

Совершенствование методики биотестирования на основе *Allium*-теста

И.И. Концевая*, Т.А. Толкачева**

*Учреждение образования «Гомельский государственный университет имени Ф. Скорины»

**Учреждение образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»

Целью работы явилось совершенствование методики *Allium*-теста для получения более достоверных результатов биотестирования. Установлено, что при культивировании лука весной сильнее развивается корневая система и перья по сравнению с осенью. Наличие у луковиц наружных покровных чешуй в весенний период способствует более интенсивному развитию корневой системы по сравнению с луком без покровных чешуй. Выдерживание луковиц при низкой температуре усиливает величину митотического индекса у лука, проращиваемого весной. При отсутствии покровных чешуй и холодной обработки отмечены более низкие величины митотического индекса и выявлен более узкий спектр патологий митоза. Значение митотического индекса выше в вариантах лука, культивируемого весной, за исключением группы, у которой отсутствовали холодная предпосадочная обработка и наружные покровные чешуи.

Ключевые слова: биотестирование, *Allium*-тест, митоз, митотический индекс, патология митоза.

Improving of the method of biotesting on *Allium*-based test

I.I. Kontsevaya*, T.A. Tolkacheva**

*Educational establishment «Gomel State Francisk Skorina University»

**Educational establishment «Vitebsk State University named after P.M. Masherov»

The aim of the work was to improve the method of *Allium*-test to obtain more reliable results of bioassays. It is established that while cultivating onions in the spring stronger root system and leaves develop compared to the fall. The presence of outer covering scales of bulbs in spring promotes more intensive development of the root system in comparison with onions without covering scales. Keeping bulbs at a low temperature increases the value of the mitotic index for onions germinating in the spring. In the absence of cover scales and cold processing we observed lower values of the mitotic index and found out a narrow range of pathologies mitosis. The value of the mitotic index is higher in the onion variants cultivated in the spring, with the exception of the group in which there was no cold pre-plant treatment and no external coating scales.

Key words: bioassay, *Allium*-test, mitosis, mitotic index, pathology of mitosis.

В настоящее время существует ряд сложных современных молекулярно-биологических тестов оценки качества среды. Методики биотестирования и, соответственно, тест-объекты, используемые для оценки среды, должны соответствовать следующим требованиям: быть применимыми для оценки любых экологических изменений среды обитания живых организмов; характеризовать наиболее общие и важные параметры жизнедеятельности биоты; быть достаточно чувствительными для выявления даже начальных обратимых экологических изменений; быть адекватными для любого вида живых существ и любого типа воздействия; быть удобными не только для лабораторного моделирования, но также и для исследований в природе; быть достаточно простыми и доступными по стоимости для широкого применения [1].

При решении общих задач мониторинга состояния среды можно получить сходную информацию, используя простые и доступные тест-системы. Так, наблюдения за особенностями корневой системы лука репчатого (*Allium cepa* L.) показали, что это растение может быть использовано как инструмент для обнаружения потенциально генотоксичных веществ в воздухе, почве и воде. Корневые клетки содержат определенные ферменты, которые способствуют превращению многих немутагенных веществ в мутагенные. Подобная система активации позволяет обнаружить те химические вещества, которые усиливают свой токсический эффект в процессе метаболизма [2–5].

Растения *A. cepa* L. широко распространены, недорогие, не требуют сложного хранения и ухода. После сбора урожая луковицы *A. cepa*

при влажности воздуха 50–60% в прохладных условиях (10–15°C) могут сохранять высокую жизнеспособность до 1 года. Лук репчатый имеет хорошо изученный геном, и структура хромосом подходит для метафазного и ана-телофазного анализа. Клеточный цикл в мери-стематических клетках корешков лука около 20 часов. Лук принадлежит к растениям с ко-ротким периодом покоя [6].

В качестве показателей cito- и генотоксич-ности корневой меристемы лука используются: длина и количество корешков, величина мито-тической активности, доля аберрантных клеток [7]. Макроскопический эффект (сдерживание корневого прироста) является самым чувстви-тельным параметром и следствием прямых или косвенных вредных воздействий. Микроскопи-ческое исследование позволяет оценить повре-ждения хромосом и нарушения деления клеток, и поэтому обеспечивает дополнительную ин-формацию относительно реальной или потен-циальной мутагенности.

Биотест действует в широком диапазоне рН (3,5–11,0), поэтому умеренно кис-лые/щелочные образцы воды или почвы могут быть исследованы без необходимой корректиров-ки рН. Величина рН непосредственно не влияет на прирост корней, но может значительно изме-нять физико-химическое состояние их клеток, например, состояние поляризации мембран.

Результаты тестов с *A. сера* в той или иной степени совпадают с другими тестами на жи-вотных, растительных объектах и микроорга-низмах, в результате чего они могут быть экст-раполированы на человека [7].

Этапы проведения биотеста с использовани-ем *A. сера* в качестве модельного объекта дос-таточно подробно описаны [2–5]. Однако тре-буются дополнительные исследования для соз-дания унифицированной методики *Allium*-теста и адекватного мониторинга среды. Поэтому це-лью исследования явилось совершенствование методики *Allium*-теста для получения более достоверных результатов биотестирования.

Материал и методы. Объектом исследова-ния явились луковицы *A. сера* сорта Штуттгар-тен Ризен, приобретенные в специализирован-

ном магазине. Проведение *Allium*-теста выпол-няли на основе методики G. Fiskesjö [2]. Изуча-ли влияние на результаты тестирования сле-дующих факторов: периода покоя, эффекта ин-гибирования наружных покровных чешуй, эф-фективности холодового воздействия при тем-пературе +4°C для синхронизации и активиза-ции деления клеток [8–10].

Для выявления влияния периода покоя на морфологические и цитогенетические парамет-ры у лука репчатого опыт проводили весной (март) и осенью (октябрь–ноябрь). Соответст-венно, группы вариантов обозначили как I и II.

Перед началом эксперимента половину лу-ковиц *A. сера* из каждой партии выдерживали в течение 14 суток при 4°C для активизации и синхронизации процесса прорастания. Вторую часть луковиц в этот период содержали при комнатной температуре. Перед проращиванием каждую группу делили еще на две части. Пред-варительно у одной части луковиц удаляли все внешние чешуи и коричневую нижнюю пла-стинку [2], а у второй части только подрезали нижнюю пластинку. Затем луковицы помещали в пробирки объемом 20 мл (высота пробирок – 150 мм, диаметр – 13–15 мм), наполненные дис-тиллированной водой. Выбор в качестве кон-троля дистиллированной воды обоснован в ра-боте [11]. В эксперименте на каждый вариант использовали по 12 репчатых луковиц диаме-тром 1,5–2,0 см. Схема эксперимента представ-лена в табл. 1. Поскольку вариант I–1 наиболее соответствует методике [2], он был выбран в качестве основного контроля.

Проращивание луковиц проводили при ком-натной температуре и естественном освещении. Через 48 часов просматривали луковицы и из каждого варианта выбраковывали по 2 лукови-цы со слабо развитыми корнями. Оставшиеся 10 наиболее развитых луковиц продолжали культивировать при прежних условиях. В каче-стве тестового раствора в последующие 24 часа использовали дистиллированную воду. Для обеспечения аэрации воду меняли каждые 24 часа в течение пяти первых суток, в после-дующие дни ежедневно доливали в пробирки дистиллированную воду.

Таблица 1

Схема эксперимента, варианты опыта

Исследуемые факторы	Луковицы проращивали весной				Луковицы проращивали осенью			
	+	+	–	–	+	+	–	–
Холодовая обработка	+	+	–	–	+	+	–	–
Наличие (+)/отсутствие (–) наружных покровных чешуй	–	+	+	–	–	+	+	–
Варианты опыта	I–1	I–2	I–3	I–4	II–1	II–2	II–3	II–4

Через 72 часа культивирования (от начала проращивания) измеряли среднюю длину корешков пучка каждой луковицы. При замерах игнорировали самые длинные и самые короткие корни. Замеры проводили с помощью линейки, не вынимая луковицы из пробирок. Начало измерения – от донца луковицы, а конец – там, где заканчивается большинство корешков пучка [2].

По окончании замеров выполняли фиксацию корешков в растворе Карнуа, в течение 24 часов, в холодильнике. Фиксацию корешков проводили с 8 до 9 часов. Для фиксации отрезали от каждой из 10 луковиц по 1–2 кончику корешков длиной не более 1,0 см. Корешки промокали на фильтровальной бумаге и помещали в фиксатор. Затем проводили промывку корешков абсолютным спиртом и переносили корешки в 70% спирт. Хранили в холодильнике до приготовления препаратов и их оценки.

Окончательную оценку проращиваемого материала проводили через 12 дней культивирования по морфометрическим параметрам. Для этого измеряли длину срезанных корней, подсчитывали число корней на луковице, определяли морфологические изменения корней (цвет, их внешний вид, наличие утолщений, ветвления и т.д.), подсчитывали число перьев на луковице и измеряли длину перьев.

При приготовлении давленных препаратов корешки 2 раза промывали дистиллированной водой, потом подсушивали на фильтровальной бумаге. Мацерацию материала проводили при 55–60°C в 1н соляной кислоте в течение 3–7 мин. После мацерации корешки быстро промывали дистиллированной водой, затем промокали на фильтровальной бумаге и переносили в ацетогематоксилин на 25 мин. После красителя корешки отмывали несколько раз дистиллированной водой, в которой затем и хранили в холодильнике до использования.

Под микроскопом МБС от окрашенного корешка отрезали кончик длиной 1–2 мм, который переносили в 45% уксусную кислоту и давили. Анализировали по 10–20 проростков в варианте. В каждом препарате учитывали все клетки на стадии профазы, метафазы, анафазы и телофазы. Определяли митотический индекс, митотический индекс без учета профазных клеток, митотический индекс только по профазным, метафазным, анафазным, телофазным клеткам. Для определения возможной задержки митоза на стадии метафазы использовали метафазно-профазный индекс. Патологию митоза подсчитывали как отношение числа клеток с нарушениями митоза к общему числу делящихся кле-

ток и классифицировали отдельно для каждого корешка по методу И.А. Алова с незначительной модификацией [12–13]. Наряду с абберациями (мостами и фрагментами) учитывали прочие цитогенетические нарушения, не связанные с повреждениями хромосом: отставание хромосом в метафазе или при расхождении к полюсам делящихся клеток, их слипание, асимметричное расположение веретена деления и другие. Для получения более точной оценки по критерию «патология митоза» вычисляли его частоту без учета профаз.

Препараты анализировали на компьютеризированной кариологической станции, оснащенной микроскопом Leica DMR при увеличении 40×10×1,5.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием программы Statistika-6. Сравнение выборок по основным исследуемым показателям проводили по параметрическому t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. *Морфометрические показатели.* Ранее автором основной тестовой методики с использованием *A. сера* [2, с. 99–102] была показана положительная корреляция между макро- и микроскопическими параметрами данной модельной системы. Ростовые процессы луковиц *A. сера* включают в себя деление клеток, прежде всего корневой меристемы, затем – листовой меристемы, растяжение клеток, их дифференциацию в ткани и органы, рост и развитие органов.

Установлено, что изменчивость параметра «число корней на луковице» зависит от времени проращивания. При проращивании луковиц весной коэффициент вариации не превышал 20%, что соответствует средней изменчивости признака. При проращивании осенью значение коэффициента вариации колеблется от 21 до 25%, что определяется как значительный уровень изменчивости. Среднее число корней на луковице во всех вариантах опыта при проращивании их весной находилось на одном уровне и составляло 22,3–24,8 шт./луковица. При проращивании луковиц осенью отмечали изменение значений изучаемого признака от 14,3 до 21,5 шт./луковица, в зависимости от варианта опыта (рис. 1).

При оценке средней длины корней пучка не установлено статистически значимых различий между вариантами луковиц, проращиваемых весной. Большая часть корней развивалась с одинаковой интенсивностью и спустя 72 часа роста их длина составила 9,2–10,6 мм. Статистически значимое уменьшение данного показателя до 6,00–8,40 мм отмечали в вариантах

опыта II-2, II-3, II-4 при проращивании луковиц осенью (рис. 1). Коэффициент вариации изменялся в диапазоне от 20 до 47% в вариантах опыта, что свидетельствует о значительной изменчивости признака «длина корней пучка».

Спустя 12 суток культивирования измеряли длину всех корней на луковице. При анализе данного параметра дополнительно проводили ранжирование корней по длине, и в дальнейшем также работали с массивом, который включал результаты по 10 самым длинным корням. При вычислении корреляции между параметрами «длина всех корней на луковице» и «длина 10 самых длинных корней на луковице» была установлена сильная положительная корреляционная зависимость ($r = 0,94$; $p < 0,05$).

На 12-е сутки культивирования найден достоверный прирост корней в длину на 4–7 мм в вариантах I-2, I-3 ($p < 0,05$; $0,01$), когда лукови-

цы проращивали весной и во всех вариантах при проращивании луковиц осенью (рис. 1). Можно предположить, что луковицы после периода длительного хранения начинают испытывать недостаток в макро- и микроэлементах при проращивании в дистиллированной воде свыше 3–4 суток.

Любое воздействие на луковицы в предпосадочный весенний период может как стимулировать, так и ингибировать ростовые процессы. При наличии верхней чешуи у луковиц отмечали более интенсивный рост корней. Наибольшее число корней наблюдали у лука, культивированного в весенний период. По морфологии все корни были определены как нормальные. Независимо от варианта отмечали корешки белого, желтоватого и кремового цвета. Практически во всех вариантах наблюдали отдельные луковицы с корнями розоватого цвета. По-видимому, это индивидуальная реакция конкретного генотипа.

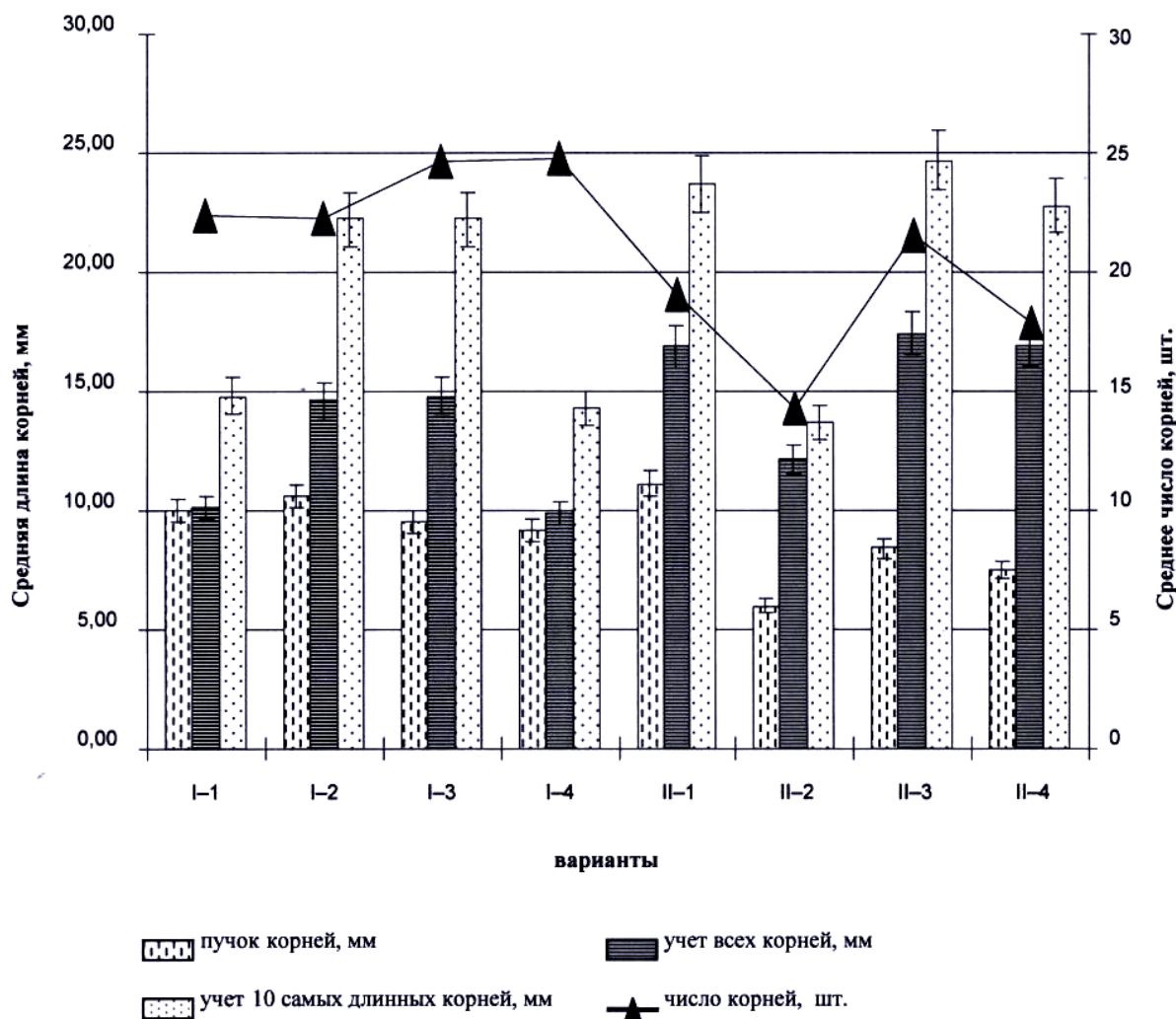
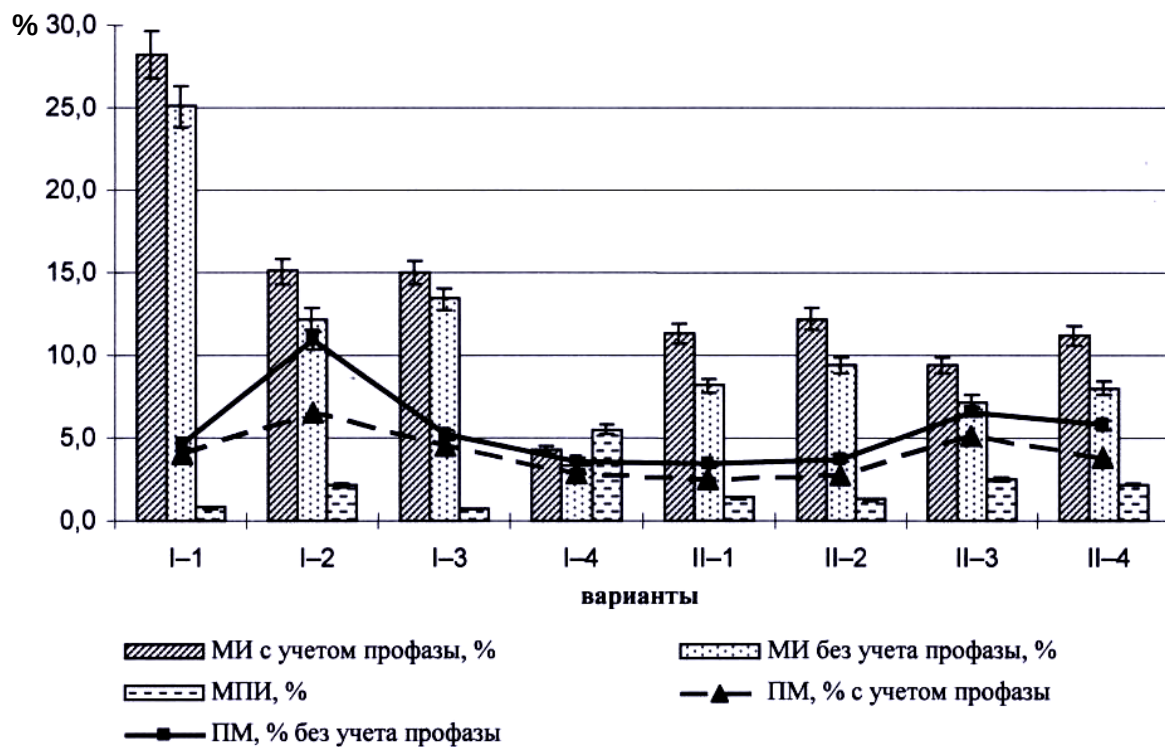


Рис. 1. Развитие корневой системы *A. cepa* L.

Рис. 2. Развитие перьев у *A. sera* L.Рис. 3. Изменение цитогенетических параметров в меристематических клетках *A. sera* L.

Удлинение периода проращивания для накопления зеленой биомассы позволило получить у луковиц перья. По признаку «среднее число перьев» не выявлено никаких различий между вариантами весеннего проращивания. Для каждого исследованного варианта характерно было наличие в среднем 2,4–3,0 пера (рис. 2). Существенное уменьшение числа перьев по сравнению с контролем отмечали при проращивании луковиц осенью, в среднем 1,3–1,8.

По длине перьев отмечали их достоверное уменьшение по сравнению с контролем в варианте опыта I–3 ($p < 0,05$) и вариантах II–2, II–3, II–4 ($p < 0,01$) (рис. 2). Коэффициент вариации во всех вариантах по признакам «среднее число перьев» и «средняя длина перьев» колебался от 25 до 96%, т.е. изменчивость была значительной.

Митотический индекс. Митозмодифицирующая активность (т.е. способность изменять частоту и прохождение митоза) включает как стимуляцию, так и угнетение пролиферации клеток, а также изменение времени прохождения клетками отдельных фаз митоза. Для многоклеточных организмов любое нарушение митотической активности клеток является потенциально опасным, поскольку может приводить к серьезным отклонениям от нормального роста и развития. Изучали способность состояния луковиц влиять на пролиферирующую активность клеток корневой меристемы лука с использова-

нием показателей «митотический индекс» (МИ) и «метафазно-профазный индекс» (МПИ). Результаты исследований приведены на рис. 3.

Из представленных данных видно, что максимальное значение МИ с учетом профазы выявлено в варианте I–1, что составляет $28,2 \pm 3,2\%$. В остальных опытных вариантах отмечено существенное снижение митотической активности, значение МИ изменялось от 15,1 до 4,3%. Как и предполагалось при постановке опыта, отсутствие холодной предобработки у проращиваемых весной луковиц негативно отразилось на МИ, которое составило в варианте I–1 4,3%. Физиологическое состояние луковиц, проращиваемых осенью, не повлияло на митотическую активность меристематических клеток лука. На основе полученных данных также определяли изменчивость цитологических параметров (МИ, МПИ) для каждой исследуемой выборки. Во всех вариантах отмечена повышенная изменчивость ($V > 20\%$) для МИ и МПИ.

Коэффициент корреляции между МИ с учетом профаз и МИ без учета профаз имеет высокое положительное значение, равное 0,99 ($p < 0,05$). В то время как корреляционное отношение между МИ и МПИ находится в отрицательной связи ($r = -0,70$) ($p < 0,05$). Из рис. 3 и 4 заметно преобладание метафаз над профазами в вариантах I–2, I–4, II–3, II–4, соответственно, МПИ составил $2,12 \pm 0,65$ – $5,51 \pm 0,52$ ($p < 0,05$).

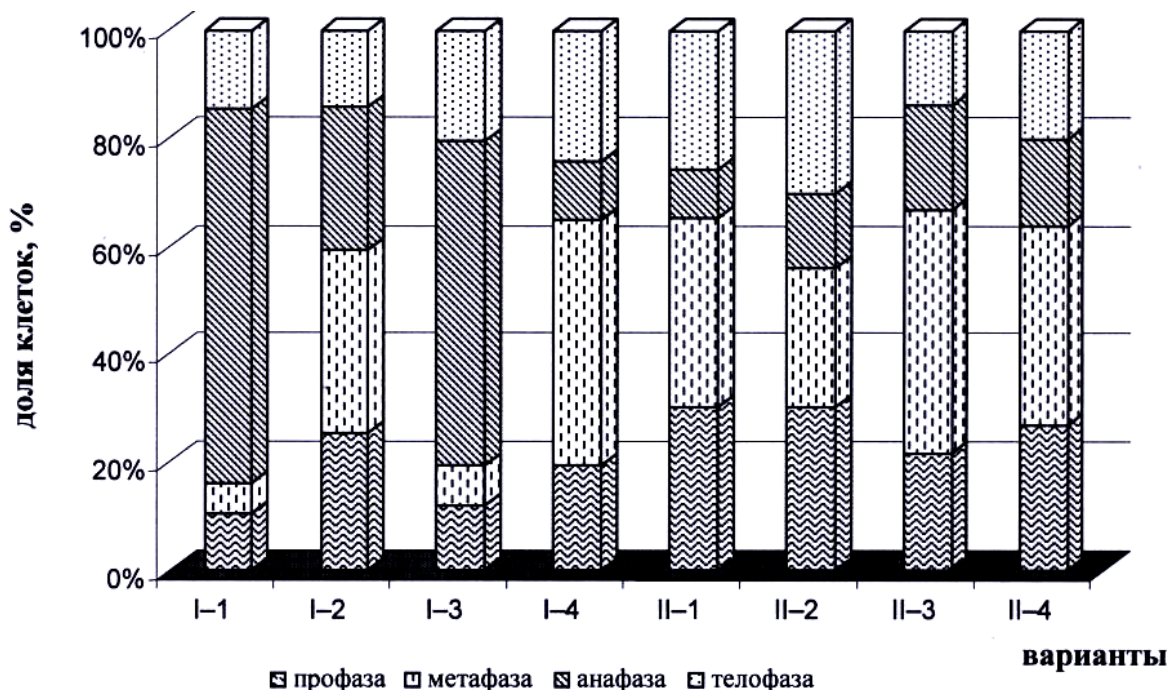


Рис. 4. Относительная продолжительность фаз митоза в корневой меристеме *A. cepa* L.

Длительность фаз. Изучение распределения клеток во всех вариантах по стадиям митоза показало, что наименьшее их число приходится на метафазу ($10,4 \pm 1,9$ – $12,0 \pm 1,3\%$) в вариантах I–1 и I–3, в то время как доля клеток на стадиях ана- и телофазы суммарно составила $80,3 \pm 8,0$ – $83,7 \pm 8,6\%$ (рис. 4). Установлена большая степень колебания относительной продолжительности фаз митоза в корневой меристеме лука, проращиваемого весной, в зависимости от его физиологического состояния. Луковицы, проращиваемые осенью, имеют более выровненные значения.

В зависимости от того, на какие процессы влияет тот или иной тестируемый физиологический фактор, происходит остановка клеточного деления на определенной стадии митоза (рис. 4). Выявление способности веществ останавливать клеточное деление на различных стадиях митоза, по мнению И.А. Алова, позволяет высказать предположение о механизме действия этих факторов [13]. В зависимости от физиологического состояния луковиц в разных вариантах опыта были отмечены различные повреждения цитогенетических структур клетки. Физиологическое состояние луковиц в вариантах I–1 и I–3 способствует блокировке митоза на стадии анафазы, что свидетельствует обычно о повреждении хромосомного аппарата [13]. Блок на стадии метафазы в вариантах I–4 и II–3 свидетельствует о вмешательстве в метаболизм аппарата, осуществляющего расхождение хромосом к полюсам, что влияет на нити веретена деления и инициирует образование хромосомных аберраций. Физиологическое состояние в вариантах опыта I–2, II–1, II–2 и II–4 вызывает блокировку на стадии профазы, что говорит

о вмешательстве в метаболизм нуклеиновых кислот либо наблюдается при нарушениях репликации ДНК. Данные табл. 2 подтверждают верность практически всех высказанных предположений, кроме варианта опыта II–4.

Патология митоза. Была исследована способность тестируемых физиологических факторов индуцировать патологии митоза в клетках корневой меристемы лука. Подсчет патологий митоза (ПМ) с учетом профаз является экспресс-методом оценки состояния митотического аппарата, т.к. позволяет диагностировать изменение в его функционировании (возрастание патологий митоза и/или изменение времени прохождения клеткой стадий митоза). Для более точного определения причины нарушения митотического аппарата необходимо проводить подсчет патологий митоза без учета профазных клеток и распределение клеток по стадиям цикла.

Результаты анализа показали, что различные сочетания тестируемых физиологических факторов практически во всех изученных вариантах не влияют на протекание патологических процессов в клетке. Причем, определение корреляционных отношений между ПМ с учетом профазы и ПМ без учета профазы выявило высокое положительное значение, равное $0,94$ ($p < 0,05$). Значение ПМ с учетом профазы колеблется от $6,6 \pm 1,2\%$ до $3,4 \pm 0,3\%$, что фактически находится в пределах нормального значения уровня спонтанного мутирования: 2 – 5% . Только в варианте опыта I–2 отмечено достоверное превышение этого уровня до $10,9 \pm 2,5\%$ ($p < 0,01$) по признаку «ПМ с учетом профазы», в то же время значение параметра «ПМ без учета профазы» не превышает естественный уровень мутирования.

Таблица 2

Уровень и спектр патологий митоза в корневой меристеме *A. cepa* L

Варианты опыта	Асимметричное расположение веретена деления	Отставание и забегание хромосом в анафазе, обособление хромосом	Мосты	Фрагментация хромосом	Микроядра
I–1	$1,3 \pm 0,3$	$3,7 \pm 0,4$	$0,7 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,7$	$0,01 \pm 0,001$
I–2	$0,6 \pm 0,1^1$	$3,8 \pm 0,3$	$0,1 \pm 0,01^2$	$2,1 \pm 0,8$	$0,03 \pm 0,009^2$
I–3	$0,9 \pm 0,2$	$5,0 \pm 0,7$	$0,4 \pm 0,05^2$	$1,1 \pm 0,2^1$	0
I–4	$2,3 \pm 0,4^1$	$3,5 \pm 0,6$	0	0	0
II–1	$2,3 \pm 0,2^1$	$3,1 \pm 0,5$	$0,1 \pm 0,05^2$	$1,0 \pm 0,1^1$	0
II–2	$2,9 \pm 0,3^2$	$3,2 \pm 0,6$	$0,1 \pm 0,05^2$	0	$0,01 \pm 0,001$
II–3	$1,9 \pm 0,2$	$6,5 \pm 0,9^2$	0	0	$0,01 \pm 0,001$
II–4	$1,6 \pm 0,5$	$4,1 \pm 0,8$	0	0	0
Примечание: ¹ $p < 0,05$; ² $p < 0,01$.					

Уровень и спектр патологий митоза, частота встречаемости клеток с микроядрами. Спектр ПМ включал такие типы патологий, как асимметричное расположение веретена деления, забегание и отставание хромосом в анафазе митоза, обособление единичных хромосом и группы хромосом в метафазе, мосты в анафазе и телофазе, то есть наиболее общие типы митотических нарушений. Выявлено, что у луковиц, культивируемых осенью, почти во всех исследуемых вариантах опыта сужается спектр различных патологий митоза и уменьшается их уровень по сравнению с контрольным вариантом в меристематических клетках корешков лука. Тот факт, что исходный опытный материал в контроле характеризуется определенным спектром патологий митоза и показывает достаточно высокий уровень по каждому регистрируемому типу, свидетельствует, по-видимому, об особенностях партии луковиц, которую использовали в исследованиях.

В исследуемом материале среди ПМ встречается асимметричное расположение митотического веретена. Значения данного признака находятся в диапазоне от $0,6 \pm 0,1$ до $2,9 \pm 0,3\%$ ($p < 0,05; 0,01$). Причем этот показатель имеет более высокое значение у луковиц, проращиваемых осенью. Деление клетки нуждается не только в событиях, которые происходят в точной временной последовательности, но и в точном их расположении в месте деления. Чтобы гарантировать, что дочерние клетки получат одинаковые наборы ДНК, место деления должно разделять пополам митотическое веретено с определенной ориентацией. Асимметричное расположение веретена деления не влияет на распределение ядерного материала ДНК, однако может привести к неравномерному распределению цитоплазматических органелл и, соответственно, ДНК митохондрий и пластид.

Выявлено, что меристематические клетки корешков лука в контрольном варианте содержат мосты, которые составляют $0,7 \pm 0,1\%$ от всех патологий митоза. Хромосомные и хроматидные мосты являются обычно следствием фрагментации хромосом, что видно по данным табл. 2. Образование мостов приводит к генотипической разнородности дочерних клеток, а также нарушает течение завершающих стадий деления и задерживает цитокинез. Встречаемость клеток с мостами выше у луковиц, про-

ращиваемых весной, чем у луковиц, культивируемых осенью.

Отставание хромосом в метакинезе и при расхождении к полюсам возникает при повреждении хромосом в области кинетохора. Поврежденные хромосомы пассивно «дрейфуют» в цитоплазме в единственном числе либо образуя группу хромосом, и в итоге либо разрушаются и элиминируются из клетки, либо случайным образом попадают в одно из дочерних ядер, либо образуют отдельное микроядро. Выявлены клетки с таким признаком, они составляют от 3,1 до 6,5%.

Образование микроядер происходит вследствие фрагментации или отставания отдельных хромосом, вокруг которых в телофазе формируется ядерная оболочка, параллельно образованию оболочки вокруг основных дочерних ядер. Новообразованные микроядра либо сохраняются в клетке в течение всего дальнейшего клеточного цикла вплоть до очередного деления, либо подвергаются пикнозу, разрушаются и выводятся из клетки.

В исследуемом материале обнаружено незначительное число микроядер как у луковиц, проращиваемых весной, так и проращиваемых осенью (от $0,01 \pm 0,001\%$ до $0,03 \pm 0,009\%$), что служит индикатором начала патологических процессов и нестабильности генома. Можно предположить, что верхняя чешуя содержит какие-то соединения, способные индуцировать патологические процессы в клетке, и в первую очередь они связаны с образованием мостов и фрагментацией как хромосом, так и интерфазных ядер.

Заключение. На основании проведенных исследований по совершенствованию методики биотестирования с использованием *Allium*-теста можно сформулировать следующее: 1) культивирование лука в весенний период ведет к усилению роста корней и листьев по сравнению с осенним периодом; 2) наличие у лука наружных покровных чешуй достоверно увеличивает рост корневой системы при проращивании лука весной; 3) повышена вероятность выявления и регистрации более широкого спектра патологий митоза независимо от сезона культивирования лука; 4) холодовая предпосадочная обработка значительно усиливает величины митотического индекса у лука, проращиваемого весной; 5) при отсутствии покровных чешуй и холодной обработки лука отмечены более низ-

кие величины митотического индекса и выявлен более узкий спектр патологий митоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / О.П. Мелехова [и др.]; под ред. О.П. Мелеховой, Е.И. Егоровой. – М.: Издательский центр «Академия», 2007. – С. 34–35, 42–43.
2. Fiskesjö, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring / G. Fiskesjö // *Hereditas*. – 1985. – Vol. 102. – P. 99–102.
3. Fiskesjö, G. The Allium test. Methods in molecular biology. In vitro toxicity testing protocols / G. Fiskesjö. – 1995. – Vol. 43. – P. 119–127.
4. Fiskesjö, G. The Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters. Plants for environmental studies. CRC Press LLC-N. Y., 1997. – P. 308–333.
5. Sabti, K. Allium test for air and water borne pollution control. *Cytobios* / K. Sabti. – 1989. – Vol. 58. – P. 71–78.
6. Kumar, L.P. G₂ studies of antimutagenic potential of chemopreventive agent curcumin in allium cepa root meristem cells / L.P. Kumar, N. Paneerselwam // *Facta Universitatis. Series: Medicine and Biology*. – 2008. – Vol. 15, № 1. – P. 20–23.
7. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных канцерогенных химических соединений. Гигиенические критерии окружающей среды. № 51. – Женева: ВОЗ, 1982. – 212 с.
8. Гудков, И.Н. Роль асинхронности клеточных делений и гетерогенности меристемы в радиоустойчивости растений / И.Н. Гудков, Д.М. Гродзинский // *Механизмы радиоустойчивости растений*. – К.: Наукова думка, 1976. – С. 110–137.
9. Евсеева, Т.И. Токсические и цитогенетические эффекты, индуцируемые у *Allium cepa* L. низкими концентрациями Cd и ²³²Th / Т.И. Евсеева [и др.] // *Цитология и генетика*. – 2005. – № 5. – С. 73–80.
10. Довгалоук, А.И. Оценка фито- и цитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикальной меристемы лука / А.И. Довгалоук [и др.] // *Цитология и генетика*. – 2001. – Т. 1, № 1. – С. 3–9.
11. Evseeva, T.I. Genotoxicity and cytotoxicity assay of water sampled from the underground nuclear explosion site in the north of the Perm region (Russia) / T.I. Evseeva [et al.] // *J. Environ. Radioactivity*. – 2005. – Vol. 80. – P. 59–74.
12. Калаев, В.Н. Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма / В.Н. Калаев, С.С. Карпова. – Воронеж: ВГУ, 2004. – С. 5–28.
13. Алов, И.А. Цитофизиология и патология митоза / И.А. Алов. – М.: Медицина, 1972. – 264 с.

Поступила в редакцию 25.10.2012. Принята в печать 14.12.2012

Адрес для корреспонденции: e-mail: tanyatolkacheva@mail.ru – Толкачева Т.А.