

MODERN METHODS OF TESTING THE GENOMODULAR EFFECT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

O. Yamkovyi¹, L. Butsenko^{1,2}

¹National University of Food Technologies

²Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine

Key words:

Biosafety
Biotesting
Genotoxicity
Mutagenicity
Chromosomal aberrations

Article history:

Received 12.09.2025

Received in revised form
29.09.2025

Accepted 14.10.2025

Corresponding author:

O. Yamkovyi

E-mail:

jamkovoya@gmail.com

Citation: Ямковий О. О., Буценко Л. М. (2025). Сучасні методи тестування геномодулювальної дії біологічно активних речовин. *Наукові праці НУХТ*, 31(5), 92—110.
DOI: 10.24263/2225-2924-2025-31-5-9

ABSTRACT

Modern biotechnology enables the production of numerous substances, which are widely used in the treatment and satisfaction of human nutritional needs, in cosmetics, or in functional products, to improve the quality of human life, increase the productivity of animal and plant husbandry. Biologically active products of biotechnology come into contact with living organisms during use, and therefore must undergo a comprehensive study of their potentially hazardous activity. It is known that biologically active products can have a genomodulatory effect on living organisms, both directly affecting genetic structures and inducing the appearance of mediators of genomodulatory activity in living organisms. A wide range of genomodulatory effects of biotechnology products requires careful selection of test systems and organisms to assess their impact on the genome.

Modern approaches to testing the genomodulatory effects of biologically active products were highlighted in this paper. It is shown that prokaryotic and eukaryotic test systems can be used. Prokaryotic test systems allow the recording of effects on DNA sequences and are based on bacterial strains with specific mutations. The mutagenicity of compounds in such tests is determined by the phenotypic change of test objects, which is a manifestation of mutations in special genes. The main disadvantage of prokaryotic test systems is the difficulty of extrapolating the obtained results to higher organisms. Among plant test systems, various species of *Allium*, *Crepis*, *Hordeum*, *Lycopersicon*, *Pisum*, *Tradescantia*, and *Zea* are commonly used as test objects. Such tests are based on the determination of certain classes of chromosomal aberrations and mutations. The best testing results are obtained by combining several test systems.

СУЧАСНІ МЕТОДИ ТЕСТУВАННЯ ГЕНОМОДУЛЮВАЛЬНОЇ ДІЇ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

О. О. Ямковий¹, Л. М. Буценко^{1,2}

¹Національний університет харчових технологій

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України

Сучасна біотехнологія дозволяє отримувати широкий асортимент біологічно активних речовин, що широко застосовується в лікуванні й задоволенні харчових потреб людей, у косметичних засобах чи функціональних продуктах, для покращення якості життя людини, підвищення продуктивності тваринництва і рослинництва. Зазвичай, біологічно активні продукти біотехнологій контактують під час використання з живими організмами, а тому обов'язково мають проходити різнобічне дослідження їхньої можливої небезпечної активності. Відомо, що біологічно активні речовини можуть чинити геномодулювальний вплив на всі живі організми як безпосередньо впливаючи на генетичні структури, так і індукуючи появу в живих організмів медіаторів геномодулювальної активності. Широкий спектр геномодулювальних ефектів продуктів біотехнології вимагає ретельного добору тест-систем і тест-організмів для оцінки їх впливу на геном.

Висвітлено сучасні підходи до тестування геномодулювальної дії біологічно активних речовин. Показано, що для тестування можуть бути задіяні прокаріотичні й еукаріотичні тест-системи. Прокаріотичні тест-системи дозволяють фіксувати вплив на послідовність молекул ДНК, а їх основу становлять бактеріальні штами зі специфічними мутаціями. Мутагенність сполук у таких тестах визначається за фенотиповою зміною тест-об'єктів, що є проявом мутації у спеціальних генах. Головним недоліком прокаріотичних тест-систем є труднощі екстраполяції одержаних результатів на вищі організми. Серед рослинних тест-систем як тест-об'єкти найчастіше використовують різні види *Allium*, *Crepis*, *Hordeum*, *Lycopersicon*, *Pisum*, *Tradescantia* і *Zea*. Такі тести ґрунтуються на визначенні певних класів хромосомних аберацій і мутацій у рослинних клітинах. Найкращі результати тестування отримують за поєднання декількох тест-систем.

Ключові слова: біобезпека, біотестування, генотоксичність, мутагенність, хромосомні аберації.

Постановка проблеми. Незважаючи на значний прогрес, людство продовжує стикатись з цілою низкою нерозв'язаних проблем. Одними з них є постійний дефіцит безпечних продуктів харчування, чистої питної води. З метою вирішення глобальних проблем людства науковці всього світу займаються розробкою нових продуктів, хімічних речовин, лікарських засобів, матеріалів, дослідженням шляхів мінімізації негативного впливу навколишнього середовища на організм людини, покращенням якості життя.

Важливе значення у вирішенні цих проблем має біотехнологія завдяки можливості отримувати широкий спектр корисних біологічно активних субстанцій. Отримувані біологічно активні речовини (БАР) мають широке застосування в харчовій, медичній, агропромисловій, природоохоронній галузях і різнобічний вплив на організм споживача. Але головною вимогою для усіх БАР залишається безпечність.

Відомо, що БАР можуть спричинювати як прямий, так і опосередкований вплив на людину. Саме тому важливо здійснювати тестування генотоксичної дії БАР до їх широкого практичного використання. Актуальною з цієї точки зору є оцінка нових перспективних продуктів, отриманих за допомогою біотехнологій: біологічно активних субстанцій, які використовують як лікарські засоби, продуктів харчування, харчових добавок, а також БАР, що використовують як інтексициди, приліпачі до пестицидів, біоетанол, біометанол, біодизель та інші речовини, кількість яких з кожним днем постійно зростає (Моо-Young, 2019).

Відомо, що безпечність лікарських засобів визначають у доклінічних дослідженнях і одним із важливих етапів є оцінка генотоксичних властивостей. Речовини з високим рівнем генотоксичності, пошкоджувальної дії на генетичний апарат клітин не допускаються для використання з лікувальною метою, що регулюється Наказом МОЗ № 1803 «Про затвердження Порядку проведення доклінічних досліджень лікарських засобів», <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1686-24#Text>.

Встановлено, що лікарські засоби з генотоксичними властивостями (окремі психотропні, гіпотензивні лікарські засоби, антибіотики та ін.) збільшують також мутагенне навантаження на навколишнє середовище (Хуе та ін., 2022).

Окрім необхідності тестування генотоксичної дії БАР, часто виникає потреба виявити генопротекторну активність продуктів біотехнології. Адже використання БАР з антимутагенною дією є одним з розумних напрямків вирішення проблеми мутагенезу. Відомо, зокрема, про антимутагенну дію мікробних полісахаридів (Norobakhsh Varnosfaderani та ін., 2024). Дослідження підтверджують наявність генопротекторних властивостей у низки флавоноїдів (Michalak, 2022), ліпополісахаридних комплексів (Menéndez-Perdomo, Fuentes-León, & Sánchez-Lamar, 2018), пектиновмісних продуктів (Palamarchuk, Dzhurenko, Steshenko, & Chetverniya, 2016).

На сьогодні існують різні підходи до реєстрації геномодулювальної дії БАР. Описано більше сотні тест-систем для дослідження впливу на організм на клітинному рівні, регулярно використовуються пару десятків. Разом із тим, залишається проблема уніфікації підходів до тестування біологічно активних сполук з метою отримання результатів, що можна порівнювати. Широкий спектр геномодулювальних ефектів продуктів біотехнології вимагає ретельного добору тест-систем і тест-організмів для визначення їх впливу на геноми. Зважаючи на широкий спектр БАР, необхідно розглядати різні тест-системи, оскільки їх геномодулювальна активність може мати різні механізми.

Мета дослідження: аналіз та узагальнення даних щодо сучасних підходів до тестування генотоксичної і генопротекторної дії біологічно активних сполук й визначення найбільш коректних підходів для тестування біотехнологічних продуктів.

Матеріали і методи. Для виконання аналітичного дослідження використані наукові та методичні дані з відкритих джерел: статті, публікації, наукометричні

бази даних (Google Scholar, PubMed та ScienceDirect) та нормативно-законодавча база щодо тестування фармакологічних речовин.

Викладення основних результатів дослідження. *Загальні принципи тестування геномодулювальної активності.* Геномодулювальна дія БАР на організм, може бути як мутагенна, так і антимутагенна. З метою тестування геномодулювальної активності БАР використовують загальні підходи визначення мутагенної й генотоксичної активності. Мутагенність призводить до подій, які змінюють ДНК, або структуру хромосоми, або їх кількість є незворотною. Якщо такі події не є летальними для клітини, то можуть бути переданими наступним поколінням. Отже, мутації це зміни в одній парі основ, в одному чи кількох генах, хромосомах або розриви в хромосомах, які призводять до стабільної делеції, дублювання чи перебудови хромосомних сегментів, або зміну кількості хромосом (анеуплоїдію), або зміни ДНК, в результаті мітотичної рекомбінації. Генотоксичність — це ширший термін. Він включає вищеописану мутагенність, а також випадки пошкодження ДНК з можливістю зворотного відновлення ДНК. Такі події не завжди призводять до постійних змін структури або змісту інформації, що будуть передані нащадкам. Відповідно тести на генотоксичність додатково включають тести, які оцінюють індуковане пошкодження ДНК, розриви нитки ДНК, первинні тести на пошкодження ДНК (OECD, 2020). Генотоксичні агенти можуть утворювати три основних типи пошкодження ДНК: 1) генні зміни, включаючи точкові мутації (заміни однієї пари основ в ДНК, в результаті чого відбуваються амінокислотні заміни в трансльованих білках), а також мутації зі зсувом рамки (втрата або вставка однієї чи двох пар основ), що спричиняє значні зміни в молекулі трансльованого білка; 2) хромосомні аберації, включаючи такі перебудови хромосом як делеції (випадіння), дублікації (подвоєння), інверсії (перестановки), транслокації (перенос сегментів хромосом, який спричиняє порушення їх структури); 3) анеуплоїдія і поліплоїдія, що включають втрату чи додавання однієї і більше хромосом.

Останніми десятиліттями з'явилися нові підходи та методи оцінки генотоксичної/геномодулювальної дії, в тому числі БАР. Однією з причин появи нових методів оцінки впливу на гени є наявність у відносно старих методів, низки обмежень, які були виявлені з часом у процесі поглибленого аналізу. Виявилось, що багато з них дублювали один одного (наприклад, визначали одні і ті самі реперні точки в різних організмах або типах клітин). Впродовж наступного десятиліття були зроблені спроби валідації тестів, оцінки найкращих тестів чи їх наборів для виявлення відповідних генотоксикантів (Hodgson, 2011).

Розглянемо найбільш поширені із них (рис.1).

У нинішній час застосовують множини тест-систем для виявлення, досліджень, моніторингу геномодулювальних ефектів у різних напрямках людської діяльності. Найбільш жорсткі вимоги до тестування генотоксичності пред'являються при реєстрації лікарських засобів у медицині. Міжнародна рада з питань гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських засобів для людини (The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) розробила керівництва щодо тестування на генотоксичність та інтерпретації даних для фармацевтичних препаратів, призначених для людини (Guideline, 2011).

У керівництвах зазначено, які тест-системи, в яких випадках рекомендовані до застосування, вимоги до позитивного та негативного контролів, вибору максимальних і мінімальних доз тощо.

З метою комплексної оцінки, найбільш точного визначення наявності чи відсутності геномодулювальних ефектів у досліджуваних лікарських засобах, уникнення хибно позитивних чи хибно негативних результатів, збільшення чутливості методів і розширення спектра відстежуваних генетичних подій розроблені схеми паралельної перевірки зразків із застосуванням різних тест-систем, так званих батареї тестів. Наприклад, в одному із стандартних варіантів батареї рекомендується постановка дослідів з тест-системою на генну мутацію у бактерій (загально-відомою як тест Еймса) і цитогенетичного тесту *in vitro* на хромосомні пошкодження (тест на метафазну хромосомну аберацію або мікроядерного тесту *in vitro*, які є однаково прийнятними в батареї).

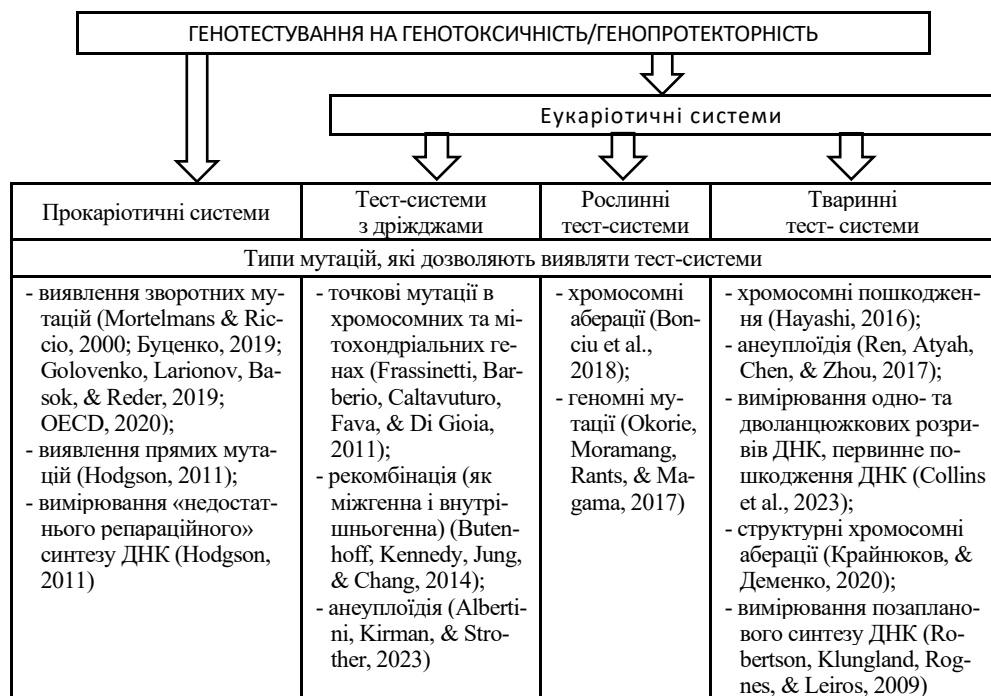


Рис. 1. Підходи до тестування геномодулювальних ефектів біологічно активних речовин

У нашій країні при проведенні клінічних досліджень БАР керуються Законом України «Про лікарські засоби» (Закон України № 123/96-ВР, 1996), наказом МОЗ № 1803 від 25.10.2024 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» (<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1686-24#Text>).

Окрім генотоксичної дії, у БАР визначають канцерогенну активність. Вивчення канцерогенної дії проводиться у разі, якщо:

а) досліджуваний БАР подібний за хімічною будовою до відомих канцерогенів;

б) при проведенні довготривалих токсикологічних досліджень тест-зразок спричинив підозрілі зміни;

в) виявлено мутагенну дію тест-зразка;

г) БАР планується призначати для регулярного прийому пацієнтові протягом тривалого періоду життя.

БАР з високим рівнем генотоксичності для подальшої підготовки до розгляду можливості реєстрації лікарського засобу не допускаються. Вимоги регуляторних органів нашої країни до проведення клінічних досліджень БАР гармонізовані з європейськими вимогами в цій галузі.

Аналізуючи кількість і можливості біологічних тест-систем, постійне впровадження нових, враховуючи стрімке накопичення результатів досліджень у цій галузі, можна зробити висновок, що найближчим часом у лабораторіях можна буде отримувати результати практично за всіма напрямками проведення тестувань генотоксичного впливу без залучення ссавців.

Прокаріотичні (бактеріальні) тест системи. Для виявлення БАР із мутагенною дією широко застосовують тести з використанням бактерій. Такі тести використовуються впродовж тривалого часу. Існує ціла низка модифікацій тестів, багато з яких валідовані, рекомендовані регуляторними органами різних країн (Сіміно, 2006).

На відміну від вищих організмів із складно організованою ДНК, у бактерій присутня тільки одна кільцева молекула ДНК, яка легкодоступна для проникаючих через клітинну стінку речовин. Бактерії є зручним інструментом для вивчення мутацій. Однією з переваг бактеріальних тестів є можливість вивчення в одному досліді цієї популяції мікроорганізмів з мільйонів клітин з відносно коротким періодом розмноження.

Бактеріальні тест-системи поділяють на три основні класи:

- для виявлення зворотних мутацій;
- для реєстрації прямих мутацій;
- для вимірювання «репараційного» синтезу ДНК.

Основу всіх прокаріотичних тест-систем для виявлення зворотних мутацій становлять штами зі специфічними змінами-мутаціями. Мутагенність БАР у таких тестах визначається за фенотиповою зміною тест-штамів, що є проявом зворотних мутацій у спеціальних генах.

Найбільш широко використовується метод, заснований на індукції зворотних мутацій у *Salmonella typhimurium* (da Silva Dantas, de Castilho, de Almeida-Apolonio, de Araújo, & de Oliveira, 2020; Ames, McCann, & Yamasaki, 1975) або *Escherichia coli* (менш поширений) (Mortelmans, & Riccio, 2000). Тест із *S. typhimurium* використовується і для визначення мутагенної та антимутагенної активності мікробних БАР (Буценко, 2019). Цей тест відомий як «тест Еймса», ідентифікує хімічні речовини різного походження, які викликають генні мутації (заміну базових пар основ, мутації зсуву рамки зчитування, що виникають у результаті невеликих вставок і делецій) (рис. 2).

Важливою особливістю тестів на зворотну мутацію є наявність у генотипі кожного штаму бактерій певних мутацій, які перешкоджають перебігу окремих найважливіших біохімічних процесів. Наприклад, синтезу однієї з незамінних амінокислот. У штамів *S. typhimurium*, використовуваних у тестах на зворотну індукцію,

відсутня здатність синтезувати амінокислоту гістидин. Штам дикого типу (прототрофний) здатний синтезувати всі необхідні амінокислоти з неорганічного азоту за умови наявності джерела вуглецю. Речовина, що тестується, може спричинювати повторну мутацію, яка відновить втрачену здатність бактерії синтезувати амінокислоту. Цей процес розглядається як реверсія від ауксотрофності до прототрофності, а утворювані мутанти мають назву ревантанти (Ames, McCann, & Yamasaki, 1975; Nakura et al., 2005).

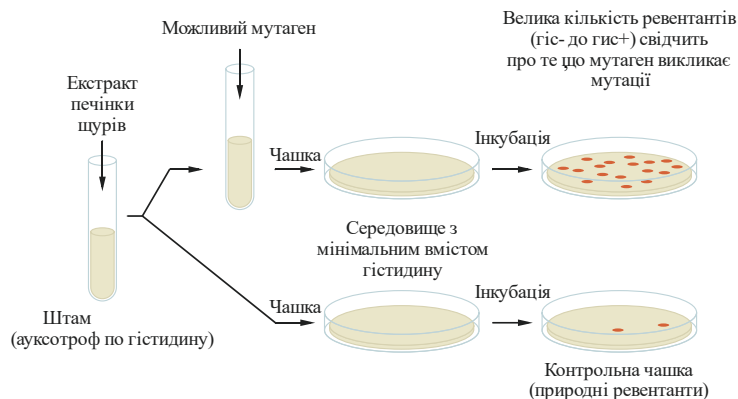


Рис. 2. Схема проведення тесту Еймса

Для підвищення чутливості тесту Еймса, за допомогою генетичних маніпуляцій отримано цілий ряд тестерних штамів *S. typhimurium*. Найбільш часто використовують штами *S. typhimurium* TA98, TA100, TA102, TA1531, TA1537, TA1538 (табл. 1).

Таблиця 1. Штами бактерії *Salmonella typhimurium*, які використовують у тест-системах при вивченні геномодулювальної дії

Номер штаму	Локуси, які несуть мутації	Джерело інформації
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98	Мутації за типом зсуву рамки зчитування <i>hisD3052</i> ; <i>rfa</i> ; <i>Δuvr</i> ; pKM101	Філіпова, Галкін, & Головенко, 2018
<i>S. typhimurium</i> TA1535	Заміна пари основ, що призводить до місенс-мутації в гені	Wessner, Maiorano, Kenyon, Pillsbury, & Campbell, 2000
<i>S. typhimurium</i> TA102	Мутації орхи (-TAA-), має нонсенс-мутацію <i>hisG428</i> ; <i>rfa</i> ; pKM101; pAQ1	Wessner, Maiorano, Kenyon, Pillsbury, & Campbell, 2000
<i>S. typhimurium</i> TA100	Заміна пари основ, що призводить до місенс-мутації в гені, подібні до мутацій в TA 1535, але дещо відрізняється в інших аспектах, може виявляти інший діапазон мутагенів <i>hisG428</i> ; <i>rfa</i> ; pKM101; <i>Δuvr</i>	Філіпова, Галкін, & Головенко, 2018
<i>S. typhimurium</i> TA1537	Мутації зсуву рамки зчитування, вставка одного додаткового нуклеотиду	Wessner, Maiorano, Kenyon, Pillsbury, & Campbell, 2000
<i>S. typhimurium</i> TA1538	Мутації зсуву рамки зчитування (<i>Δuvr</i>), делеція одного нуклеотиду	Wessner, Maiorano, Kenyon, Pillsbury, & Campbell (2000)

Окрім перерахованих у таблиці мутацій, у кожного з цих штамів відсутня можливість репарації пошкоджень ДНК (на відміну від бактерій дикого типу), а

також є дефект ліпосахаридного шару в клітинній стінці, що значно полегшує проникнення тестованих речовин у клітину (Bartos, Oliveira, & Moraes, 2022).

Для тестування мутагенності БАР вносять до суспензії бактеріальних клітин аусотрофа по гістидину, після чого стимулюють поділ бактерій шляхом внесення незначної кількості гістидину. Мутагенні властивості БАР буде встановлено за появи бактерій, які будуть продовжувати рости після вичерпання запасів гістидину. Ці мутанти легко виявити, за утворенням колоній на синтетичному середовищі без гістидину.

Однак, потрібно пам'ятати, що не завжди мутагени для бактерій можуть бути мутагенами для ссавців. Крім того, потрібно зважати на умови проведення дослідження в лабораторних умовах у пробірках, а не в організмі тварини, тому неможливо відтворити такі фактори, як розподіл речовини по різних органах тварини, що може викривити уяву про мутагенні ефекти БАР. Одним із основних обмежень використання бактеріальних тест-систем для тестування БАР, що безпосередньо вживаються людиною, є неможливість урахування ефектів перетворення цих БАР в організмі людини та впливу цих перетворень на геномодулювальну активність. Для подолання цього обмеження використовують метаболічну активацію досліджуваних БАР. Для моделювання метаболізму ссавців при постановці тесту Еймса використовують екстракти печінки щурів S9 (скорочено від «9000 «супернатанта»), які містять ферменти, здатні здійснювати метаболічні перетворення, характерні для ссавців (Claxton, de A. Umbuzeiro, & DeMarini, 2010).

З метою оптимізації проведення тестування великої кількості БАР, роботи обладнання та персоналу лабораторій розроблені готові мікропланшетні варіанти тесту Еймса: μ Ames kit (рис. 3), Moltox та Muta-Chromo Plate kit (Golovenko, Lariov, Basok, & Reder, 2019).

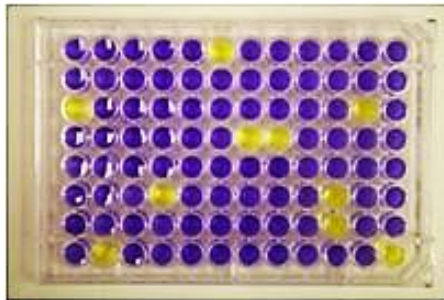


Рис. 3. Мікропланшетний варіант тесту Еймса μ Ames kit (Muta-ChromoPlate™ Basic Kit, 2025)

Отже, бактеріальні тести на мутагенність є зручним способом виявлення мутагенів. Необхідно зазначити, що значна кількість мутагенів є канцерогенами. Частина канцерогенів серед мутагенів, за даними дослідників, становить до 85% (Sivagounadin, 2022).

Тест Еймса — найшвидший тест на канцерогени під час промислової розробки БАР, а також сільськогосподарських хімікатів, фармацевтичних препаратів, харчових добавок, комерційних хімікатів для схвалення регуляторними органами (Zeiger, 2019).

Тест на індукцію зворотних мутацій затверджений Організацією економічного співробітництва та розвитку (ОЕСД) для перевірки генотоксичної дії (ОЕСД, 2020).

Тести на мутагенність з використанням бактерій, зокрема тест Еймса, підходять як перший рівень із серії тестів для проведення багаторівневого скринінгу БАР на потенційну геномодулювальну (канцерогенну) активність. Точність тесту становить майже 90%. Тест Еймса має суттєву перевагу тому, що він «низькотехнологічний», відносно недорогий і портативний, потребує мінімального лабораторного обладнання та матеріалів, що уможливило його прийняття в усіх країнах. Інші його переваги: він знайомий регулюючим органам у всьому світі та створює тестові дані, які легко зрозуміти людям, що не мають досвіду генетики чи мутагенезу (Zeiger, 2019).

Тести на вищих рослинах. Застосування еукаріотичних швидкісних тест-систем залишається актуальним. Рослини є еукаріотичними організмами і їхні хромосоми структурно та морфологічно подібні до хромосом тварин, так само, як і системи активації промутагенів. Крім того, вирощувати рослини значно дешевше, ніж культуру тваринних клітин *in vitro* або проводити досліди на тваринах *in vivo*.

Серед рослинних тест-систем на мутагенність найчастіше використовують різні види *Allium* (цибуля), *Crepis* (скерета), *Hordeum* (ячмінь), *Lycopersicon* (помідори), *Pisum* (горох), *Tradescantia* (традесканція), *Vicia* (віка) і *Zea* (кукурудза) (табл. 2). Такі тести ґрунтуються на обробленні меристеми рослин досліджуваними речовинами, з подальшим визначенням наявності певних класів хромосомних аберацій і геномних мутацій у клітинах рослинної тканини. Меристема рослин є зоною, де відбувається активний клітинний поділ. Саме у мітотичній фазі хромосомний апарат клітин є найбільш чутливим до дії мутагенних чинників.

Таблиця 2. Рослинні тест-організми, які використовують для тестування мутагенної активності

Назва рослини (укр.)	Вид рослини (лат.)	Типи мутацій, які визначали	Література
Цибуля кілювата Цибуля городня Цибуля трубчаста Цибуля шніт	<i>Allium carinatum</i> <i>A. cepa</i> <i>A. fistulosum</i> <i>A. choenoprasum</i>	Частота абераційних клітин та аберації хромосом у мітозі та мейозі, К-мітотичний ефект у клітинах апікальної меристеми корінців, мікроядра	Leme, & Marin-Morales, 2009; Tkachuk, & Zelena, 2022; Manna, & Bandyopadhyay, 2017
Скерета волосинчаста	<i>Crepis capillaris</i>	Хромосомні порушення та обміни між хромосомами у мітозі у клітинах апікальної меристеми корінців	Juchimiuk, & Maluszynska, 2005
Ячмінь звичайний	<i>Hordeum vulgare</i>	Хромосомні порушення та обміни у мітозі в клітинах апікальної меристеми корінців і пагонів	Kumar, & Pandey, 2015; Pan та ін., 2004
Томат культурний	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Хромосомні порушення та обміни у мітозі і мейозі у клітинах апікальної меристеми корінців та у квітках	Grant, & Owens, 2002

Горох червоно-жовтий Горох посівний	<i>Pisum fulvum</i> <i>P. sativum</i>	Хромосомні порушення у мітозі та мейозі у клітинах апікальної меристеми корінців	Grant, & Owens, 2001
Традесканція	<i>Tradescantia</i>	Частота і динаміка соматичних мутацій у мікроспорах, гаметах, соматичних клітинах (кінчики коренів, у пелюстках і волосках тичинкових ниток)	Аристархова, 2016; de Morais та ін., 2019; Cassanego та ін., 2014
Горошок мишачий (віка багатоквіткова) Біб кінський	<i>Vicia cracca</i> <i>V. faba</i>	Хромосомні порушення та обміни у мітозі, мікроядра	Majer, Grummt, Uhl, & Knasmüller, 2005; Chandra, Chauhan, Pande, & Gupta, 2004
Кукурудза звичайна	<i>Zea mays</i>	Хромосомні порушення у мітозі та мейозі	Grant, & Owens, 2006
Ряска мала	<i>Lemna minor</i>	Оцінка потенційного інгібування росту, вміст хлорофілу, каротиноїдів, активність ферментів	Radić та ін., 2011; Pietrini та ін., 2022
Осмунда велична	<i>Osmunda regalis</i>	Спорофітні, легальні листя або кореню мутації, ауксотрофні гаметофітні мутації, а також численні фенотипові зміни морфології	Skribic, Petersn, Christensen, Hansen, & Rasmussen, 2020

З метою моніторингу водних ресурсів досить широко використовують тести на рясці (*Lemna*). Ряска є представником вищих водних рослин. Рослини невеликі, легко вирощуються та чутливі до дії хімікатів. Тестування *Lemna* потрібне для засобів захисту рослин, що діють як гербіцид або регулятор росту рослин.

За допомогою тестів визначають та оцінюють вплив на організм за такими показниками, як NOEC (No Observed Effect Concentration) — максимально недіюча концентрація речовини; LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) — максимально недіюча концентрація речовини; EC50 — напівмаксимальна ефективна концентрація речовини. Кінцевою точкою є врожайність і швидкості зростання на основі кількості листя та сухої маси (Park та ін., 2022).

Хромосомні аберації — це зміни структури хромосом, серед яких виділяють делеції (видалення ділянки хромосоми), інверсії (зміна порядку генів ділянки хромосоми на зворотний), дуплікації (повторення ділянки хромосоми), транслокації (перенесення ділянки хромосоми на іншу). Найлегше під мікроскопом виявити такі хромосомні аберації: фрагменти хромосом (є результатом делецій), мости (є результатом злиття різних хромосом), відставання та втрати хромосом (є результатом ушкодження центромери хромосом) (Вопсіу та ін., 2018).

Із перерахованих вище рослинних експрес-тестів на мутагенність одним із найпоширеніших є *Allium cepa*-тест (рис. 4). Суть цього методу полягає у підрахунку

хромосомних аберацій, які виникають під дією досліджуваних мутагенів, у метафазі, анафазі і/чи телофазі (Maluszynska, & Juchimiuk, 2005).

Одним із методів первинної оцінки геномодулювальної дії за допомогою вищих рослин є оцінка зовнішнього вигляду, співвідношення довжини пророслих корінців рослини у розчині з досліджуваною речовиною та контролем з чистою водою (Das, Hazra, Sengupta, Hazra, & Chattopadhyay, 2021).

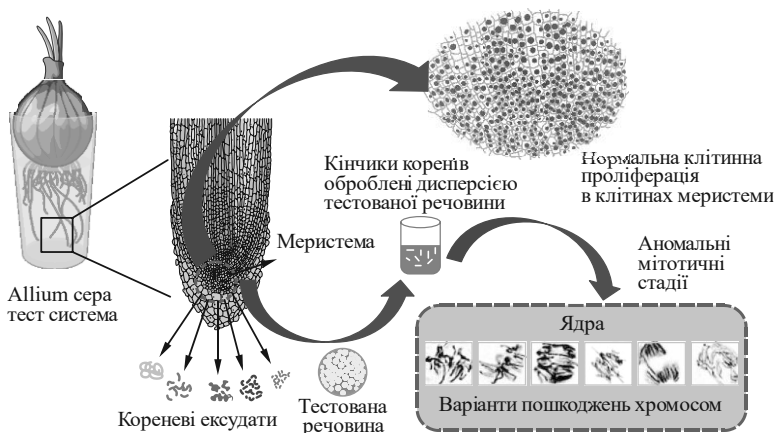


Рис. 4. Схема проведення *Allium cepa*-тесту

Тваринні тест-системи. Тваринні тест-системи для проведення випробувань, пов'язаних з визначенням генотоксичної, мутагенної, канцерогенної дії на організм широко застосовують у наукових, науково-дослідних лабораторіях практично у всіх країнах світу. Окрім того, їх використовують і регуляторні органи всіх країн на етапах контролю. Так, у США цілий ряд державних організацій займається оцінкою впливу хімічних речовин. Наприклад, Агенція з охорони довкілля США (Environmental Protection Agency, EPA), Управління з продовольства і медикаментів США (Food and Drug Administration, FDA), Комісія з безпеки споживчих товарів США (United States Consumer Product Safety Commission, CPSC), Національний інститут безпеки та гігієни праці (National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH) та інші. Європейські країни, включаючи Україну, керуються вимогами Організації економічного співробітництва та розвитку (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD). Історично міжнародними органами розглядалось значна множина методів аналізу по мірі появи нових методів досліджень генотоксичної дії. Пізніше, із міркувань доцільності з економічної точки зору, дублювання багатьох методик, уніфікації вимог до об'єктів досліджень була зменшена кількість загальноприйнятих методів досліджень.

Найбільш поширеними практично у всіх регуляторних органів рекомендуються трирівневі тест-системи. На першому, рутинному, рівні первинного скринінгу найчастіше використовують бактеріальні тест-системи (тест Еймса). У разі позитивних або невизначених результатів проводять тестування другого рівня. При потребі, згідно з визначеними процедурами, проводять дослідження третього рівня,

в певних випадках проводять додаткові специфічні дослідження. На другому/третьому рівнях тестування генотоксичної, мутагенної дії користуються мікроядерним аналізом *in vivo*, тестом *in vitro* на мишачу лімфому, тестом *in vivo* на хромосомну аберацію клітин ссавців. У різних країнах, міжнародних організаціях поширені біологічні тест-системи, згідно з вимогами регулятора постановки задачі можуть бути або на другому або на третьому рівнях, чергуватись між собою (Cimino, 2006).

Мікроядерний тест. У 1969 р. W. Schmid із колегами був запропонований тест для дослідження мутагенезу, в основі якого був облік мікроядер в еритроцитах кісткового мозку. Цей метод одержав назву — мікроядерний тест (Hayashi, 2016).

Мікроядра, більш відомі як тільця Жоллі, були відкриті більше 60 років тому і як біомаркери генетичних порушень у клітинах були описані в подальших дослідженнях (Zhang та ін., 2021).

Мікроядерний тест — поширений метод оцінки хромосомних пошкоджень у клітинах еукаріотів. Окрім дослідження генотоксичності речовин, його використовують при біомоніторингу навколишнього середовища (Крайнюков, & Деменко, 2020).

Для проведення досліджень тварини піддаються впливу досліджуваною БАР затвердженим способом. У випадку використання клітин кісткового мозку тваринок евтаназують через відповідні часові проміжки після впливу хімікату на організм тварини. Потім негайно вилучають кістковий мозок з гомілкових кісток, готують і фарбують препарати (Hayashi, 2016).

При використанні крові з периферійних судин роблять забір крові способом через відповідні часові проміжки після впливу хімікату на організм тварини, негайно готують і фарбують препарати (Kasamoto, Masumori, & Hayashi, 2013). Препарати аналізують на наявність мікроядер шляхом візуалізації за допомогою мікроскопа, аналізу отриманих зображень, проточної цитометрії (імунофенотипування) (Микитюк, 2015) або за допомогою лазерної скануючої цитометрії (Harnett, 2007; Mach, Thimmesch, Orr, Slusser, & Pierce, 2010).

Важливим при є дотримання вимог європейського та українського законодавства стосовно захисту тварин, що використовуються для наукових цілей (Directive 2010/63/EU, 2010). Використання живих тварин, ссавців, дозволяється тільки у разі неможливості замінити проведення досліджень за допомогою інших методів. Крім того, при постановці таких дослідів необхідно залучати мінімальну кількість тварин. Актуальним є питання проведення дослідів на живих тваринах з точки зору біоетики. В науковому співтоваристві немає однозначної думки з цього приводу. Регуляторні органи рекомендують проводити дослідів із залученням живих тварин тільки у випадках неможливості замінити проведення досліджень за допомогою інших методів. Цієї думки дотримується і переважна більшість дослідників (Richmond, 2002).

Зазвичай, утворення мікроядер відбувається двома шляхами:

- 1) із хромосомного матеріалу, який залишився на стадії анафази в одній з дочірніх клітин в процесі мітозу;
- 2) крупні мікроядра можуть утворюватись із цілих хромосом у процесі порушення розходження хроматид. Це може бути викликано пошкодженнями на веретені поділу, внаслідок чого утворюються його дефекти.

Для проведення тесту можна використовувати клітини з різних частин організму та відомо, що одним з надійних способів визначення геномодулювальних властивостей речовин є використання еритроцитів кісткового мозку дрібних гризунів, або периферичної крові дрібних гризунів. З таким типом клітин краще працювати, оскільки ці клітини позбавлені основного ядра, менше піддаються спонтанним мутаціям, не містять, на відміну від клітин печінки щурів артефактів, сторонніх включень, що заважають при підрахунку пошкоджень (Alnasser, 2025). Протоколи проведення досліджень з використанням клітин інших органів, наприклад, тканин печінки, легень, шкіри, товстої кишки, тканин плоду ще не досить добре стандартизовані та перевірені для нормативного застосування і потребують подальшої розробки (Morita, MacGregor, & Hayashi, 2011). Використання більш сучасних систем та обладнання для автоматизованої оцінки дає змогу подолати обмеження при оцінці пошкоджень клітин. Слід очікувати, що методи проточної пірометрії та обробки зображень замінять класичну мікроскопію, дадуть змогу отримувати надійні дані ефективнішим способом (Hayashi та ін., 2007). Іншим показником є частота виникнення клітин з подвійними ядрами (Крайнюков, & Деменко, 2020).

Незважаючи на те, що цей метод застосовується для досліджень впродовж кількох десятиліть, зацікавленість науковців до цього методу не згасає. Про це свідчить наявність низки не тільки оглядових досліджень, а й прикладних (Ren, Atyah, Chen, & Zhou, 2017; Canedo та ін., 2021). При цьому серед доступних джерел досить мало публікацій про дослідження за допомогою мікроядерного тесту генопротекторної дії речовин біологічного походження.

Тест на хромосомні аберації тваринних клітин. Підтримка цілісності генома вимагає ефективного та точного усунення розривів ДНК і перешкод для реплікації ДНК. Дисфункції на будь-якому проміжку перебігу цих процесів можуть призвести до хромосомної нестабільності, яка може проявлятися у вигляді множини структурних аберацій.

Одним із стандартизованих, загальноприйнятих методів оцінки генотоксичної/генопротекторної дії є тест на хромосомні аберації, що дозволяє виявляти структурні та числові зміни в хромосомах під впливом мутагенних агентів або фіксувати їх відсутність у разі генопротекторної дії досліджуваної речовини. Цей тест широко використовується в основному для дослідження потенційного мутагенного та канцерогенного ефекту пестицидів, біологічно-активних речовин, токсичних речовин, барвників, мастильних добавок, синтетичних волокон, конструкційних полімерів, впливу радіації, при проведенні досліджень у гуманній медицині тощо.

Суть методу полягає в дослідженні структурних пошкоджень хромосом (делецій, транслокацій, дицентричних хромосом) та числових аномалій (анеуплодії, поліплодії) (OECD, 2016). Може проводитись *in vitro* (на культурах клітин) та *in vivo* (на клітинах кісткового мозку, лімфоцитах крові тощо). Вимоги до вибору різновиду методу в різних країнах можуть відрізнятися.

При проведенні дослідження, з використанням крові з периферійних судин, роблять забір крові через відповідні часові проміжки після впливу досліджуваної речовини на організм ссавця. Культивування лімфоцитів периферичної крові проводять згідно зі стандартною методикою (Зерова-Любимова, & Горovenko, 2003).

Цільну гепаринізовану кров організму додають до культуральної суміші, яка містить поживне середовища Ігла, бромдезоксириндин, сироватку великої рогатої худоби та фітогемаглютинін у визначеній концентрації. Культивують культуру лімфоцитів, за 4 год до закінчення культивування вносять розчин колхіцину. Після гіпотонічної обробки проводять фіксацію клітин оцтовим метанолом (3:1). Препарат забарвлюють за допомогою Гімза- або флуоресцентного-плюс-Гімза (FPG) забарвлення. Метафазні препарати аналізують, реєструючи весь спектр розпізнавальних аберацій хромосом.

На точках дослідження спектр цитогенетичних аномалій складається із дицентриків і кільцевих хромосом із супутніми фрагментами, вільних хромосомних фрагментів, транслокацій, хроматидних обмінів, хроматидних фрагментів, гіперплоїдних клітин та поліплоїдів.

Гіпоплоїдні клітини до геномних порушень не відносяться, оскільки значна частка таких клітин може виникати внаслідок методологічних особливостей приготування хромосомних препаратів. Аналізується кілька тисяч клітин, проводять статистичний аналіз отриманих результатів. При проведенні статистичного аналізу отриманих даних визначають середні рівні аберантних клітин кожного виду аберацій хромосом чи їх комбінацій у розрахунку на 100 проаналізованих нормоплоїдних клітин незалежно від амітозу (так званий Гімзаеквівалент). Стандартні похибки середніх рівнів цитогенетичних пошкоджень обчислюють з урахуванням дисперсії поклітинних розподілів аберацій в об'єднаних вибірках метафаз. Імовірність різниці між середніми значеннями цитогенетичних показників визначають за t-критерієм Стюдента (Мазник та ін., 2021).

Тест домінантних летальних мутацій. Тест домінантних летальних мутацій — це *in vivo* метод оцінки мутагенності хімічних, фізичних, біологічних агентів на рівні статевих клітин. За допомогою цього тесту виявляють мутації в сперматозоїдах або ооцитах, які спричиняють загибель ембріона на ранніх стадіях розвитку. Безперечною перевагою є дослідження впливу хімічних речовин на статеві клітини свавців, подібні за будовою на людські. Отримані результати дають змогу оцінювати можливий вплив на організм людини, зрозуміти чи може досліджувана речовина спричинювати генетичні зміни, які будуть перенесені в поколіннях, оцінити потенційну загрозу для нащадків. Оцінку впливу на організм за допомогою цього тесту найчастіше проводять на третьому рівні тестування генотоксичності. Можливо проводити процедуру на другому рівні тестування (Booth, Rawlinson, Fagundes, & Leiner, 2017).

Домінантна летальна мутація — це мутація, що відбувається в статевій клітині або фіксується після запліднення в ранньому ембріоні, яка не викликає дисфункцію гамет, але є смертельною для заплідненої яйцеклітини чи ембріона.

Для проведення досліджень беруть групи самців і незайманих самочок, їх тримають окремо. Контрольну групу самців поють дистильованою водою, другу групу піддають впливу тестовим матеріалом з низькою дозою (0,25 летальної дози), третю групу піддають впливу тестовим матеріалом у високій дозі (летальна доза), як позитивний контроль групу самців піддають впливу речовин з відомою мутагенною здатністю впродовж 5 днів. Кожного обробленого самця сажають в окремі

клітки з двома необробленими самками на 7 днів. Потім відбирають, згідно зі схемою досліду, по групі самок щотижня, евтаназують, роблять розтин і здійснюють підрахунок живих і мертвих ембріонів.

Домінантна летальність тестової речовини визначається шляхом порівняння кількості живих ембріонів на самку в дослідній групі з кількістю живих ембріонів на самку в контрольній групі. Збільшення кількості мертвих ембріонів на самку в дослідній групі порівняно з кількістю мертвих ембріонів у контрольній групі вказує на втрату після запліднення, спричиненою впливом тестованої речовини. Індукція летальної мутації вказує на вплив тестованої речовини на зародкові тканини випробовуваної тварини.

Тест домінуючих летальних мутацій, окрім багатьох переваг, має також і певні недоліки. Основними недоліками методу є використання для здійснення випробувань досить великої кількості тварин, високі вимоги до досвіду та кваліфікації лабораторій. У результаті цей аналіз є дуже дорогим і трудомістким. Через ці обмеження метод домінуючих летальних мутацій не використовується широко у скринінгових дослідженнях, а є прийнятним лише на третьому рівні тестування генотоксичності або як додатковий метод тестування при відсутності альтернативи (OECD, 2016).

Висновки

Отже, сьогодні у світі широко використовують тест-системи для вивчення мутагенності БАР на основі бактерій, дріжджів, рослин і тваринних клітин. Тестування кожної речовини має бути проведено за використання декількох тестів, що дозволяють врахувати різні типи генетичних пошкоджень.

Перевагою застосування бактеріальних тест-систем є швидкість і дешевизна дослідження. Перевагою застосування тестів із тваринними клітинами є отримання чіткої відповіді стосовно впливу на організм людини, але таке тестування дороге і не може охоплювати велику кількість БАР. Найоптимальнішим є використання рослинних тест-систем, що дозволяють отримувати результати, які можуть бути екстрапольовані на людину, є дешевими і не потребують складного обладнання.

Література

Аристархова, Е. О. (2016). Особливості визначення токсичності питної води. *Агроекологічний журнал*, 3, 50—55. <https://doi.org/10.33730/2077-4893.3.2016.248863>.

Буценко, Л. (2019). Геномодульовальна активність *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* і *P. syringae* pv. *atropaciens*. *Біоресурси і природокористування*, 11(3/4), 25.

Запорожан, В. Н., Кордюм, В. А., Бажора, Ю. И., Кресюн, В. И., Трахтенберг, И. М., Левицкий, Е. Л., ..., Буценко, Г. М. (2008). *Генетическая медицина*. Одеса: Одеський державний медичний університет.

Зерова-Любимова, Т. Е., & Горovenko, Н. Г. (2003). *Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини. Методичні рекомендації*. Київ: Київська медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика.

Крайнюков, О. М., & Деменко, А. В. (2020). Дослідження актуальності використання мікроядерного тесту для захисту водної екосистеми від впливу небезпечних хімічних речовин. *Екологічні науки*, 3(30), 133—137. <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2020.eco.3-30.23>.

Мазник, Н. О., Сипко, Т. С., Старенький, В. П., Гукова, І. М., Артюх, С. В., & Черкаска, Л. В. (2021). Features of cytogenetic effects in oncological patients during radiotherapy with prior radiation exposure. *Український радіологічний та онкологічний журнал*, 29(4), 48—64. <https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2021.48-64>.

Микитюк, О. Ю. (2015). Проточна цитометрія: фізичні основи та практичне застосування у медицині і біології. *Вісник проблем біології і медицини*, 2(1), 214—217.

Філіпова, Т. О., Галкін, М. Б., & Головенко, М. Я. (2018). Визначення мутагенних властивостей тилорону — активного фармацевтичного інгредієнту аміксину, в мікропланшетному варіанті тесту Еймса. *Мікробіологія і біотехнологія*, 41(1), 6—17. [https://doi.org/0.18524/2307-4663.2018.1\(41\).126657](https://doi.org/0.18524/2307-4663.2018.1(41).126657).

Alnasser, S. M. (2025). Revisiting the approaches to DNA damage detection in genetic toxicology: insights and regulatory implications. *BioData Mining*, 18(1), 1—19. <https://doi.org/10.1186/s13040-025-00447-8>.

Ames, B. N., Mc Cann, J., & Yamasaki, E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.; (Netherlands)*, 31. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90046-1](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90046-1).

Barros, B., Oliveira, M., & Morais, S. (2022). Unveiling urinary mutagenicity by the Ames test for occupational risk assessment: a systematic review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(20), 13074. <https://doi.org/10.3390/ijerph192013074>.

Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C. S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M. C., Liu, D., ..., & Papieni, A. (2018). An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. *Caryologia*, 71(3), 191—209. <https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1503496>.

Booth, E. D., Rawlinson, P. J., Maria Fagundes, P., & Leiner, K. A. (2017). Regulatory requirements for genotoxicity assessment of plant protection product active ingredients, impurities, and metabolites. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 58(5), 325—344. <https://doi.org/10.1002/em.22084>.

Canedo, A., de Jesus, L. W. O., Bailão, E. F. L. C., & Rocha, T. L. (2021). Micronucleus test and nuclear abnormality assay in zebrafish (*Danio rerio*): Past, present, and future trends. *Environmental pollution*, 290, 118019. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118019>.

Cassanego, M. B. B., Costa, G. M. D., Sasamori, M. H., Endres Júnior, D., Petry, C. T., & Droste, A. (2014). The *Tradescantia pallida* var. *purpurea* active bioassay for water monitoring. *Revista Ambiente & Água*, 9, 424—433. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1411>.

Chandra, S., Chauhan, L. K. S., Pande, P. N., & Gupta, S. K. (2004). Cytogenetic effects of leachates from tannery solid waste on *Vicia faba*. *Environmental Toxicology*, 19(2), 129—133. <https://doi.org/10.1002/tox.20005>.

Cimino, M. C. (2006). Comparative overview of international strategies for genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 47(5), 362—390. <https://doi.org/10.1002/em.20216>.

Claxton, L. D., de A. Umbuzeiro, G., & DeMarini, D. M. (2010). The Salmonella mutagenicity assay: a stethoscope of genetic toxicology. *Environmental Health Perspectives*, 118(11), 1515—1522. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002336>.

Da Silva Dantas, F. G., de Castilho, P. F., de Almeida-Apolonio, A. A., de Araújo, R. P., & de Oliveira, K. M. P. (2020). Mutagenic potential of medicinal plants: a systematic review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 786, 108338.

Das, T., Hazra, S., Sengupta, S., Hazra, P., & Chattopadhyay, D. (2021). Genotoxic effect of saccharin on *Allium cepa* root tips. *Biologia*, 76(11), 3191—3199. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00871-1>.

De Morais, C. R., Pereira, B. B., Sousa, P. C. A., Santos, V. S. V., Campos, C. F., Carvalho, S. M., ..., & Bonetti, A. M. (2019). Evaluation of the genotoxicity of neurotoxic insecticides using the micronucleus test in *Tradescantia pallida*. *Chemosphere*, 227, 371—380. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.073>.

Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council (2010). On the protection of animals used for scientific purposes. <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj>.

- Golovenko, M. Y., Larionov, V. B., Basok, S. S., & Reder, A. S. (2019). Testing mutagenic potential using Ames test microplate. *Farmatsevtichnyi zhurnal*, 2, 81—87. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.19.9>.
- Grant, W. F., & Owens, E. T. (2001). Chromosome aberration assays in *Pisum* for the study of environmental mutagens. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 488(2), 93—118. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(00\)00064-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(00)00064-8).
- Grant, W. F., & Owens, E. T. (2002). *Lycopersicon* assays for environmental mutagens. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 511(3), 207—237.
- Grant, W. F., & Owens, E. T. (2006). *Zea mays* assays for environmental mutagens. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 613(1), 17—64. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2006.04.002>.
- Guideline, I. H. T. (2011). Genotoxicity testing guidance for pharmaceuticals. *International Conference on Harmonisation*.
- Hakura, A., Shimada, H., Nakajima, M., Sui, H., Kitamoto, S., Suzuki, S., & Satoh, T. (2005). Salmonella/human S9 mutagenicity test. *Mutagenesis*, 20(3), 217—228. <https://doi.org/10.1093/mutage/gei029>.
- Harnett, M. M. (2007). Laser scanning cytometry: understanding the immune system in situ. *Nature reviews. Immunology*, 7(11), 897—904. <https://doi.org/10.1038/nri2188>.
- Hayashi, M. (2016). The micronucleus test—most widely used in vivo genotoxicity test. *Genes and Environment*, 38(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s41021-016-0044-x>.
- Hodgson, E. (Ed.). (2011). A Textbook of Modern Toxicology. *John Wiley & Sons*. ISBN 1118211294.
- Juchimiuk, J., & Maluszynska, J. (2005). Transformed roots of *Crepis capillaris*. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 565(2), 129—138. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2004.10.016>.
- Kasamoto, S., Masumori, S., & Hayashi, M. (2013). In vivo micronucleus assay in mouse bone marrow and peripheral blood. *Genotoxicity Assessment: Methods and Protocols*, 179—189. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-529-3_9.
- Kumar, G., & Pandey, A. (2015). Genotoxic effects of food preservatives on barley. *Chromosome Botany*, 10(2), 51—60. <https://doi.org/10.3199/iscb.10.51>.
- Leme, D. M., & Marin-Morales, M. A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 682(1), 71—81. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>.
- Mach, W. J., Thimmesch, A. R., Orr, J. A., Slusser, J. G., & Pierce, J. D. (2010). Flow cytometry and laser scanning cytometry, a comparison of techniques. *Journal of clinical monitoring and computing*, 24, 251—259. <https://doi.org/10.1007/s10877-010-9242-4>.
- Majer, B. J., Grummt, T., Uhl, M., & Knasmüller, S. (2005). Plant bioassays for aquatic genotoxins. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 33(1), 45—55. <https://doi.org/10.1002/ahch.200300557>.
- Maluszynska, J., & Juchimiuk, J. (2005). Molecular cytogenetic plant bioassays. *Arh Hig Rada Toksikol*, 56(2), 177—184.
- Manna, I., & Bandyopadhyay, M. (2017). Nickel oxide nanoparticle effects on plants. *Frontiers in Chemistry*, 5, 92. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00092>.
- Menéndez-Perdomo, I. M., Fuentes-León, F., & Sánchez-Lamar, Á. (2018). Cuban flora species as a potential source of DNA protective compounds. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 17(1).
- Michalak, M. (2022). Plant-derived antioxidants: Significance in skin health and the ageing process. *International journal of molecular sciences*, 23(2), 585. <https://doi.org/10.3390/ijms23020585>.
- Moo-Young, M. (2019). *Comprehensive Biotechnology*. Elsevier.
- Morita, T., MacGregor, J. T., & Hayashi, M. (2011). Micronucleus assays in rodent tissues other than bone marrow. *Mutagenesis*, 26(1), 223—230. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq066>.
- Mortelmans, K., & Riccio, E. S. (2000). The bacterial tryptophan reverse mutation assay with *Escherichia coli* WP2. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455(1—2), 61—69. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(00\)00076-2](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(00)00076-2).
- Muta-ChromoPlate™ Basic Kit. (2025). *Biotoxicity*. Взято з <http://www.biotoxicity.com/index.php/ebpi-toxicity-tests/ames-tests/muta-chromoplate-basic-kit>.

- Müftügil, N., & Mocan, S. (1999). Genotoxic effects of UV-B on maize using *Tradescantia* and pollen mother cell tests. *Biologia Plantarum*, 42, 453—461. <https://doi.org/10.1023/A:1002155007390>.
- Nefic, H., & Musanovic, J. (2007). Genotoxicity testing of urban river water. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 58(4), 437. <https://doi.org/10.2478/v10004-007-0035-9>.
- Noorbakhsh Varnosfaderani, S. M., Ebrahimzadeh, F., Akbari Oryani, M., Khalili, S., Almasi, F., Mosaddeghi Heris, R., Payandeh, Z., Li, C., Nabi Afjadi, M., & Alagheband Bahrami, A. (2024). Potential promising anticancer applications of β -glucans: a review. *Bioscience reports*, 44(1), BSR20231686. <https://doi.org/10.1042/BSR20231686>.
- OECD (2016). Test No. 473: *In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration Test*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264264644-en>.
- OECD (2016). Test No. 487: *In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264264866-en>.
- OECD (2020). Test No. 471: *Bacterial Reverse Mutation Test*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264071247-en>.
- Palamarchuk, O., Dzhurenko, N., Steshenko, O., & Chetverniya, S. (2016). The post-Chornobyl consequences and possibilities of radiation safety in Ukraine-situation of problem. *After the Chernobyl Accident*, 177. <https://doi.org/10.15414/2016.b-p2.9788055215280>.
- Pan, J. W., Zheng, K., Ye, D., Yi, H. L., Jiang, Z. M., Jing, C. T., ..., & Zhu, M. Y. (2004). Aluminum-induced ultraweak luminescence changes and sister-chromatid exchanges in root tip cells of barley. *Plant Science*, 167(6), 1391—1399. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.07.015>.
- Park, J., Yoo, E.-J., Shin, K., Depuydt, S., Li, W., Appenroth, K.-J., Lillcrap, A. D., Xie, L., Lee, H., Kim, G., Saeger, J. D., Choi, S., Kim, G., Brown, M. T., & Han, T. (2022). Interlaboratory Validation of Toxicity Testing Using the Duckweed *Lemna minor* Root-Regrowth Test. *Biology*, 11(1), 37. <https://doi.org/10.3390/biology11010037>.
- Pietrini, F., Iannilli, V., Passatore, L., Carloni, S., Sciacca, G., Cerasa, M., & Zacchini, M. (2022). Ecotoxicological and genotoxic effects of dimethyl phthalate (DMP) on *Lemna minor* L. and *Spirodela polyrrhiza* L. Schleid plants under a short-term laboratory assay. *Science of the Total Environment*, 806, 150972. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150972>.
- Radić, S., Stipaničev, D., Cvjetko, P., Rajčić, M. M., Širac, S., Pevalek-Kozlina, B., & Pavlica, M. (2011). Duckweed *Lemna minor* as a tool for testing toxicity and genotoxicity of surface waters. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(2), 182—187. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.06.011>.
- Ramos, F. A., de Lima, S. G., da Silva, M. A. P., de Moura, C. M., Feitosa, C. M., & de Almeida, R. N. (2017). Assessment of mutagenic and cytotoxic potential of *Maytenus rigida* Mart. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27, 188—192. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.11.005>.
- Rathore, D., Jani, R. H., & Vadalia, K. R. (2010). Genotoxicity assessment of herbal drugs. *The Open Nutraceuticals Journal*, 3(1), 84—88. <https://doi.org/10.2174/1876396001003010084>.
- Rawat, P., Yadav, S., Jain, D., & Rai, G. K. (2018). Toxicological profile of herbal medicine. *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(4), 297—300. <https://doi.org/10.5958/0975-4385.2018.00055.2>.
- Ren, N., Atyah, M., Chen, W. Y., & Zhou, C. H. (2017). The various aspects of genetic and epigenetic toxicology: testing methods and clinical applications. *Journal of Translational Medicine*, 15, 1—13. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1218-4>.
- Ribeiro, L. R., Salvadori, D. M., & Marques, E. K. (2003). *Tradescantia* bioassays. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 540(2), 139—151. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(03\)00073-3](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(03)00073-3).
- Richmond, J. (2002). Refinement, reduction, and replacement of animal use for regulatory testing: future improvements and implementation within the regulatory framework. *ILAR journal*, 43(1), S63—S68. https://doi.org/10.1093/ilar.43.Suppl_1.S63.
- Rodrigues, D. S., & Maistro, E. L. (2011). Genotoxicity of *Copaifera* oil-resin in mammalian cells. *Genetics and Molecular Research*, 10(3), 1375—1382. <https://doi.org/10.4238/vol10-3gmr1172>.

Sharma, A., & Shanker, R. (2021). Standardized *Allium* test protocol. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 62(4), 304—313. <https://doi.org/10.1002/em.22427>.

Sivagourounadin, K. (2022). Mutagenic Toxicity Testing. In: Lakshmanan, M., Shewade, D. G., Raj, G. M. (eds). *Introduction to Basics of Pharmacology and Toxicology*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-5343-9_43.

Skrbic, N., Pedersen, A. K., Christensen, S. C., Hansen, H. C. B., & Rasmussen, L. H. (2020). A novel method for determination of the natural toxin ptaquiloside in ground and drinking water. *Water*, 12(10), 2852. <https://doi.org/10.3390/w12102852>.

Teixeira, R. O., Ferreira, P. M. P., de Almeida, R. N., & Anselmo, N. P. (2013). Cytogenetic effects of plant extracts. *Acta Botanica Brasilica*, 27, 87—94. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062013000100010>.

Tkachuk, N., & Zelena, L. (2022). An onion (*Allium cepa* L.) as a test plant. *Biota. Human. Technology*, 3, 50—59. <https://doi.org/10.58407/bht.3.22.5>.

Wessner, D. R., Maiorano, P. C., Kenyon, J., Pillsbury, R., & Campbell, A. M. (2000). Spot-overlay Ames test of potential mutagens. *Assoc. Biol. Lab. Educ.*, 22, 1—18.

Xue, J., Lei, D., Zhao, X., Hu, Y., Yao, S., Lin, K., ..., & Cui, C. (2022). Antibiotic residue and toxicity assessment of wastewater during the pharmaceutical production processes. *Chemosphere*, 291, 132837. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132837>.

Zeiger, E. (2019). Ames test history and future. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 60(10), 784—789. <https://doi.org/10.1002/em.22322>.

Zhang, H., Hu, L., Zhong, G., Huo, Z., Chen, Y., Zhao, S., & Huang, L. (2021). Preliminary assessment of genotoxic effects induced by radiation from EAST using *Vicia faba* micronucleus assay. *Journal of Radiological Protection*, 41(2), 239. <https://doi.org/10.1088/1361-6498/abe0d1>.