

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В АЛЛИУМ-ТЕСТЕ

М. Н. КУРБАНОВА, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,
Н. М. СУРАЕВА, доктор биологических наук, главный научный сотрудник,
В. П. РАЧКОВА, научный сотрудник,
А. В. САМОЙЛОВ, кандидат биологических наук, заместитель директора по инновациям,
Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования –
филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН
(142703, Московская обл., г. Видное, ул. Школьная, д. 78)

Ключевые слова: Аллиум-тест, токсичность, динамика роста корней, мутаген.

Аллиум-тест является одним из наиболее популярных методов для оценки токсического, мутагенного и митозмодифицирующего эффектов различных химических, физических и биологических факторов и рекомендован экспертами ВОЗ в качестве стандарта при цитогенетическом мониторинге окружающей среды. В этом тесте корни репчатого лука используются как тест-объект. В соответствии с процедурой данного теста перед цитогенетическим анализом следует провести тест на токсичность, в котором исследуется такой параметр, как рост корней. При этом наиболее точным и в то же время наиболее трудоемким до сих пор оставался способ, основанный на измерении среднего значения длины корней для всей выборки луковиц. Работа посвящена оценке эффективности использования такого макроскопического показателя для выявления токсичности митогенов, как масса корней лука, при использовании Аллиум-теста. При постановке эксперимента со стандартным для этого теста положительным контролем (раствор медного купороса) было показано одинаковое достоверное уменьшение как средней длины, так и средней массы корней, при этом чувствительность показателя массы корней была даже на 3,2 % выше. Аналогичные данные были получены с модельным токсическим агентом – этиловым спиртом, независимо от сорта лука, продолжительности и температура инкубации или вида воды, из которой приготовлен раствор (дистиллированная и бутилированная). В результате исследований показано, что способ измерения средней массы корней луковиц при постановке Аллиум-теста может быть использован в качестве стандартного параметра корневого прироста как наиболее простой в применении и чувствительный.

COMPARATIVE STUDY OF INDICATORS OF TOXIC ACTIVITY IN THE ALLIUM-TEST

M. N. KURBANOVA, candidate of biological sciences, senior research fellow,
N. M. SURAEVA, doctor of biological sciences, chief researcher,
V. P. RACHKOVA, research fellow,
A. V. SAMOYLOV, candidate of biological sciences, deputy director,
Russian Research Institute of Canning Technology – Branch of V. M. Gorbатов Federal Research Center
for Food Systems for RAS
(78 Shkolnaya str., 142703, Vidnoe, Moscow district)

Keywords: allium test, toxicity, root growth dynamics, mutagen.

The allium test is one of the most popular methods for assessing the toxic, mutagenic and mitosis-modifying effects of various chemical, physical and biological factors and is recommended by WHO experts as a standard for cytogenetic monitoring of the environment. In this test, the roots of onions are used as a test object. In accordance with the procedure of this test, a toxicity test should be performed before the cytogenetic analysis, in which a parameter such as root growth is examined. At the same time, the most accurate and at the same time the most time-consuming method remained, based on measuring the average length of roots for the entire sample of bulbs. The work is devoted to the evaluation of the effectiveness of using such a macroscopic index for detecting the toxicity of mitogens, as the mass of the roots of onions, using the Allium test. When setting up experiments with the standard positive control (copper sulphate solution) for this test, the same significant decrease in both the mean length and the average root mass was shown, while the sensitivity of the root weight was even 3.2 % higher. Similar data were obtained with a model toxic agent – ethyl alcohol, regardless of the onion variety, duration and temperature of the incubation or type of water from which the solution was prepared (distilled and bottled). As a result of the research it was shown that the method of measuring the average mass of bulb roots in the Allium test can be used as the standard parameter of root growth, which is the most simple in application and sensitive.

Положительная рецензия представлена А. Г. Галстян, заведующим межотраслевым центром мониторинга качества пищевых продуктов ВНИИ пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности – филиала ФГБНУ «ФНЦ пищевые системы» РАН, доктором технических наук, членом-корреспондентом РАН.

В научной литературе широко обсуждается проблема влияния токсических и генотоксических факторов окружающей среды на качество жизни и здоровье населения. Для изучения этих воздействий проводятся мониторинговые исследования с целью выявления мутагенов, в том числе в составе продуктов питания, так как в последнее время допущено к использованию огромное число пищевых химических и иных добавок как в самом продукте, так и в сырье. В связи с этим были разработаны и рекомендованы различные тест-системы на биологических моделях в условиях *in vivo* и *in vitro* с целью изучения механизмов воздействия этих мутагенов.

Аллиум-тест известен с 40-х гг. прошлого столетия и зарекомендовал себя как простой, экономически выгодный, довольно чувствительный и хорошо коррелирующий с другими тестами, в том числе на животных [1, 2]. Принцип его действия основан на сравнительном изучении параметров роста и развития меристематических тканей корешков растения *Allium cepa* – лук репчатый – при добавлении в ростовую среду тестируемого агента. Аллиум-тест позволяет проводить оценку токсических (задержка в приросте корешков), митозмодифицирующих и мутагенных эффектов различных митогенов (цитогенетический анализ). С помощью этого биотеста возможно быстрое проведение скрининга на безопасность в отношении химических соединений, тяжелых металлов, радиации, различных электромагнитных излучений и других техногенных загрязнителей [1]. А при тестировании на токсичность и генотоксичность таких потенциально опасных соединений, как пестициды, пищевые добавки, красители, углеводороды, он оказался даже более чувствительным по сравнению с другими биологическими тестами, такими как клеточные линии, микроорганизмы и животные [2–7]. Полагаем, что было бы интересно оценить эффективность Аллиум-теста, например, при сравнении с моделями ствольных клеточных линий [8, 9], так как меристематическая ткань корней состоит из интенсивно делящихся клеток. Оказалось также, что растительные клетки содержат специфические ферменты, которые способны активировать определенные промутагены, поэтому данный тест может быть использован для изучения как канцерогенных, так и антиканцерогенных свойств химических соединений [10]. Таким образом, Аллиум-тест до настоящего времени представляет собой уникальный инструмент быстрого скрининга различных агентов и воздействий.

Считается, что стандартным цитотоксическим параметром Аллиум-теста, определяющим динамику роста корней лука, является их длина [2]. В случае задержки прироста корней по сравнению с контролем фиксируют токсический эффект тестируемого

агента, и наоборот, при увеличении скорости роста – стимулирующий. В связи с тем обстоятельством, что число корней от одной луковицы может измеряться десятками единиц (в зависимости от периода инкубации), процедура их измерения представляется довольно трудоемкой. Было предложено несколько модификаций этого метода для того, чтобы облегчить эту процедуру. Так, предлагалось проводить только одно измерение средней длины «пакета» корней, или длины нескольких (5 и более) наиболее развитых корней, а также использовать фотографический метод [11]. Следует отметить, что указанные модификации имели определенные недостатки, так как они или повышали ошибку измерений длины корней, или предполагали наличие специального оборудования, поэтому потребность в разработке простого и эффективного метода выявления цитотоксичности для данного теста до сих пор не была снята.

На наш взгляд, динамика массы корней, возможно, является не менее точным показателем, чем их длина. Интересно, что нам удалось найти только одну экспериментальную работу, в которой при проведении Аллиум-теста в качестве совокупного макроскопического показателя наряду с длиной корней оценивалась их масса [12]. Действительно, тот факт, что длина корней непосредственно связана с массой корней, не требует обсуждения, однако известно, что при обработке токсичным фактором корни лука не только задерживаются в приросте, но и становятся тоньше и слабее [2], таким образом, их масса является более чувствительным показателем.

Цель и методика исследований. Цель исследования – сравнительное изучение двух методов выявления цитотоксичности при использовании Аллиум-теста. Было необходимо оценить эффективность использования таких макроскопических показателей, как длина и масса корней лука, при тестировании растворов медного купороса и этилового спирта.

В работе использовали примерно одинакового размера (1,5–2,0 и 2,5–3 см в диаметре) и массы (4–5 и 5–7 г) луковицы – севок (*Allium cepa* L.) сортов Штутгартен Ризен и Стурон соответственно. Луковицы были без зеленых листьев. Перед инкубацией удаляли сухую чешую с луковиц. Далее их помещали в случае контрольных групп в 10 мл пробирки с дистиллированной или бутилированной питьевой водой из торговой сети, в опытных группах – в растворы медного купороса (0,6 мг/л) и этанола (1 и 2 %) соответствующей контролю воды и инкубировали в темноте при комнатной температуре или в инкубаторе при 25 °С. Жидкость в пробирках менялась ежедневно. После завершения инкубации корни у каждой луковицы срезали, удаляли с них остатки жидкости фильтровальной бумагой, взвешивали и измеряли линейкой их длину.

Таблица 1
Динамика изменений длины и массы корней луковиц сорта Стурон после обработки раствором медного купороса в течение трех суток (n = 10)

Table 1
Dynamics of changes in length and weight of bulb roots of Sturon after treatment with a solution of copper sulfate within three days (n = 10)

Показатели <i>Indicators</i>	Длина корней, см <i>Root length, cm</i>		Масса корней, мг <i>Root weight, mg</i>	
	\bar{X}	% от контроля <i>% of control</i>	\bar{X}	% от контроля <i>% of control</i>
Контроль <i>Control</i>	47,15 ^a	100	134,5 ^c	100
Медный купорос <i>Copper sulfate</i>	25,85 ^b	54,8	69,4 ^d	51,6

Примечание: ^{a,b,c,d}P < 0,01.

Note: ^{a,b,c,d}P < 0.01.

Таблица 2
Динамика изменений длины и массы корней луковиц сорта Стурон после обработки растворами этанола в течение трех суток (n = 10)

Table 2
Dynamics of changes in length and weight of bulb roots of Sturon after treatment with a solution of ethanol sulfate within three days (n = 10)

Показатели <i>Indicators</i>	Длина корней, см <i>Root length, cm</i>		Масса корней, мг <i>Root weight, mg</i>	
	\bar{X}	% от контроля <i>% of control</i>	\bar{X}	% от контроля <i>% of control</i>
Контроль <i>Control</i>	13,78 ^a	100	31,2 ^c	100
Этанол (1 %) <i>Ethanol (1 %)</i>	7,47 ^b	54,2	14,9 ^d	47,8
Этанол (2 %) <i>Ethanol (2 %)</i>	5,60	40,6	11,8	37,8

Примечание: ^{a,b,c,d}P < 0,05.

Note: ^{a,b,c,d}P < 0.05.

Результаты исследования. Ионы меди являются незаменимым микроэлементом в различных ферментативных процессах растительной клетки, также как и другие ионы тяжелых металлов. Однако из-за высокой активности превышение допустимых норм содержания ионов меди в воде или почве может оказывать отрицательное воздействие на рост корней растений. Было показано, что ионы меди обладают высоким токсичным эффектом по сравнению с другими и могут быть использованы в качестве положительного контроля в Аллиум-тесте, при этом концентрация медного купороса 0,6 мг/л вызывала 50 %-ю задержку роста длины корней [2, 13]. Поэтому в первом эксперименте по сравнительной оценке динамики длины и массы корней после токсического воздействия нами была использована эта стандартная модель для Аллиум-теста. Контрольные луковицы помещали в пробирки с бутилированной водой, опытные – в раствор медного купороса на этой же воде и инкубировали их в термостате при 25 °С. Как видно из табл. 1, полученные результаты с высокой достоверностью (P < 0,01) подтверждали литературные данные [2, 13] об уменьшении примерно на 50 % средней длины корней в опытной группе. При этом

с такой же достоверностью и в той же пропорции в опытной группе снизилась средняя масса корней. Значит, такой показатель токсичности в Аллиум-тесте, как масса корней, показал себя не менее эффективным, чем их длина.

В качестве следующего модельного агента был выбран этиловый спирт, который используется не только в спиртосодержащей пищевой продукции, но и как растворитель для пищевых ароматизаторов и в качестве консерванта в хлебобулочной промышленности. Известно, что 1 и 2 %-е растворы этилового спирта оказывают существенное токсическое действие на длину корней [2]. Необходимо также отметить, что при постановке Аллиум-теста в первоначальном варианте исследователи использовали луковицы, корни которых проращивались до 1–2 см, обработка изучаемым веществом продолжалась 4 или 24 ч при температуре инкубации 20 °С. Затем в литературе появились различные модифицированные способы постановки этого теста, например без предварительного проращивания, с более длительной инкубацией (3–5 дней), более высокой температурой инкубации (до 25 °С) и другие варианты [2, 14]. Поэтому нами были протестированы несколько вариан-

Таблица 3
Динамика изменений длины и массы корней луковиц сорта Штутгартен Ризен после обработки растворами этанола в течение шести суток (n = 7)

Table 3
Dynamics of changes in length and weight of bulb roots of Stuttgart Riesen after treatment with a solution of ethanol sulfate within six days (n = 7)

Показатели <i>Indicators</i>	Длина корней, см <i>Root length, cm</i>		Масса корней, мг <i>Root weight, mg</i>	
	\bar{X}	% от контроля <i>% of control</i>	\bar{X}	% от контроля <i>% of control</i>
Контроль <i>Control</i>	45,76	100	176,9	100
Этанол (1 %) <i>Ethanol (1 %)</i>	31,84	69,6	116,6	65,9
Этанол (2 %) <i>Ethanol (2 %)</i>	27,56	60,2	104,9	59,3

Таблица 4
Динамика изменений длины и массы корней луковиц сорта Штутгартен Ризен после обработки растворами этанола в течение трех суток (1-я партия, n = 8)

Table 4
Dynamics of changes in length and weight of bulb roots of Stuttgart Riesen after treatment with a solution of ethanol sulfate within three days (1st batch, n = 8)

Показатели <i>Indicators</i>	Длина корней, см <i>Root length, cm</i>		Масса корней, мг <i>Root weight, mg</i>	
	\bar{X}	% от контроля <i>% of control</i>	\bar{X}	% от контроля <i>% of control</i>
Контроль <i>Control</i>	20,14 ^a	100	73,9 ^c	100
Этанол (1 %) <i>Ethanol (1 %)</i>	14,46 ^b	71,8	47,4 ^d	64,1
Этанол (2 %) <i>Ethanol (2 %)</i>	13,20	65,5	39,9	54,0

Примечание: ^{a,b}P < 0,1; ^{c,d}P < 0,15.

Note: ^{a,b}P < 0,1; ^{c,d}P < 0,15.

тов постановки Аллиум-теста с целью оценки точности метода измерения массы корней по сравнению с методом измерения длины корней. Были изучены такие параметры, как сорт лука, продолжительность и температура инкубации, виды воды (дистиллированная и бутилированная) после проращивания луковиц в 1 и 2 %-х растворах этилового спирта.

Результаты эксперимента, в котором опытные группы луковиц инкубировались в 1 и 2 %-х растворах этилового спирта в бутилированной воде, в контрольной группе – в бутилированной воде при комнатной температуре 20–21 °С в течение трех суток, представлены в табл. 2. Было показано достоверное токсическое влияние данных растворов как на длину корней, так и на их массу, при этом в последнем варианте чувствительность была даже несколько выше.

В следующем исследовании использовали лук сорта Штутгартен Ризен, инкубацию проводили в течение шести суток в дистиллированной воде при комнатной температуре в летний период (24–26 °С). Согласно табл. 3 были отмечены те же закономерности, что и в вышеописанных экспериментах. Как известно, в дистиллированной воде рост корней замед-

ляется по сравнению с бутилированной [2], поэтому, возможно, разница между контрольными и опытными группами сократилась.

Далее был поставлен эксперимент с этим же сортом лука с предварительным проращиванием луковиц и дальнейшей инкубацией с растворами этилового спирта в дистиллированной воде в течение трех и четырех суток в осенний период (20–22 °С). После предварительного проращивания в течение трех суток в дистиллированной воде луковицы были поделены на две партии. В первой партии часть корней достигала длины более 1 см, во второй все корни были менее 1 см. Затем луковицы были помещены в растворы этилового спирта в дистиллированной воде. Оказалось, что при данной постановке опыта подтвердились прежние результаты, так как процентное соотношение длины и массы корней было очень похожим, более того, вновь показатель массы корней был более чувствительным (табл. 4, 5) и даже наблюдался доза зависимый эффект (табл. 5). Интересно отметить, что чувствительность теста на токсичность увеличивалась (до 20 %), если использовались луковицы с низким потенциалом проращивания корней

Таблица 5

Динамика изменений длины и массы корней луковиц сорта Штутгартен Ризен после обработки растворами этанола в течение четырех суток (2-я партия, n = 8)

Table 5

Dynamics of changes in length and weight of bulb roots of Stuttgart Riesen after treatment with a solution of ethanol sulfate within four days (2 batch, n = 8)

Показатели <i>Indicators</i>	Длина корней, см <i>Root length, cm</i>		Масса корней, мг <i>Root weight, mg</i>	
	\bar{X}	% от контроля <i>% of control</i>	\bar{X}	% от контроля <i>% of control</i>
Контроль <i>Control</i>	13,83 ^a	100	45,8 ^d	100
Этанол (1 %) <i>Ethanol (1 %)</i>	6,95 ^b	50,3	22,1 ^e	48,3
Этанол (2 %) <i>Ethanol (2 %)</i>	5,23 ^c	37,8	15,4 ^f	33,6

Примечание. ^{a,b,c,d,e,f} P < 0,05; ^{b,c} P < 0,25; ^{e,f} P < 0,3.

Note: ^{a,b,c,d,e,f} P < 0,05; ^{b,c} P < 0,25; ^{e,f} P < 0,3.

(табл. 5). Согласно литературным данным величина длины корней зависела от условий проведения эксперимента и сорта лука [2, 14], наши исследования показали, что продолжительность и температура инкубации, параметры воды и сорт лука также оказывали влияние на длину и массу корней. На основании проведенных исследований можно сделать заключение, что метод взвешивания корней при постановке Аллиум-теста будет более эффективным и чувствительным при использовании бутилированной воды с инкубацией тестируемого агента не более трех суток в термостате при 25 °С.

Выводы и рекомендации. Сравнительный анализ задержки прироста корней лука по их длине по

сравнению с их массой при тестировании с положительным контролем (ионы меди) и с опытными образцами (1 и 2 %-е растворы этилового спирта) показал, что параметр массы может быть использован в качестве самостоятельного эффективного показателя токсичности в Аллиум-тесте. При этом метод взвешивания корней имел ряд неоспоримых преимуществ, а именно был намного менее трудоемким, так как необходимо выполнить только одно измерение на вариант, и более чувствительным. Полагаем, что метод взвешивания корней может не только дополнять традиционный метод измерения их длины, но и с успехом заменить последний.

Литература

1. Khanna N., Sharma S. Allium cepa root chromosomal aberration assay: a review // Indian J. Pharm. Biol. Res. 2013. Vol. 1. № 3. P. 105–119.
2. Fiskesjo G. The Allium test as a standard in environmental monitoring // Hereditas. 1985. Vol. 102. P. 99–112.
3. Roa O., Yeber M. C., Venegas W. Genotoxicity and toxicity evaluations of ECF cellulose bleaching effluents using the Allium cepa L. Test // Braz. J. Biol. 2012. Vol. 72. № 3. P. 471–477.
4. Olusegun E. Th., Olajire A. A. Toxicity of food colours and additives: A review // African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2015. Vol. 9. № 36. P. 900–914.
5. Türkoğlu Ş. Evaluation of genotoxic effects of five flavour enhancers (glutamates) on the root meristem cells of Allium cepa // Toxicol Ind. Health. 2015. Vol. 31. № 9. P. 792–801.
6. Nunes R. D. M., Sales I. M. S., Silva S. I. O., Sousa J. M. C., Peron A. P. Antiproliferative and genotoxic effects of nature identical and artificial synthetic food additives of aroma and flavor // Braz J Biol. 2017. Vol. 77. № 1. P. 150–154.
7. Moura A. G., Santana G. M., Ferreira P. M., Sousa J. M., Peron A. P. Cytotoxicity of Cheese and Cheddar Cheese food flavorings on Allium cepa L root meristems // Braz J Biol. 2016. Vol. 76. № 2. P. 439–443.
8. Сураева Н. М., Воротеляк Е. А., Прокофьев М. И., Самойлов А. В., Васильев А. В., Терских В. В., Барышников А. Ю. Получение, характеристика и долгосрочное культивирование примордиальных половых и бластомеральных клеток кур // Доклады Академии наук. 2008. Т. 423. № 3. С. 408–410.
9. Сураева Н. М., Морозова Л. Ф., Самойлов А. В., Бурова О. С., Голубева В. А., Барышникова М. А., Барышников А. Ю. Изменение морфологических и иммунологических характеристик клеток меланомной линии (mel ibr) в результате воздействия куриного эмбрионального экстракта // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 159. № 4. С. 521–524.

10. Felicidade I., Lima J. D., Pesarini J. R., Monreal A. C., Mantovani M. S., Ribeiro L. R., Oliveira R. J. Mutagenic and antimutagenic effects of aqueous extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) on meristematic cells of *Allium cepa* // *Genet Mol Res.* 2014. Vol. 13. № 4. P. 9986–9996.

11. Буданцев А. Ю. Измерение динамики роста корней при использовании Аллиум-теста // *Фундаментальные исследования.* 2014. № 6. С. 1393–1396.

12. Çavuşoğlu K., Yalçın E., Türkmen Z., Yapar K., Sağır S. Physiological, anatomical, biochemical, and cytogenetic effects of thiamethoxam treatment on *Allium cepa* (amaryllidaceae) L // *Environ Toxicol.* 2012. Vol. 27. № 11. P. 635–643.

13. Athanásio C. G., Prá D., Rieger A. Water quality of urban streams: The *Allium cepa* seeds/seedlings test as a tool for surface water monitoring // *Scientific World Journal.* 2014. P. 1–7.

14. Песня Д. С., Романовский А. В., Прохорова И. М. Исследование токсического и генотоксических эффектов синтетических пищевых красителей методом *Allium test* // *Ярославский педагогический вестник.* 2012. № 3. С. 86–93.

References

1. Khanna N., Sharma S. *Allium cepa* root chromosomal aberration assay: a review // *Indian J. Pharm. Biol. Res.* 2013. Vol. 1. No. 3. P. 105–119.

2. Fiskesjö G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring // *Hereditas.* 1985. Vol. 102. P. 99–112.

3. Roa O., Yeber M. C., Venegas W. Genotoxicity and toxicity evaluations of ECF cellulose bleaching effluents using the *Allium cepa* L. Test // *Braz. J. Biol.* 2012. Vol. 72. No. 3. P. 471–477.

4. Olusegun E. Th., Olajire A. A. Toxicity of food colours and additives: A review // *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2015. Vol. 9. No. 36. P. 900–914.

5. Türkoğlu Ş. Evaluation of genotoxic effects of five flavour enhancers (glutamates) on the root meristem cells of *Allium cepa* // *Toxicol Ind. Health.* 2015. Vol. 31. No. 9. P. 792–801.

6. Nunes R. D. M., Sales I. M. S., Silva S. I. O., Sousa J. M. C., Peron A. P. Antiproliferative and genotoxic effects of nature identical and artificial synthetic food additives of aroma and flavor // *Braz J Biol.* 2017. Vol. 77. No. 1. P. 150–154.

7. Moura A. G., Santana G. M., Ferreira P. M., Sousa J. M., Peron A. P. Cytotoxicity of Cheese and Cheddar Cheese food flavorings on *Allium cepa* L root meristems // *Braz J Biol.* 2016. Vol. 76. No. 2. P. 439–443.

8. Suraeva N. M., Vorotelyak E. A., Prokofiev M. I., Samoilov A. V., Vasiliev A. V., Terskikh V. V., Baryshnikov A. Y. Isolation, characteristics, and long-term culturing of chicken gonadal primordial germ cells and blastodermal cells // *Doklady Biological Sciences.* 2008. Vol. 423. No. 1. P. 461–463.

9. Suraeva N. M., Morozova L. F., Burova O. S., Golubeva V. A., Baryshnikova M. A., Baryshnikov A. Y., Samoilov A. V. Changes in the morphological and immunological characteristics of mel ibr melanoma cells in response to chicken embryo extract // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2015. Vol. 159. No. 4. P. 520–523.

10. Felicidade I., Lima J. D., Pesarini J. R., Monreal A. C., Mantovani M. S., Ribeiro L. R., Oliveira R. J. Mutagenic and antimutagenic effects of aqueous extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) on meristematic cells of *Allium cepa* // *Genet Mol Res.* 2014. Vol. 13. No. 4. P. 9986–9996.

11. Budantsev A. Y. Measurement of the dynamic of root growth by the *Allium* test // *Fundamental research.* 2014. No. 6. P. 1393–1396.

12. Çavuşoğlu K., Yalçın E., Türkmen Z., Yapar K., Sağır S. Physiological, anatomical, biochemical, and cytogenetic effects of thiamethoxam treatment on *Allium cepa* (amaryllidaceae) L // *Environ Toxicol.* 2012. Vol. 27. No. 11. P. 635–643.

13. Athanásio C. G., Prá D., Rieger A. Water quality of urban streams: The *Allium cepa* seeds/seedlings test as a tool for surface water monitoring // *Scientific World Journal.* 2014. P. 1–7.

14. Pesnya D. S., Romanovsky A. V., Prokhorova I. M. Investigation of Toxic, Mitotoxic and Mutagenic Effects of Synthesized Food Dyes by the *Allium* Test // *Yaroslavl Pedagogical Bulletin.* 2012. No. 3. С. 86–93.