

ТОКСИКОЛОГИЯ (профилактическая, клиническая, экологическая)

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Илюшина Н.А., Егорова О.В., Аверьянова Н.С., Масальцев Г.В., Ракитский В.Н.

ГЕНОТОКСИЧНОСТЬ МОДЕЛЬНЫХ КОМБИНАЦИЙ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ТЕСТАХ НА БАКТЕРИЯХ *SALMONELLA TYPHIMURIUM* И ЭРИТРОЦИТАХ КОСТНОГО МОЗГА МЫШЕЙ *IN VIVO*

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, г. Мытищи, Московская область, Россия

В связи с поступлением на рынок всё большего количества препаративных форм пестицидов, содержащих 2 действующих вещества и более, широким использованием пестицидов в виде баковых смесей, а также с многократной обработкой сельскохозяйственных культур препаратами на основе соединений разных химических классов, представляется актуальным изучение воздействия таких смесей пестицидов на нецелевые организмы и здоровье населения. **Цель** исследования: оценка генотоксической активности комбинаций технических продуктов действующих веществ пестицидов.

Материал и методы. Исследована генотоксичность 4 комбинаций технических продуктов действующих веществ пестицидов (джереников): тиаметоксама/трипиконазола, глифосата/циперметрина, этофумезата/фенмедифама/десмедифама, имидаклоприда/имазалила/тиабендазола/тебуконазола – с использованием теста оценки обратных мутаций на бактериях (тест Эймса) и цитогенетического теста на основе учёта частоты микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга мышей *in vivo*.

Результаты. Комбинации тиаметоксама/трипиконазола, глифосата/циперметрина и имидаклоприда/имазалила/тиабендазола/тебуконазола не проявляли мутагенной активности в тесте Эймса и не оказывали кластогенного и анеугенного действия на эритроциты костного мозга млекопитающих. Смесью этофумезата, фенмедифама и десмедифама оказывала слабое генотоксическое действие, индуцируя зависимое от дозы статистически значимое увеличение частоты полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в костном мозге мышей.

Обсуждение. Наблюдаемая *in vivo* генотоксическая активность может быть обусловлена синергетическим действием этофумезата, фенмедифама и десмедифама, так как по отдельности ни один из технических продуктов не индуцировал образование микроядер в дозах до 2000 мг/кг массы тела.

Заключение. Проведённые исследования подтвердили генетическую безопасность 3 исследованных комбинаций пестицидов. Однако некоторые технические продукты действующих веществ пестицидов-аналогов (джереников) в составе одной препаративной формы, каждое из которых отдельно не обладает генотоксичностью, в комбинации могут оказывать генотоксическое действие, что свидетельствует о важности тестирования не только отдельных действующих веществ, но и их комбинаций.

Ключевые слова: пестициды; комбинации; генотоксичность.

Для цитирования: Илюшина Н.А., Егорова О.В., Аверьянова Н.С., Масальцев Г.В., Ракитский В.Н. Генотоксичность модельных комбинаций действующих веществ пестицидов в тестах на бактериях *Salmonella typhimurium* и эритроцитах костного мозга мышей *in vivo*. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2019; 63(4): 193-198.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0044-197X-2019-63-4-193-198>

Ilyushina N.A., Egorova O.V., Averianova N.S., Masaltsev G.V., Rakitskii V.N.

GENOTOXICITY OF MODEL COMBINATIONS OF PESTICIDE ACTIVE INGREDIENTS IN TESTS ON BACTERIA *SALMONELLA TYPHIMURIUM* AND MOUSE BONE MARROW ERYTHROCYTES *IN VIVO*

Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, Moscow region, 141014, Russian Federation

Studies of the impacts of pesticide mixtures on non-target organisms and public health are important in view of the increasing number of pesticide formulations containing two or more active substances

entering the market, the widespread use of pesticides in tank mixtures, as well as multiple treatments of crops with formulations of compounds belonging to different chemical classes.

Objective. To evaluate the genotoxic activity of combinations of technical grade active ingredients of pesticides.

Material and methods. The genotoxicity of 4 combinations of technical grade products of pesticide active ingredients (generics) was evaluated: thiamethoxam/triticonazole; glyphosate/cypermethrin; ethofumesate/phenmedipham/desmedipham; imidacloprid/imazalil/thiabendazole/tebuconazole using the bacterial reverse mutation test (Ames test) and the cytogenetic test based on the assessment of micronucleus incidence in mouse bone marrow polychromatic erythrocytes *in vivo*.

Results. The combinations of thiamethoxam/triticonazole, glyphosate/cypermethrin and imidacloprid/imazalil/thiabendazole/tebuconazole did not show mutagenic activity in the Ames test and clastogenic and aneugenic effects on the erythrocytes of mammalian bone marrow, which indicates their genetic safety. A mixture of ethofumesate, phenmedipham and desmedipham caused a weak genotoxic effect, inducing a dose-dependent, statistically significant increase in the incidence of micronucleated polychromatic erythrocytes in the mouse bone marrow.

Discussion. The observed genotoxic activity *in vivo* may be due to the synergistic effect of ethofumesate, phenmedipham and desmedipham, as each of the technical grade active ingredients separately did not induce micronuclei at doses up to 2000 mg/kg body weight.

Conclusion. Studies have confirmed the genetic safety of the three assessed pesticide combinations. However, some technical products of the active ingredients of analogous (generic) pesticides included in the same formulation and non-genotoxic individually may have a genotoxic effect in combination. The data indicate the importance of testing not only individual active ingredients but also their combinations.

Key words: pesticides; combinations; genotoxicity.

For citation: Ilyushina N.A., Egorova O.V., Averianova N.S., Masaltsev G.V., Rakitskii V.N. Genotoxicity of model combinations of pesticide active ingredients in tests on bacteria *Salmonella typhimurium* and mouse bone marrow erythrocytes *in vivo*. *Zdravookhranenie Rossiiskoi Federatsii (Health Care of the Russian Federation, Russian journal)*. 2019; 63 (4): 193-198. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0044-197X-2019-63-4-193-198>

For correspondence: Nataliya A. Ilyushina, Ph.D, Head of the Department of Genetic Toxicology, Institute of Hygiene, Toxicology of Pesticides and Chemical Safety, Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, Moscow region, 141014, Russian Federation. E-mail: ilyushina-na@mail.ru

Information about authors:

Ilyushina N.A., <http://orcid.org/0000-0001-9122-9465>
Egorova O.V., <http://orcid.org/0000-0003-4748-8771>
Averianova N.C., <http://orcid.org/0000-0002-2973-8776>
Masaltsev G.V., <http://orcid.org/0000-0003-1539-1633>
Rakitskii V.N., <https://orcid.org/0000-0002-9959-6507>

Contribution: Study conception and design – Ilyushina N.A.; acquisition and processing of data – Ilyushina N.A., Egorova O.V., Averianova N.S.; statistical data analysis – Masaltsev G.V.; analysis and interpretation of data – Ilyushina N.A.; text writing – Ilyushina N.A., Egorova O.V.; approval of the final version – Rakitskii V.N.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 05 August 2019

Accepted 13 August 2019

Введение

В соответствии с Федеральным законом «О безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами» от 19.07.1997 № 109-ФЗ¹ в России осуществляются регистрационные испытания пестицидов, по результатам которых делается заключение о возможности их государственной регистрации. В рамках таких испытаний изучают потенциальную канцерогенность и мутагенность пестицидов²,

чтобы не допустить попадание в окружающую среду опасных веществ, которые могут привести к тяжёлым последствиям для здоровья населения [1, 2].

Как правило, оценивают генотоксичность действующих веществ и отдельных компонентов препаративных форм пестицидов. Однако различные вспомогательные средства, входящие в состав препаративных форм, в сочетании с действующими веществами могут усиливать токсический эффект в отношении нецелевых организмов и оказывать генотоксическое действие. Так,

¹ Федеральный закон от 19.07.1997 № 109-ФЗ «О безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами». URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_15221/

² Методические указания МУ 1.2.3365-16. Оценка мутагенной активности пестицидов. М.: Федеральный центр гигиены и эпиде-

миологии Роспотребнадзора, 2016. URL: https://rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=7884

полиэтоксилированный таллоамин (РОЕА) – не-иногенное поверхностно-активное вещество, используемое в гербицидных препаратах на основе глифосата для повышения эффективности действующего вещества, оказался высокотоксичным для человека и животных [3, 4]. Кроме того, РОЕА индуцировал повреждения ДНК в клетках крови, печени и жабрах рыб [5, 6]. На основании данных, полученных *in vivo* и *in vitro* с использованием метода ДНК-комет, R.de Brito и соавт. пришли к выводу, что РОЕА является прямым генотоксикантом [7]. Кроме того, генотоксичными могут быть примеси в технических продуктах пестицидов [8, 9].

Для преодоления резистентности к отдельным пестицидам и повышения их эффективности постоянно разрабатывают и выпускают на рынок препаративные формы, содержащие 2 действующих вещества и более. Очень часто пестициды используют в виде баковых смесей [10]. Кроме того, в течение сезона проводят несколько обработок культур с применением препаратов на основе соединений разных химических классов. Поэтому в пищевых продуктах одновременно могут содержаться остаточные количества нескольких пестицидов [11, 12].

Присутствие нескольких действующих веществ пестицидов в многокомпонентных смесях может приводить к развитию аддитивных или синергетических генотоксических эффектов. Например, синергетический эффект был выявлен при действии низких концентраций эндосульфана и лямбда-цигалотрина [13], имидаклоприда и метамидофоса [14] в тесте Эймса. Дельтаметрин и тиаклоприд в смеси индуцировали образование микроядер и хромосомных aberrаций в клетках костного мозга крыс в большей степени, чем каждый пестицид отдельно [15]. При использовании метода ДНК-комет также был обнаружен синергизм смесей пестицидов: монокротофос + карбофуран, эндосульфан + хлорпирифос, монокротофос + карбофуран [16] и паратион-метил + карбофуран + альфа-гексахлорциклогексан [17].

Препаративные формы таких негенотоксичных действующих веществ, как дельтаметрин и метсульфулон-метил, вызывали зависимое от дозы стойкое увеличение частоты пуфов в политенных хромосомах *Drosophila melanogaster*, нарушение роста и отклонения в онтогенетическом развитии [18]. Препарат на основе карбарила и метальдегида повышал частоту хромосомных aberrаций в клетках *Allium cepa* [19].

В свете данных о воздействии смесей действующих веществ и разных препаративных форм пестицидов на генетические структуры представляется актуальным исследование генотоксичности таких комбинаций с целью обеспечения безопасного для здоровья населения применения пестицидов.

Материал и методы

Исследовали 4 комбинации технических продуктов действующих веществ пестицидов: тиаметоксама/трификонозола, глифосата/циперметрина, этофумезата/фенмедифама/десмедифама и имидаклоприда/имазалила/тиабендазола/тебуконазола с использованием метода оценки обратных мутаций на бактериях (тест Эймса)³ [20, 21] и цитогенетического теста на основе учёта частоты микроядер в эритроцитах костного мозга мышей *in vivo* [21, 22].

Тест Эймса проводили в стандартном варианте на чашках Петри как в условиях без метаболической активации, так и в присутствии микросомной активирующей смеси (МАК) с использованием штаммов *Salmonella typhimurium* TA97, TA98, TA1535, TA100 и TA102, полученных из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов. Необходимые среды и растворы готовили, как описано в [23]. В качестве положительных контролей использовали 2-аминоантрацен (в присутствии МАК), 9-аминоакридин (ТА97), 2-нитрофлуарен (ТА98), азид натрия (ТА100, ТА1535), метилметансульфонат (ТА102) (в отсутствие МАК). Постмитохондриальную фракцию печени крыс (S9, 20–22 мг/мл белка) получали после индукции печёночных оксигеназ внутрибрюшинным введением Арохлора 1254 (35 мг/кг массы тела) самцам белых крыс со средней массой тела 180–200 г, ежедневно в течение 5 сут до эвтаназии (CO₂). Отрицательным контролем служил диметилсульфоксид или 0,2 М калий-фосфатный буфер. Учитывали число ревертантных колоний в контрольных и опытных чашках после 48–72 ч инкубации при 37 ± 2 °С.

Микроядерный тест осуществляли с использованием гибридных мышей линии СВА×С57BL6 и мышей линии CD-1 обоих полов, по 5 животных в каждой группе. Животным в группах положительного контроля вводили циклофосамид в дозе 40 мг/кг массы тела. В качестве отрицательного контроля использовали наполнитель (1% крахмал в воде). Смесей пестицидов и наполнитель вводили внутрижелудочно 2 раза с интервалом в 24 ч. Циклофосамид вводили внутрижелудочно 1 раз, одновременно со 2-м введением в остальных группах. Мышей умерщвляли через 22 ч после последней обработки методом цервикальной дислокации. Из бедренных костей извлекали костный мозг и готовили мазки на предметных стёклах (по 2 стекла на животное). Мазки сушили на воздухе, фиксировали и красили, используя набор «Лейкодиф 200». Микроскопический анализ проводили на микроскопе «Nikon Eclipse Ci-L», подсчитывая не менее 2000 полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) на микропрепарат (не менее 4000 ПХЭ на животное) для оценки доли ПХЭ с микроядрами и

³ ГОСТ 32376–2013. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Метод оценки обратных мутаций на бактериях. М. : Стандартинформ, 2014. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200110800>

не менее 250 клеток на каждом микропрепарате (не менее 500 клеток на животное) для оценки соотношения ПХЭ и нормохроматофильных эритроцитов.

Статистический анализ результатов исследования проводили в соответствии с рекомендациями OECD [20, 22] в программе SPSS Statistics 22.0 (IBM, США). Необходимая статистическая мощность была достигнута соблюдением рекомендованного в документах OECD количества наблюдений. Для обработки данных, полученных на бактериях, использовали тест *t*-Даннета для парных сравнений с отрицательными контролем и ранговый односторонний коэффициент корреляции Спирмена для оценки зависимости количества ревертантов от концентрации тестируемых смесей пестицидов [24]. Результаты, полученные в микроядерном тесте *in vivo*, анализировали в рамках двухфакторной регрессионной модели для распределения Пуассона (доза и пол) [25]; сравнение с группами отрицательного контроля осуществляли с помощью построения 95% доверительных интервалов Вальда для каждой группы; наличие зависимости эффекта от дозы оценивали с использованием критерия Мантеля–Хензеля [26].

Результаты

Перед тестированием комбинаций пестицидов были проведены исследования каждого технического продукта отдельно. В тесте Эймса использовали следующие диапазоны концентраций: тиабендазола и имазалила 0,05–1 мг; циперметрина и тебуконазола 0,05–2,5 мг; этофумезата, десмедифама, имидаклоприда, тиабендазола, тиаметоксама и глифосата – 0,05–5,0 мг на чашку Петри. В тесте *in vivo* мышам линии CD-1 вводили дозы циперметрина 15–60 мг, имидаклоприда 30–120 мг, тиаметоксама 87,5–350 мг, имазалила 50–300 мг, тебуконазола 250–1000 мг и тритриконазола, десмедифама, феномедифама, глифосата и тиабендазола – 500–2000 мг/кг массы тела соответственно. Ни в одном из тестов не выявлено статистически значимых генотоксических эффектов (данные не показаны).

Комбинация тиаметоксама/тритриконазола в соотношении 6:1 по массе не приводила к повышению частоты индукции генных мутаций в тесте Эймса (на 5 штаммах *Salmonella typhimurium*, в дозах 0,05; 0,16; 0,5; 1,0; 1,6; 2,5 и 5 мг/чашка и не индуцировала образование микроядер в ПХЭ костного мозга мышей линий СВА×С57ВL6 и CD-1 (в дозах 20/3,3, 60/10 и 300/50 мг тиаметоксама/тритриконазола на 1 кг массы тела соответственно).

В случае сочетания глифосата и циперметрина также не выявлено мутагенной активности ни в тесте Эймса (2 штамма, соотношение технических продуктов 1:1, дозы 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 мг/чашка), ни в микроядерном тесте (мыши линии CD-1, соотношение 33,3:1, дозы 500/15, 1000/30 и 2000/60 мг/кг массы тела).

Результаты оценки мутагенной активности смеси технических продуктов имидаклоприда/

имазалила/тиабендазола/тебуконазола в соотношении 7,5 : 1,5 : 1,5 : 1,0 по массе соответственно в тесте оценки обратных генных мутаций на бактериях в концентрациях 0,05; 0,16; 0,5; 1,6 и 5,0 мг/чашка свидетельствуют об отсутствии способности указанной комбинации индуцировать генные мутации у бактерий *Salmonella typhimurium*. В микроядерном тесте *in vivo* на мышях линии CD-1 смесь технических продуктов имидаклоприда, имазалила, тиабендазола, тебуконазола в соотношении 1/1/1/1 (дозы каждого пестицида в смеси составляли 7,5, 15, 30 и 60 мг/кг массы тела) не вызывала статистически значимого повышения частоты индукции микроядер в ПХЭ по сравнению с одновременно оцениваемым отрицательным контролем. Кроме того, не выявлено значимой линейной зависимости частоты образования микроядер с увеличением дозы.

Смесь 3 технических продуктов – этофумезата, феномедифама и десмедифама (1,6:1,3:1) в дозах 0,05; 0,16; 0,5; 1,6 и 2,5 мг/чашка не индуцировала точковых мутаций в тесте на бактериях *Salmonella typhimurium*.

Однако в микроядерном тесте *in vivo* на мышях было выявлено генотоксическое действие такой комбинации. В то время как отдельные действующие вещества не вызывали повышения частоты образования микроядер в ПХЭ костного мозга мышей вплоть до концентрации 2000 мг/кг массы тела (максимальная доза, рекомендуемая согласно руководству OECD № 474 [22]), при введении их комбинации наблюдали статистически значимый эффект (см. таблицу, рис. 1).

У мышей СВА×С57ВL6 увеличилась частота образования ПХЭ с микроядрами относительно отрицательного контроля в 1,7, 2,2 и 2,3 раза при дозах 516,75 (211 + 171,5 + 134,25), 1033,5 (422 + 343 + 268,5) и 2067 (844 + 686 + 537) мг/кг массы тела соответственно. Мыши линии CD-1 оказа-

95% доверительные интервалы Вальда для среднего значения частоты полихроматофильных эритроцитов с микроядрами (%) (для распределения Пуассона)

Дозы смеси пестицидов (этофумезат + феномедифам + десмедифам),	Линия мышей	
	CD-1	СВА×С57ВL/6
Исторический отрицательный контроль	0,09 0,10 _{0,11}	0,09 0,10 _{0,11}
Сопутствующий отрицательный контроль (0 мг/кг массы тела)	0,12 0,15 _{0,20}	0,03 0,05 _{0,08}
516,75 (211 + 171,5 + 134,25) мг/кг массы тела	0,21 0,26 _{0,31}	0,08 0,10 _{0,14}
1033,5 (422 + 343 + 268,5) мг/кг массы тела	0,28 0,34 _{0,40}	0,13 0,17 _{0,22}
2067 (844 + 686 + 537) мг/кг массы тела	0,30 0,35 _{0,41}	0,19 0,23 _{0,29}

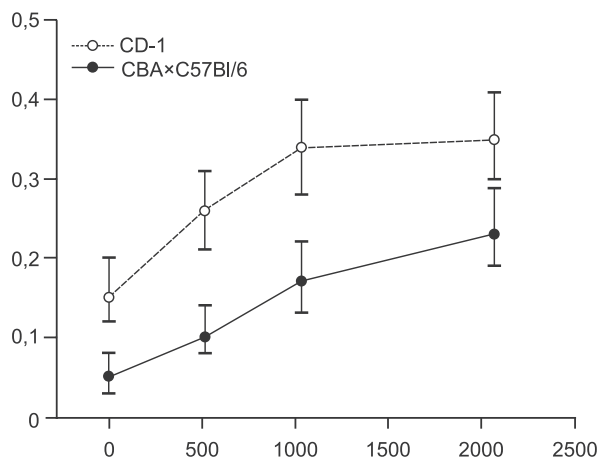


Рис. 1. Индукция микроядер в эритроцитах костного мозга мышей при введении комбинации технических продуктов – этофумезата, фенмедифама и десмедифама в соотношении 1,6 : 1,3 : 1 по массе соответственно.

По оси абсцисс – доза комбинации пестицидов (мг/кг массы тела); по оси ординат – средняя частота образования полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в (%).

Столбцы ошибок: 95% доверительные интервалы Вальда для распределения Пуассона.

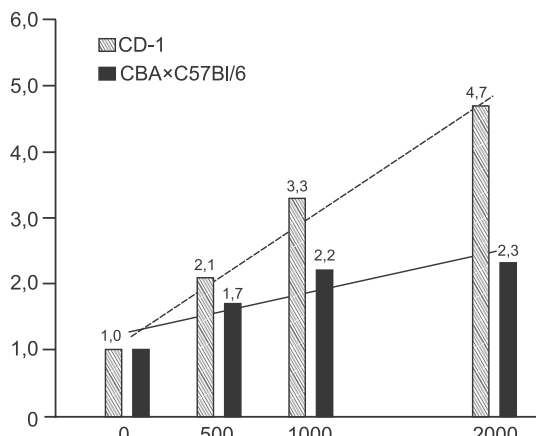


Рис. 2. Кратность увеличения средней частоты образования полихроматофильных эритроцитов с микроядрами при действии смеси этофумезата, фенмедифама и десмедифама по сравнению с сопутствующим отрицательным контролем.

По оси абсцисс – доза комбинации пестицидов (в мг/кг массы тела); по оси ординат – кратность.

лись еще более чувствительными (частота образования микроядер повысилась в 2,1, 3,3 и 4,7 раза по сравнению с сопутствующим отрицательным контролем при тех же дозах) (рис. 2).

Кроме того, обнаружена значимая зависимость индукции образования микроядер от дозы смеси пестицидов ($p = 0,000$).

Обсуждение

Полученные данные могут свидетельствовать о вероятном синергетическом действии этофумезата, фенмедифама и десмедифама в указанном тесте, так как по отдельности ни один из технических продуктов не индуцировал образование микроядер

в диапазоне доз 500–2000 мг/кг массы тела. Генотоксический эффект комбинации пестицидов был выявлен при использовании меньших количеств каждого компонента смеси: этофумезата – в 4,7 раза, фенмедифама – в 5,8 раза и десмедифама – в 7,5 раза меньше, чем максимальное количество этих веществ в отдельных экспериментах. С другой стороны, можно предположить, что наблюдаемый эффект обусловлен генотоксичными примесями, присутствующими в технических продуктах на низком уровне, которые в случае комбинированного действия индуцируют образование микроядер. Для выяснения причин наблюдаемого эффекта необходимы дополнительные исследования.

Следует отметить, что частота образования ПХЭ с микроядрами даже при самой высокой исследуемой дозе не превышала 0,35% у самок и 0,36% у самцов, т.е. незначительно выходила за верхний предел диапазона исторического отрицательного контроля в лаборатории (0,00–0,25%), что с биологической точки зрения можно расценивать как очень низкий уровень генотоксичности. Таким образом, в целом данная смесь может быть отнесена к III классу опасности по критерию «мутагенность», т.е. к умеренно опасным веществам⁴.

Заключение

Проведённые исследования показали, что 3 исследуемые комбинации действующих веществ пестицидов: тиаметоксама/трифлюрометрифосата/циперметрина, имидаклоприда/имазазила/тиабендазола/тебуконазола – не проявляли мутагенной активности в тесте Эймса и не оказывали кластогенного и анеугенного действия на эритроциты костного мозга млекопитающих, что свидетельствует о генетической безопасности пестицидных препаратов, содержащих такие комбинации действующих веществ. Тем не менее некоторые технические продукты действующих веществ пестицидов-дженериков, которые применяются в сельском хозяйстве в составе одной препаративной формы и по отдельности не обладают генотоксичностью, в комбинации могут оказывать генотоксическое действие, как показано для смеси этофумезата, фенмедифама и десмедифама. Поэтому при проведении токсиколого-гигиенической оценки безопасности пестицидов в качестве важного показателя могут быть использованы результаты исследования генотоксической активности не только отдельных действующих веществ, но и их комбинаций, а также препаративных форм в целом (особенно препаратов, содержащих 2 действующих вещества и более) и комбинаций разных препаратов, применяемый в баковых смесях.

⁴СанПиН 1.2.2584-10. Гигиенические требования к безопасности процессов испытаний, хранения, перевозки, реализации, применения, обезвреживания и утилизации пестицидов и агрохимикатов. М. : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. URL: <http://docs.cntd.ru/document/902204851>

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Илюшина Н.А.; сбор и обработка материала – Илюшина Н.А., Егорова О.В., Аверьянова Н.С.; статистическая обработка – Масальцев Г.В.; анализ и интерпретация данных – Илюшина Н.А.; написание текста – Илюшина Н.А., Егорова О.В.; утверждение окончательного варианта статьи – Ракитский В.Н.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

(пп. 3–7, 10, 13–17, 19, 20, 22–26 см. REFERENCES)

1. Ракитский В.Н., Ревазова Ю.А., Илюшина Н.А. Стратегия и тактика оценки мутагенности пестицидов. *Токсикологический вестник*. 2015; 134(5): 10-3.
2. Илюшина Н.А., Егорова О.В., Масальцев Г.В., Аверьянова Н.С., Ревазова Ю.А. Мутагенность и канцерогенность пестицидов, опасность для здоровья человека. Систематический обзор. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2017; 61(2): 96-102.
8. Илюшина Н.А., Егорова О.В., Масальцев Г.В., Аверьянова Н.С. Изучение генотоксичности технических продуктов пестицида – производного бензоилциклогексан-1,3-диона. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(6): 509-13.
9. Илюшина Н.А., Аверьянова Н.С., Масальцев Г.В., Ревазова Ю.А. Сравнительное исследование генотоксической активности технических продуктов глифосата в микроядерном тесте *in vivo*. *Токсикологический вестник*. 2018; 4(151): 24-8.
11. Бычков К.В. Уравнение с двумя известными. *Контроль качества продукции*. 2014; 11: 35-40.
12. Шубина А.Г., Синюткина С.Е., Шубин Р.А. Содержание пестицидов в зерне злаковых культур и пахотных почвах ряда районов Тамбовской области. *Вестник Тамбовского государственного технического университета*. 2009; 15(1): 208-12.
18. Голосова А.В., Пак И.В., Кузнецова Т.Ю. Генотоксические эффекты пестицидов: дельтаметрина (Дециса) и метсульфуронметила (Магнума). *Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения*. 2010; 10: 101-7.
21. Руководство Р 1.2.3156–13. Оценка токсичности и опасности химических веществ и их смесей для здоровья человека. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014.

REFERENCES

1. Rakitskiy V.N., Revazova Yu.A., Ilyushina N.A. Strategy and tactics of the pesticide mutagenicity assessment. *Toksikologicheskii vestnik*. 2015; 134(5): 10-3. (in Russian)
2. Ilyushina N.A., Egorova O.V., Masal'tsev G.V., Aver'yanova N.S., Revazova Yu.A. The mutagenicity and carcinogenicity of pesticides and hazards for human health: A systematic review. *Zdravookhranenie Rossiyskoy Federatsii*. 2017; 61(2): 96-102. (in Russian)
3. European Food Safety Authority (EFSA). Request for the evaluation of the toxicological assessment of the co-formulant POE-tallowamine. *EFSA Journal*. 2015; 13(11): 4303.
4. Brausch J.M., Smith P.N. Toxicity of three polyethoxylated tallowamine surfactant formulations to laboratory and field collected fairy shrimp, *Thamnocephalus platyurus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2007; 52(2): 217-21. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00244-006-0151-y>
5. Guilherme S., Santos M.A., Barroso C., Galvao I., Pacheco M. Differential genotoxicity of Roundup® formulation and its constituents in blood cells of fish (*Anguilla anguilla*): considerations on chemical interactions and DNA damaging mechanism. *Ecotoxicology*. 2012; 21(5): 1381-90. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0892-5>
6. Guilherme S., Gaivão I., Santos M.A., Pacheco M. DNA damage in fish (*Anguilla anguilla*) exposed to a glyphosate-based herbicide—elucidation of organ specificity and the role of oxidative stress. *Mutat. Res.* 2012; 743(1-2): 1-9. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.10.017>

7. De Brito Rodrigues L., Costa G.G., Thá E.L., Silva L.R., Oliveira R., Leme D.M., et al. Impact of the glyphosate-based commercial herbicide, its components and its metabolite AMPA on non-target aquatic organisms. *Mutat. Res.* 2019; 842: 94-101. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.05.002>
8. Ilyushina N.A., Egorova O.V., Masal'tsev G.V., Aver'yanova N.S. Studies of the genotoxicity of technical products of the benzoylcyclohexane-1,3-dione derivative pesticide. *Gigiena i sanitariya*. 2018; 97(6): 509-13. (in Russian)
9. Ilyushina N.A., Aver'yanova N.S., Masal'tsev G.V., Revazova Yu.A. Comparative investigation of genotoxic activity of glyphosate technical products in the micronucleus test *in vivo*. *Toksikologicheskii vestnik*. 2018; 151(4): 24-8. (in Russian)
10. Das S.K. Scope and relevance of using pesticide mixtures in crop protection: A critical review. *IJESTR*. 2014; 2(5): 119-23.
11. Bychkov K.V. An equation with two unknown variables. *Kontrol' kachestva produktsii*. 2014; (11): 35-40. (in Russian)
12. Shubina A.G., Sinyutina S.E., Shubin R.A. Pesticide content in cereal grains and arable soils in several areas of the Tambov region. *Vestnik Tambovskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta*. 2009; 15(1): 208-12. (in Russian)
13. Saleem U., Ejaz S., Ashraf M., Omer M.O., Altaf I., Batool Z., et al. Mutagenic and cytotoxic potential of Endosulfan and Lambda-cyhalothrin – *in vitro* study describing individual and combined effects of pesticides. *J. Environ. Sci. (China)*. 2014; 26(7): 1471-9. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.05.013>
14. Karabay N.U., Oğuz M.G. Cytogenetic and genotoxic effects of the insecticides, imidacloprid and methamidophos. *Genet. Mol. Res.* 2005; 4(4): 653-62.
15. Şekeroğlu V., Şekeroğlu Z.A., Kefelioğlu H. Cytogenetic effects of commercial formulations of deltamethrin and/or thiacloprid on wistar rat bone marrow cells. *Environ. Toxicol.* 2013; 28(9): 524-31. Doi: <https://doi.org/10.1002/tox.20746>
16. Das P.P., Shaik A.P., Jamil K. Genotoxicity induced by pesticide mixtures: *in-vitro* studies on human peripheral blood lymphocytes. *Toxicol. Ind. Health*. 2007; 23(8): 449-58. Doi: <https://doi.org/10.1177/0748233708089040>
17. Abhishek A., Ansari N.G., Shankwar S.N., Jain A., Singh V. *In vitro* toxicity evaluation of low doses of pesticides in individual and mixed condition on human keratinocyte cell line. *Bioinformation*. 2014; 10(12): 716-20. Doi: <https://doi.org/10.6026/97320630010716>
18. Golosova A.V., Pak I.V., Kuznetsova T.Yu. Genotoxic effects of the pesticides: deltamethrin (Decis) и metsulfuron-methyl (Magnum). *Vestnik ekologii, lesovedeniya i landshaftovedeniya*. 2010; (10): 101-7. (in Russian)
19. Asita A.O., Hatane B.H. Cytotoxicity and genotoxicity of some agropesticides used in Southern Africa. *J. Toxicol. Environ. Health Sci.* 2012; 4(10): 175-84. Doi: <https://doi.org/10.5897/JTEHS12.052>
20. OECD. Test No. 471. Bacterial reverse mutation test. In: *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4: Health Effects*. Paris: OECD Publishing; 1997. Doi: <https://doi.org/10.1787/9789264071247-en>
21. Guideline R 1.2.3156-13. Assessment of toxicity and hazard of chemicals and their mixtures for human health. Moscow; 2014. (in Russian)
22. OECD. Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. In: *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4: Health Effects*. Paris: OECD Publishing; 2016. Doi: <https://doi.org/10.1787/9789264264762-en>
23. Maron D.M., Ames B.N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.* 1983; 113(3-4): 173-215. Doi: [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(83\)90010-9](https://doi.org/10.1016/0165-1161(83)90010-9)
24. Corder G.W., Foreman D.I. *Nonparametric Statistics: A Step-by-Step Approach*. Hoboken, New Jersey, USA: John Wiley and Sons; 2014.
25. McCullagh P., Nelder J.A. *Generalized Linear Models*. London, GB: Chapman and Hall/CRC; 1989.
26. Agresti A. *Categorical Data Analysis*. Hoboken, New Jersey, USA: John Wiley and Sons; 2013.