):265-274. doi: doi.org/10.1134/S1995425519030120.
15. Fiskesjö G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*. 1985;102:99-112. doi: [10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x](https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x)
16. Leme DM, Marin-Morales MA. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research*. 2009;682:71-81. doi: [10.1016/j.mrrev.2009.06.002](https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002)

17. Junior HM, Silva Jd, Arenson A, Portela CS, Ferreira ICFdS, Henriques JAP. Evaluation of genotoxicity and toxicity of water and sediment samples from a Brazilian stream influenced by tannery industries. *Chemosphere*. 2007;67:1211-1217. doi: [10.1016/j.chemosphere.2006.10.048](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.048)
18. Oskina N, Lopatina T, Anishchenko O, Zadereev E. High resistance of resting eggs of cladoceran *Moina macrocopa* to the effect of heavy metals. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2019;102(3):335-340. doi: [10.1007/s00128-018-2473-7](https://doi.org/10.1007/s00128-018-2473-7)
19. Lopatina TS, Bobrovskaya NP, Oskina NA, Zadereev ES. Comparative study of the toxic effect of cadmium and nickel on the active and resting stages of Cladoceran *Moina macrocopa*. *Zhurnal Sibirskogo Federal'nogo Universiteta. Biologiya = J Siberian Federal University. Biology* 2017;10(3):358-372. doi: [10.17516/1997-1389-0031](https://doi.org/10.17516/1997-1389-0031) In Russian, English Summary
20. *Standart organizatsii STO 001-80119761-2010*. Protivogololednye materialy «Bionord». Tekhnicheskie usloviya. OOO «Ural'skiy zavod protivogololednykh materialov» [Organisation standard STO 001-80119761-2010. Deicing materials Bionord. Technical conditions. Ural Plant of Deicing Materials LLC]. Perm; 2010. 22 p. [Electronic resource]. Available at: <http://www.sakhsnabservice.ru/data/uploads/cert/7def7457b14db93343382fe698d12e99.pdf> (accessed 06.04.2020). In Russian
21. *Instruktsiya po ispol'zovaniyu protivogololednogo materiala «BIONORD» (TU 2149-009-93988694-2007) na dorogakh s tverdyim pokrytiem, peshekhodnykh trotuarakh, v tom chisle plitochnykh, passazhirskikh platformakh, gruzovykh ploshchadkakh, privokzal'nykh territoriyakh, peshekhodnykh i avtomobil'nykh mostakh* [Instructions for using deicing material Bionord (TU 2149-009-93988694-2007) on paved roads, sidewalks including tile ones, passenger platforms, cargo platforms, station areas, as well as pedestrian and road bridges]. 5 p. [Electronic resource]. Available at: http://vdkn.ru/file/0007/7072/%D0%9F%D0%91_bionord.pdf (accessed 06.04.2020). In Russian
22. Sarma SSS, Nandini S, Morales-Ventura J, Delgado-Martínez I, Gonza'lez-Valverde L. Effects of NaCl salinity on the population dynamics of freshwater zooplankton (rotifers and cladocerans). *Aquatic Ecology*. 2006;40:349-360. doi: [10.1007/s10452-006-9039-1](https://doi.org/10.1007/s10452-006-9039-1)
23. Schuytema GS, Nebeker AV, Stutzman TW. Salinity tolerance of *Daphnia magna* and potential use for estuarine sediment toxicity test. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 1997;33(2):194-198. doi: [10.1007/s002449900242](https://doi.org/10.1007/s002449900242)
24. Ritz Ch, Streibig JC. Bioassay analysis using R. *J Statistical Software*. 2005;12(5). doi: [10.18637/jss.v012.i05](https://doi.org/10.18637/jss.v012.i05)
25. Khlebovich VV. Kriticheskaya solenost' biologicheskikh protsessov [Critical salinity of biological processes]. Leningrad: Nauka Publ.; 1974. 235 p. In Russian
26. Rasdi NW, Suhaimi H, Hagiwara A, Ikhwanuddin M, Ghaffar MA, Yuslan A, Najuwat S. Effect of different salinities gradient on fatty acid composition, growth, survival and reproductive performance of *Moina macrocopa* (Straus 1820) (Crustacea, Cladocera). *Preprints*. 2019;2019060205. doi: [10.20944/preprints201906.0205.v1](https://doi.org/10.20944/preprints201906.0205.v1)
27. Martínez-Jerónimo F, Martínez-Jerónimo L. Chronic effect of NaCl salinity on a freshwater strain of *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera): A demographic study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2007;67(3):411-416. doi: [10.1016/j.ecoenv.2006.08.009](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.08.009)
28. Howard KWF, Maier H. Road de-icing salt as a potential constraint on urban growth in the Greater Toronto Area, Canada. *J Contaminant Hydrology*. 2007;91(1-2):146-170. doi: [10.1016/j.jconhyd.2006.10.005](https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2006.10.005)
29. Thunqvist EL. Regional increase of mean chloride concentration in water due to the application of deicing salt. *Science of the Total Environment*. 2004;325(1-3):29-37. doi: [10.1016/j.scitotenv.2003.11.020](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.11.020)

30. Corsi SR, Graczyk DJ, Geis SW, Booth NL, Richards KD. Fresh look at road salt: Aquatic toxicity and water-quality impacts on local, regional, and national scale. *Environmental Science and Technology*. 2010;44(19):7376-7382. doi: [10.1021/es101333u](https://doi.org/10.1021/es101333u)

Received 12 May 2020; Revised 17 July 2020;
Accepted 19 August 2020; Published 25 September 2020

Author info:

Lopatina Tatiana S, Cand. Sci. (Biol.) Researcher, Laboratory of Ecosystem Biophysics, Institute of Biophysics, Federal Research Centre Krasnoyarsk Scientific Centre, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, 50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

E-mail: lopatinats@mail.ru

Aleksandrova Yuliyana V, Junior Researcher, Laboratory of Bioluminescent and Environmental Technologies, Institute of Biophysics, Federal Research Centre Krasnoyarsk Scientific Centre, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, 50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

E-mail: Yuliyana_aleksandrova@mail.ru

Anishchenko Olesya V, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory, Analytical Laboratory, Institute of Biophysics, Federal Research Centre Krasnoyarsk Scientific Centre, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, 50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

E-mail: hydrakr@rambler.ru

Gribovskaya Iliada V, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Analytical Laboratory, Institute of Biophysics, Federal Research Centre Krasnoyarsk Scientific Centre, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, 50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

E-mail: gribov@ibp.ru

Oskina Nataliya A, Junior Researcher, Laboratory of Bioluminescent and Environmental Technologies, Institute of Biophysics, Federal Research Centre Krasnoyarsk Scientific Centre, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, 50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

E-mail: oskina_nata@mail.ru

Zotina Tatiana A, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Senior Researcher, Analytical Laboratory, Institute of Biophysics, Federal Research Centre Krasnoyarsk Scientific Centre, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, 50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation; Assoc. Prof., Department of Biophysics, School of Fundamental Biology and Biotechnology, Siberian Federal University, 79 Svobodny Ave, Krasnoyarsk 660041, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-4792-1582>

E-mail: t_zotina@ibp.ru

Zadereev Egor S, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Leading Researcher, Laboratory of Ecosystem Biophysics, Institute of Biophysics, Federal Research Centre Krasnoyarsk Scientific Centre, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, 50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation; Assoc. Prof., Department of Biophysics, School of Fundamental Biology and Biotechnology, Siberian Federal University, 79 Svobodny Ave, Krasnoyarsk 660041, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2366-8604>

E-mail: egzadereev@gmail.com