

Assessment of the Cytogenotoxic Effects of the Medicinal Plant *Echium amoenum* Fisch. & C. A. Mey. Ethanolic Extract Using the *Allium cepa* Model

Fatemeh Hajmoradi^{1*}  | Mehdi Kakaei² 

1- Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

2- Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran

*Corresponding author ✉: f.hajmoradi@pnu.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: April 6, 2026;

Received in revised form: May 18, 2026;

Accepted: May 25, 2026;

Available online: June 30, 2026

Keywords:

Biological assay,

Mitotic index,

Root growth inhibition,

Chromosomal aberrations

ABSTRACT

Echium amoenum Fisch. & C. A. Mey. (Iranian borage; Gol-e-Gavzaban) is traditionally used for the treatment of various ailments; however, limited information is available regarding its potential cytotoxic and genotoxic effects. Therefore, this study aimed to evaluate the cytotoxic and genotoxic effects of an ethanolic extract of *E. amoenum* at different concentrations (0.5, 1, 2, and 4 mg mL⁻¹) using the *Allium cepa* root tip assay over a 72-hour period under dark conditions. The control group (negative control) was treated with distilled water. Cytotoxicity was assessed by measuring the mitotic index (MI) and root growth inhibition, while genotoxicity was evaluated by determining the total frequency of chromosomal aberrations. The results demonstrated that with increasing extract concentration, the percentage MI decreased in a concentration-dependent manner, such that the MI declined from 11.42 ± 0.12% at 0.5 mg mL⁻¹ to 6.56 ± 0.22% at 4 mg mL⁻¹ (P < 0.05). Furthermore, the effective concentration (EC₅₀) based on 50% inhibition of root length growth was calculated as 3.12 mg.mL⁻¹. Regarding genotoxicity, the total percentage of chromosomal aberrations increased from 3.51 ± 0.12% in the control group to 41.25 ± 0.24% at the highest concentration (P < 0.05). The types of aberrations observed included chromosomal stickiness, c-mitosis, laggard chromosomes, anaphase bridges, and micronuclei. Therefore, based on the findings of the present study, it can be concluded that the *E. amoenum* extract exhibits significant cytotoxic and genotoxic effects under the test conditions, suggesting the presence of compounds with antiproliferative/anticancer potential in this extract, which warrants further investigations.



Cite this article: Hajmoradi, F. and Kakaei, M. (2026). Assessment of the cytogenotoxic effects of the medicinal plant *Echium amoenum* Fisch. & C. A. Mey. ethanolic extract using the *Allium cepa* model. *Plant Genetic Research*, 13(1): 175–188 (In Persian).

DOI: <https://doi.org/10.22034/pgr.2026.2096179.1044>

Introduction

The increasing global use of medicinal plants as complementary and alternative therapeutic agents has highlighted the need for comprehensive scientific evaluation of their efficacy and safety. *Echium amoenum* Fisch. & C. A. Mey. (Iranian borage), a member of the Boraginaceae family, is one of the most widely used medicinal plants in traditional Persian medicine. It has been traditionally employed for the management of inflammatory disorders, anxiety, infectious diseases, urinary tract disorders, diabetes, and gastrointestinal ailments. Pharmacological studies have further reported antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, immunomodulatory, anxiolytic, and antiviral activities for this species. Despite its ethnopharmacological status, empirical data regarding its cytotoxic and genotoxic effects remain scarce. This knowledge gap prompted this study to evaluate the safety profile of an ethanolic extract from the aerial parts of *E. amoenum*.

Materials and Methods

The cytotoxic and genotoxic effects of the ethanolic extract of *E. amoenum* were evaluated using the *Allium cepa* chromosome aberration assay, a plant bioassay for genetic toxicity assessment. Healthy onion bulbs were exposed to four concentrations (0.5, 1, 2, and 4 mg mL⁻¹) for 72 h, with distilled water as the negative control. Cytotoxicity was assessed by determining the mitotic index (MI) and root growth inhibition based on root length. Genotoxicity was evaluated by examining chromosomal abnormalities in root meristematic cells under a light microscope. Treatments were conducted in five replicates. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's HSD post-hoc test ($p < 0.05$) with SPSS version 22. Results are presented as mean $\pm$ SD.

Results and Discussion

Exposure of *A. cepa* roots to *E. amoenum* ethanolic extract caused significant concentration-dependent cytotoxic and genotoxic effects. The mitotic index (MI) declined from $11.42 \pm 0.49\%$ at 0.5 mg mL⁻¹ to $6.56 \pm 0.29\%$ at 4 mg mL⁻¹ (control: $12.85 \pm 0.57\%$; ANOVA: $F_{4,20} = 116.34$, $p < 0.001$; all treated groups significantly different from control, $p < 0.05$, Tukey's test). Root growth inhibition increased with concentration; the EC₅₀ was 3.12 mg mL⁻¹ (linear regression: $y = -12.034x + 87.787$, $R^2 = 0.8083$). Genotoxic assessment showed a significant increase in total number of abnormal dividing cells (TADC) from $6.54 \pm 0.29\%$ (control) to $48.21 \pm 0.30\%$ at 4 mg mL⁻¹ ($F_{4,20} = 299.38$, $p < 0.001$; all concentrations significantly different from control, $p < 0.05$, except between 2 and 4 mg mL⁻¹, $p > 0.05$, Tukey's test). The most frequent aberrations were chromosome stickiness, followed by c-mitosis, lagging chromosomes, anaphase bridges, and micronuclei. Collectively, these findings demonstrate the substantial cytotoxic and genotoxic potential of the extract under the test conditions, meriting further studies to identify active compounds and clarify the mechanisms in more complex biological systems. The concentration-dependent reduction in the mitotic index indicates that the ethanolic extract of *E. amoenum* exerts a pronounced antiproliferative effect on meristematic cells. This inhibitory activity may be associated with disruption of cell cycle progression, suppression of DNA synthesis, or interference with spindle apparatus formation, mechanisms that have been widely reported for numerous plant-derived secondary metabolites. The EC₅₀ value of 3.12 mg mL⁻¹ further corroborates the substantial anti-mitotic activity of the extract. The induction of c-mitosis, in particular, strongly indicates interference with tubulin polymerization, a mechanism of significant pharmacological interest for anticancer drug development. Meanwhile, the presence of anaphase bridges, laggards, and micronuclei confirms a clastogenic potential, implying that the extract's constituents are capable of causing chromosomal breakage and improper segregation. The predominance of sticky chromosomes may arise from DNA depolymerization, protein denaturation, or chromatin entanglement. Overall, the observed cytogenotoxic responses are consistent with previous

studies evaluating medicinal plant extracts using the *Allium cepa* assay, supporting the reliability of this bioassay as a sensitive and cost-effective method for preliminary genetic toxicity screening.

Conclusion

Based on the present findings, the ethanolic extract of *E. amoenum* induced concentration-dependent reductions in the mitotic index and root growth, alongside increased chromosomal aberrations in the *A. cepa* model, with an EC_{50} of 3.12 mg mL^{-1} for root growth inhibition. These results suggest cytotoxic and genotoxic potential under *in vitro* conditions, indicating interference with cell division and chromosomal stability *in vivo*. However, given the *in vitro* nature of this study, extrapolation to animal or human systems is limited and requires further investigation. Therefore, the present data should be considered as preliminary evidence of biological activity in a standard plant model, rather than definitive proof of safety or therapeutic efficacy. Future studies are needed to identify bioactive compounds, clarify molecular mechanisms, and assess reproducibility using appropriate cellular and animal models and detailed chemical analyses.

Author Contributions

F. Hajmoradi: Conceptualization; methodology; data analysis; writing original draft; review and editing. M. Kakaei: Contribution to data analysis, review and editing. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

Data Availability Statement

Data available on request from the authors.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge Payame Noor University for providing the laboratory facilities for this study.

Ethical Considerations

The authors avoided data fabrication, falsification, and plagiarism, and any form of misconduct.

Funding

No funding was received for this study.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

ارزیابی اثر سمیت سلولی-ژنی عصاره اتانولی گیاه دارویی گل گاوزبان (*Echium amoenum* Fisch. & C. A. Mey.) با استفاده از مدل *Allium cepa*

فاطمه حاج‌مرادی^{*۱} | مهدی کاکایی^۲

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۱/۱۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۲/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۰۴

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۴/۰۹

واژگان کلیدی:

آزمون زیستی،

شاخص میتوزی،

مهاری رشد ریشه،

ناهنجاری‌های کروموزومی

گل گاوزبان (*Echium amoenum* Fisch. & C. A. Mey.) در طب سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف مفید است، با این حال، اثرات سمیت سلولی و سمیت ژنی این گیاه به خوبی بررسی نشده است؛ بنابراین، این مطالعه به منظور بررسی اثرات سمیت سلولی و سمیت ژنی عصاره‌ی اتانولی گل گاوزبان در غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی گرم بر میلی لیتر) با استفاده از آزمون نوک ریشه *Allium cepa* به مدت ۷۲ ساعت در شرایط تاریکی انجام شد. گروه شاهد (کنترل منفی) در این آزمایش با آب مقطر تیمار گردید. سمیت سلولی با اندازه‌گیری شاخص میتوزی (MI) و مهاری رشد ریشه، و سمیت ژنی با تعیین فراوانی کل ناهنجاری‌های کروموزومی ارزیابی شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، درصد شاخص میتوزی به صورت وابسته به غلظت، کاهش یافت به طوری که MI از $0/12 \pm 11/42$ درصد در غلظت ۰/۵ به $0/22 \pm 6/56$ درصد در غلظت ۴ میلی گرم بر میلی لیتر رسید ($P < 0/05$). همچنین، غلظت مؤثر (EC_{50}) بر اساس مهاری ۵۰ درصدی رشد طول ریشه، $3/12$ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه گردید. در بررسی سمیت ژنی، درصد کل ناهنجاری‌های کروموزومی از $0/12 \pm 3/51$ درصد در گروه شاهد به $0/24 \pm 41/25$ درصد در بالاترین غلظت افزایش یافت ($P < 0/05$). انواع ناهنجاری‌های مشاهده شده شامل چسبندگی کروموزومی، c-میتوز، کروموزوم‌های سرگردان (لاگارد)، پل‌های آنافازی و میکرونوکلئوس بودند. بنابراین، بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت که عصاره‌ی گیاه گل گاوزبان تحت شرایط آزمون دارای اثرات سمیت سلولی و سمیت ژنی قابل توجهی است که حاکی از حضور ترکیبات با توان ضدتکثیری/ضدسرطانی در این عصاره بوده و نیازمند بررسی‌های بیشتر می‌باشد.

مقدمه

گل‌گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch. & C. A. Mey) از تیره گاوزبان (Boraginaceae)، گیاهی یک‌ساله است که در اروپا، نواحی مدیترانه‌ای و شمال ایران می‌روید (Abed et al., 2014). گل‌ها و برگ‌های آن دارای ارزش دارویی بوده و خواص ضدالتهاب، آنتی‌اکسیدان، ضداضطراب، ضدویروس، ادرارآور و نیز کاربرد در درمان بیماری‌های عفونی و پیشگیری از دیابت و سرطان معده دارد (Abed et al., 2014; Azizi et al., 2018; Patocka and Navratilova, 2019). مطالعات فیتوشیمیایی وجود آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدهای پیرولیزیدین و اسیدهای چرب از جمله گاما-لینولنیک را در این گیاه تأیید کرده‌اند (Daneshfar et al., 2011; Jamnani et al., 2023). متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی با تداخل در چرخه سلولی، تخریب DNA در فاز S یا جلوگیری از تشکیل رشته‌های دوک، اثرات سمیت‌سلولی و ژنی نشان می‌دهند (Gali-Muhtasib and Bakkar, 2002; Sehgal et al., 2006).

مطالعات کروموزومی و روش‌های سیتوژنتیک به‌طور گسترده در بررسی گیاهان دارویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Hajmoradi and Kakaie, 2021; Azizi et al., 2024; Zarei et al., 2024). آزمون نوک ریشه *A. cepa* به عنوان یکی از روش‌های بررسی‌های سیتولوژیکی توسط محققان زیادی در تعیین شاخص زیستی آلودگی محیطی (Camparoto et al., 2020; Leme and Marin-Morales, 2002)، بررسی عصاره‌های خام سیانوباکترها و همچنین ظرفیت ژنوتوکسیک گیاهان دارویی استفاده می‌شود (Tedesco and Laughinghouse, 2012; Owolarafe et al., 2020; Kuruppuarachchi et al., 2023). مطالعات پیشین با استفاده از این آزمون بر روی عصاره‌های گیاهان دارویی مختلف، الگوی مشابهی از اثرات سمیت‌سلولی و ژنی را نشان داده‌اند. به‌عنوان مثال، عصاره‌های اتانولی *Ziziphus mauritiana* باعث کاهش وابسته به غلظت شاخص میتوزی و افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی شدند (Owolarafe et al., 2020). در مطالعات دیگر، عصاره‌های *Lavandula stoechas* (Askin et al., 2010) و *Catharanthus roseus* (Das et al., 2022) نیز باعث القای ناهنجاری‌های

ساختاری کروموزوم و مهار تقسیم سلولی شده‌اند. آکینبورو و باکاره (Akinboro and Bakare, 2007) افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی همراه با کاهش شاخص میتوزی را نشانه‌ای از سمیت‌سلولی عصاره‌های گیاهی گزارش کردند. این یافته‌ها ضرورت ارزیابی سمیت‌سلولی و ژنی گیاهان دارویی را پیش از کاربرد درمانی تأکید می‌کنند، چراکه ترکیبات زیست‌فعال آن‌ها می‌توانند تقسیم سلولی و یکپارچگی ژنتیکی را مختل کنند. سمیت‌سلولی، که با شاخص میتوزی سنجیده می‌شود (Leme and Marin-Morales, 2009)، به توانایی آسیب به سلول‌های زنده از طریق مکانیسم‌های مختلف اشاره دارد (Aslantürk, 2018). در مقابل، سمیت ژنی به ایجاد جهش‌های نقطه‌ای یا تغییرات ساختاری/تعدادی کروموزوم‌ها گفته می‌شود (Ifeoma and Oluwakanyinsola, 2013; Tamokou and Kuete, 2014). آزمون *A. cepa* روشی معتبر، ساده و کم‌هزینه برای تشخیص این تغییرات کروموزومی است (Jayathilake and Jayewardena, 2021; Iqbal et al., 2019). تاکنون مطالعه سمیت ژنی و سمیت سلولی عصاره گیاه *E. amoenum* انجام نشده است؛ بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثرات سمیت ژنی و سمیت سلولی عصاره اندام هوایی این گیاه از طریق آزمون *A. cepa* است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: به‌منظور مطالعه سمیت سلولی و سمیت ژنی گیاه *E. amoenum* بر تقسیم میتوز انتهای ریشه گیاه *Allium* نمونه‌های گیاه *E. amoenum* در بهار سال ۱۴۰۱ از ارتفاعات خشک‌چال در منطقه الموت شرقی استان قزوین جمع‌آوری گردید. زیستگاه این گیاه، دامنه‌های کوهستانی با پوشش مرتعی و خاک لومی-شنی بود و نمونه‌ها در مرحله رویشی و گلدهی کامل برداشت شدند. مختصات جغرافیایی محل جمع‌آوری عبارت بود از ۲۹°۳۲'۳۶" شمالی و ۵۰°۳۰'۱۸" شرقی و ارتفاع آن از سطح دریا حدود ۲۹۰۰ متر ثبت گردید. نمونه‌ها با استفاده از منابع موجود شناسایی شدند (Rechinger, 1982).

عصاره‌گیری: عصاره گیاه مورد مطالعه طبق روشی که توسط سومونو و همکاران (Sunmonu et al., 2014) شرح داده شده است، تهیه شد. به این منظور، اندام هوایی گیاه شامل برگ‌ها و گل‌های گیاه به مدت پنج روز در سایه و در دمای اتاق خشک

شدند تا از تخریب ترکیبات حساس به حرارت جلوگیری شود. پس از خشک شدن کامل، نمونه‌ها با استفاده از خردکن برقی پودر شدند. پودر حاصل در ظروف پلاستیکی درب‌دار و در جای خشک و خنک نگهداری شد تا از جذب رطوبت و آلودگی جلوگیری شود. برای عصاره‌گیری، مقدار ۶۰ گرم از پودر خشک شده گیاه با ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به‌عنوان حلال در یک فلاسک شیشه‌ای مخلوط شد. مخلوط به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و با هم‌زدن مداوم به‌منظور استخراج کامل ترکیبات موثره نگهداری شد. سپس، مخلوط حاصل با استفاده از کاغذ صافی (Whatman شماره ۱) فیلتر شد تا ذرات جامد از محلول جدا شوند. محلول فیلتر شده در یک تبخیرکننده چرخشی (روتاری اواپراتور) تحت خلأ و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد تا اتانول به‌طور کامل تبخیر شود و عصاره غلیظ گیاه به‌دست آید. در نهایت، عصاره به‌دست آمده در یک ظرف شیشه‌ای تیره و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا از تخریب نوری و حرارتی ترکیبات فعال جلوگیری شود. این عصاره برای مطالعات سمیت سلولی-ژنی با استفاده از آزمون *A. cepa* مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون *Allium cepa*: به‌منظور مطالعه تقسیمات میتوزی در سلول‌های مریستم انتهایی ریشه *A. cepa*، پیازهای خوراکی (رقم محلی) با اندازه و وزن یکنواخت (قطر تقریبی ۲-۳ سانتی‌متر و وزن حدود ۲۰-۱۵ گرم) از بازار محلی تهیه شدند. برای شکستن دوره خواب و تحریک ریشه‌زایی همزمان، پیازها به‌مدت ۴ روز در دمای اتاق و در معرض هوای خشک قرار داده شدند تا پوسته‌های بیرونی کاملاً خشک شوند. سپس فلس‌های بیرونی خشک شده با دقت برداشته شدند و ریشه خراشیده شد به‌طوری‌که حلقه ریشه اولیه دست نخورده باقی ماند تا باعث ظهور ریشه‌های جدید شود. ریشه‌های به‌دست آمده برای سنجش‌های زیستی بر اساس شیوه‌نامه‌های استاندارد مورد استفاده قرار گرفتند (Fiskesjo, 1985; Akinboro and Bakare, 2007).

چهار غلظت از عصاره (۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌همراه گروه شاهد (آب مقطر) در نظر گرفته شد. در هر گروه تیماری از ۵ پیاز استفاده گردید. قاعده‌ی هر یک از پیازها

به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق (۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد) و در شرایط تاریکی کامل درون بشرهای ۱۰۰ میلی‌لیتری روی محلول‌های عصاره یا آب مقطر (شاهد) معلق شدند. محلول‌های تیمار هر ۲۴ ساعت تعویض شدند.

بررسی مهار رشد ریشه و محاسبه‌ی غلظت مؤثر ۵۰ درصد (EC_{50} : Half maximal effective concentration): در پایان دوره‌ی تیمار، طول ریشه‌های تمام پیازها در هر گروه (۵ پیاز) با خط کش (بر حسب سانتی‌متر) اندازه‌گیری و میانگین طول ریشه برای هر غلظت و شاهد محاسبه گردید. درصد مهار رشد ریشه نسبت به شاهد از طریق تقسیم اختلاف میانگین طول ریشه در شاهد و تیمار بر میانگین طول ریشه در شاهد، و سپس ضرب حاصل در ۱۰۰ به‌دست آمد. سپس غلظت مؤثر (EC_{50}) (یعنی غلظتی از عصاره که باعث ۵۰ درصد مهار رشد ریشه می‌شود)، با استفاده از رگرسیون خطی تعیین گردید (Chukwujekwu and Van Staden, 2014).

بررسی شاخص میتوزی و ناهنجاری‌های کروموزومی: پس از اندازه‌گیری رشد ریشه، از هر پیاز، ۳ ریشه انتخاب و ۱ تا ۲ سانتی‌متر از قسمت انتهایی هر ریشه برش داده شد. نمونه‌ها در محلول ۸-هیدروکسی‌کینولین ۰/۰۰۲ مولار به‌مدت ۳ ساعت در دمای اتاق (۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد) پیش‌تیمار شدند. سپس ریشه‌ها به‌مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه در آب مقطر شسته شده و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در محلول تثبیت‌کننده‌ی فارمر (اتانول ۹۶ درصد و اسید استیک گلاسیال به نسبت ۳:۱) تثبیت شدند (Fukui and Nakayama, 1996). ریشه‌های تثبیت‌شده در اتانول ۷۰ درصد در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند (Wilson, 1945).

برای تهیه‌ی لام‌های میکروسکوپی، ریشه‌ها با اسید کلریدریک ۱ نرمال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ تا ۸ دقیقه هیدرولیز شدند. سپس با استوارسین ۲ درصد به‌مدت ۳ تا ۴ ساعت در دمای اتاق رنگ‌آمیزی شدند. پس از رنگ‌آمیزی، ۱ تا ۲ میلی‌متر از مریستم انتهایی ریشه با تیغ جراحی برش داده و روی لام قرار داده شد، یک قطره اسید استیک ۴۵ درصد اضافه گردید و با روش اسکواش (Squash) با اعمال فشار ملایم توسط میله‌ی فلزی، سلول‌ها پخش شدند و لام تهیه شد. برای هر غلظت از عصاره، تعداد کل سلول‌های شمارش‌شده در گروه شاهد، ۳۸۴۱ سلول و در

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس یک‌طرفه نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره‌ی *E. amoenum* تأثیر معنی‌داری بر شاخص میتوزی سلول‌های مریستم ریشه‌ی *A. cepa* دارند ($F(4,20) = 116.34, p < 0.001$). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میانگین شاخص میتوزی در تمام غلظت‌های عصاره به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). بیشترین میزان MI بعد از نمونه شاهد مربوط به غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($11/42 \pm 0/49$ درصد) و کمترین میزان مربوط به غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($0/29 \pm 6/56$ درصد) بود که نشان‌دهنده کاهش وابسته به غلظت بود (جدول ۱). همچنین تمام غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($p < 0.05$).

اثر بر ناهنجاری‌های کروموزومی (TADC): بر اساس نتایج ANOVA، غلظت‌های عصاره تأثیر معنی‌داری بر درصد کل سلول‌های در حال تقسیم ناهنجار داشتند ($F(4,20) = 299.38, p < 0.001$). آزمون توکی نشان داد که درصد TADC در همه‌ی غلظت‌های عصاره به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). بیشترین درصد TADC در غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($48/14 \pm 0/30$ و $48/21 \pm 0/30$ درصد) و کمترین آن در گروه شاهد ($6/54 \pm 0/29$ درصد) مشاهده شد (جدول ۱). بین غلظت‌های ۲ و ۴ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$).

ناهنجاری‌های کروموزومی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که فراوانی هر یک از ناهنجاری‌ها (چسبندگی، c-میتوز، لاگارد، پل و میکرونوکلئوس) در پاسخ به افزایش غلظت عصاره به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۲). آزمون توکی نشان داد که در بالاترین غلظت (۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، فراوانی چسبندگی کروموزوم ($27/19 \pm 0/32$ درصد) و c-میتوز ($7/89 \pm 0/17$ درصد) به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر غلظت‌ها بود ($p < 0.05$). همچنین، فراوانی میکرونوکلئوس در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($2/83 \pm 0/16$ درصد) به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود، در حالی که بین غلظت ۰/۵ و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). روند کلی فراوانی ناهنجاری‌ها به‌صورت چسبندگی کروموزوم $< c\text{-میتوز} < لاگارد < پل < میکرونوکلئوس$ بود.

گروه‌های تیمار با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌ترتیب ۳۴۳۸، ۴۰۲۶، ۴۱۱۲ و ۳۷۴۱ سلول بود (جدول ۱). شاخص میتوزی (MI: Mitotic Index) به‌صورت درصدی از نسبت تعداد سلول‌های در حال تقسیم (شامل مراحل پروفاز، متافاز، آنافاز و تلوفاز) به کل سلول‌های شمارش‌شده، ضرب‌شده در ۱۰۰ محاسبه شد. همچنین، درصد کل سلول‌های در حال تقسیم ناهنجار (TADC) بر اساس تعداد سلول‌های دارای ناهنجاری‌های کروموزومی نسبت به کل سلول‌های شمارش‌شده (ضرب در ۱۰۰) محاسبه گردید (جدول ۱). ناهنجاری‌های کروموزومی شامل چسبندگی کروموزومی (ظاهر شدن کروموزوم‌ها با سطوح چسبنده به‌یکدیگر)، c-میتوز (اختلال در عملکرد دوک تقسیم)، کروموزوم‌های سرگردان (کروموزوم‌هایی که در آنافاز به‌موقع به قطب‌ها نمی‌رسند)، پل‌های آنافازی (اتصال کروماتینی بین دو قطب سلول) و میکرونوکلئوس (تشکیل هسته‌های کوچک خارج از هسته اصلی) بودند که بر اساس معیارهای استاندارد در سلول‌های مریستمی شناسایی و شمارش شدند (Hajmoradi and Alijani, 2022; Turkoglu, 2009; Das and Roy, 1986; Levan, 1951). تمام مشاهدات با استفاده از میکروسکوپ نوری Olympus BX41 با لنز عدسی $\times 100$ (بزرگنمایی نهایی $\times 1000$) انجام و تصاویر توسط دوربین دیجیتال Olympus ثبت شدند.

تحلیل آماری: داده‌های حاصل از این مطالعه به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) ارائه شدند. برای مقایسه میانگین‌های گروه‌های تیمار با شاهد، از تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و به‌دنبال آن آزمون تعقیبی توکی (Tukey's HSD) برای مقایسه‌های چندگانه استفاده گردید. کلیه تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ (IBM Corp., Armonk, NY, USA) انجام شد. سطح معنی‌داری بر اساس مقادیر دقیق p-value گزارش شده است. همچنین، برای هر متغیر، فاصله اطمینان ۹۵ درصد برای میانگین‌ها محاسبه گردید. در کلیه مراحل، ۵ پیاز در هر گروه تیماری به‌عنوان تکرار زیستی و ۳ ریشه از هر پیاز به‌عنوان تکرار فنی در نظر گرفته شدند.

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف عصاره *E. amoenum* بر تقسیم سلولی *A. cepa*

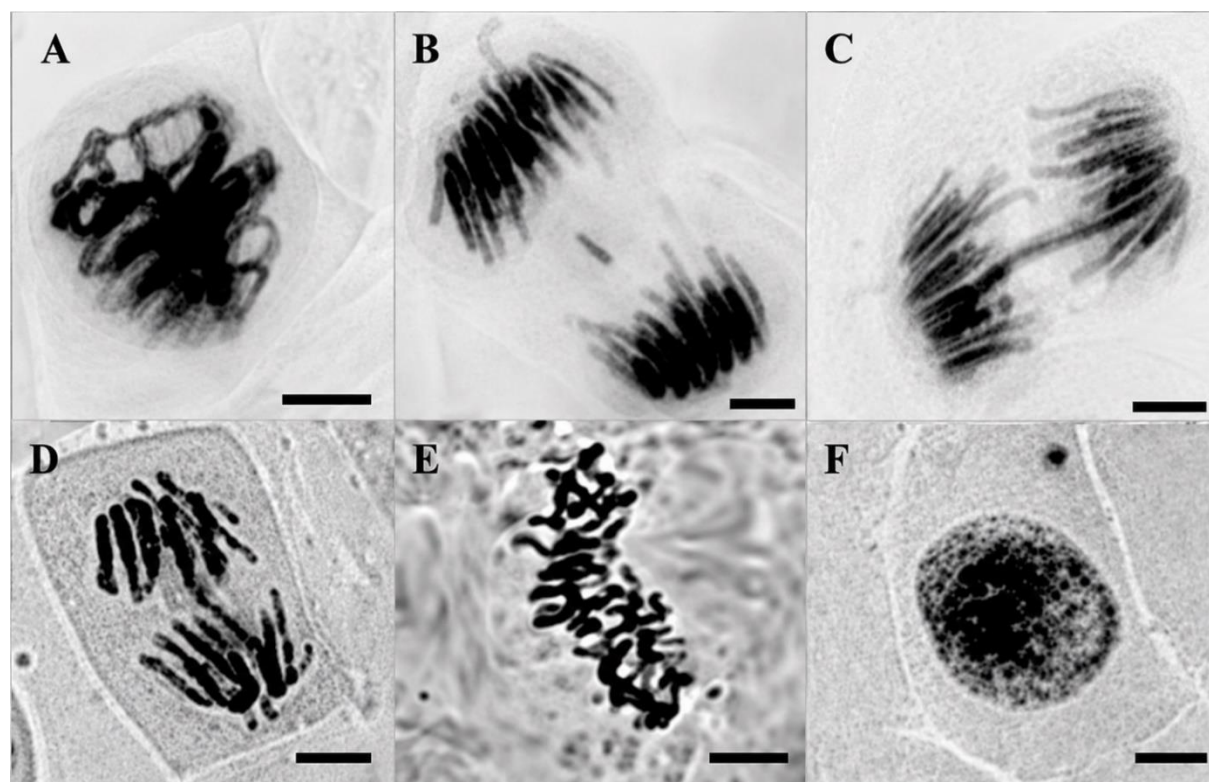
Table 1. Effect of different concentrations of <i>E. amoenum</i> extracts on cell division in <i>A. cepa</i>			
غلظت عصاره Concentration of extract (mg mL ⁻¹)	کل سلول‌های شمارش شده Total cells scored (TCS)	شاخص میتوزی (درصد) Mitotic index (MI) (%)	کل سلول‌های در حال تقسیم ناهنجار (درصد) total abnormal dividing cells (TADC) (%)
(Control) کنترل	3841	12.85±0.5 ^a	6.54±0.29 ^a
0.5	3438	11.42±0.52 ^b	34.62±0.53 ^b
1	4026	9.37±0.33 ^c	39.13±0.29 ^c
2	4112	7.63±0.32 ^d	48.14±0.30 ^d
4	3741	6.56±0.28 ^e	48.21±0.30 ^d

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ بر اساس آزمون توکی می‌باشند.
Values are means ± SD. Different superscript letters within each column indicate significant differences at $p < 0.05$ (Tukey's HSD test).

جدول ۲- ناهنجاری‌های کروموزومی القا شده توسط عصاره *E. amoenum* در سلول‌های میتوزی *A. cepa*

Table 2. Chromosomal abnormalities induced by <i>E. amoenum</i> extract in mitotic cells of <i>A. cepa</i>					
غلظت عصاره Concentration of extract (mg mL ⁻¹)	چسبندگی کروموزوم (درصد) Sticky chromosome (%)	C-میتوز (درصد) C-mitosis (%)	کروموزوم سرگردان (درصد) Laggard (%)	میکرونوکلئوس (درصد) Micronuclei (%)	پل (درصد) Bridge (%)
(Control) کنترل	3.21±0.37 ^a	2.03±0.18 ^a	0±0.00 ^a	0±0.00 ^a	0.28±0.12 ^a
0.5	17.43±0.23 ^b	11.43±0.23 ^b	4.15±0.25 ^b	0.16±0.10 ^a	1.45±0.20 ^b
1	19.27±0.14 ^c	10.51±0.17 ^c	5.83±0.26 ^c	1.21±0.18 ^b	2.31±0.28 ^c
2	23.75±0.18 ^d	9.75±0.18 ^d	8.45±0.29 ^d	1.78±0.13 ^c	4.41±0.17 ^d
4	27.19±0.32 ^e	7.89±0.18 ^e	7.13±0.26 ^e	2.83±0.17 ^d	3.17±0.22 ^e

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ بر اساس آزمون توکی می‌باشند.
Values are means ± SD. Different superscript letters within each column indicate significant differences at $p < 0.05$ (Tukey's HSD test).



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپی نشان‌دهنده ناهنجاری‌های کروموزومی در *A. cepa* در اثر تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره *E. amoenum*: A: چسبندگی کروموزوم؛ B: لاگارد؛ C و D: پل؛ E: C-میتوز؛ F: میکرونوکلئوس. مقیاس: ۳ میکرومتر.

Figure 1. Microscopic images showing various chromosomal abnormalities in *A. cepa* mitotic cells following exposure to different concentrations of *E. amoenum* extracts. (A) Sticky chromosomes; (B) laggard chromosome; (C, D) chromosomal bridges; (E) C-mitosis; and (F) micronucleus. Scale bars = 3 μ m.

مهار رشد ریشه و EC_{50} : نتایج ANOVA نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره تأثیر معنی‌داری بر رشد طولی ریشه‌های *A. cepa* دارند ($F(4,20) = 44.38, p < 0.001$). آزمون توکی نشان داد که میانگین طول ریشه در همه‌ی گروه‌های تیمار شده با عصاره به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). بیشترین کاهش رشد در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($1/92 \pm 0/11$ سانتی‌متر) و کمترین کاهش در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

مهار رشد ریشه و EC_{50} : نتایج ANOVA نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره تأثیر معنی‌داری بر رشد طولی ریشه‌های *A. cepa* دارند ($F(4,20) = 44.38, p < 0.001$). آزمون توکی نشان داد که میانگین طول ریشه در همه‌ی گروه‌های تیمار شده با عصاره به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). بیشترین کاهش رشد در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($1/92 \pm 0/11$ سانتی‌متر) و کمترین کاهش در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

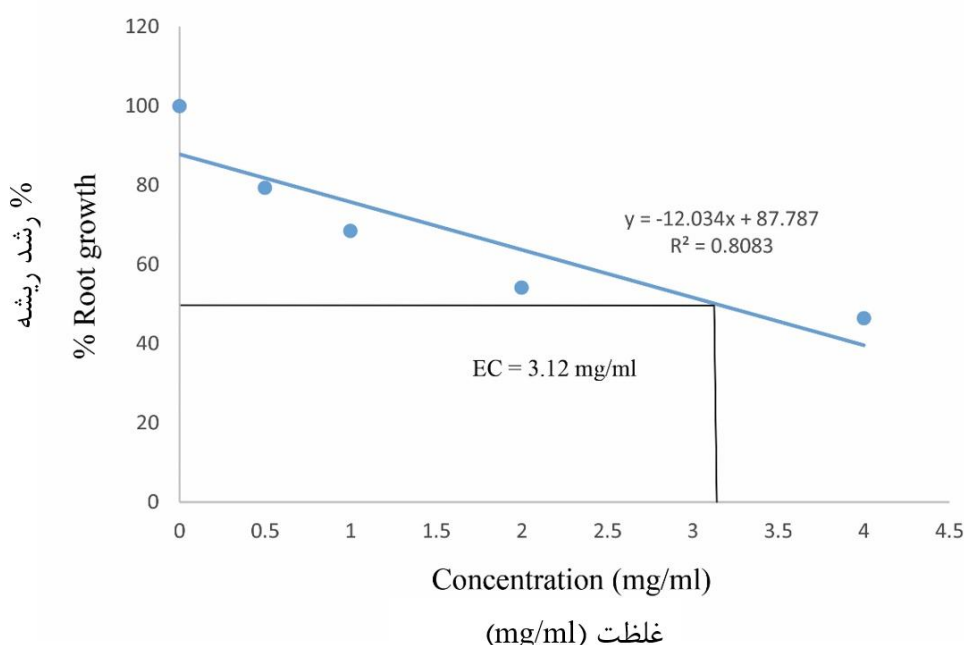
جدول ۳- بررسی اثر بازدارنده غلظت‌های مختلف عصاره *E. amoenum* بر رشد سلول‌های مریستمی *A. cepa*.

Table 3. Assessment of the inhibitory impact of different concentration of *E. amoenum* extracts on the meristematic root growth of *A. cepa*.

غلظت عصاره (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	*رشد ریشه (سانتی‌متر)	کاهش رشد ریشه (درصد)
Concentration of extract (mg mL ⁻¹)	Root growth (RG) (cm)	Decrease in root length (DRL) (%)
کنترل (Control)	4.13±0.18 ^a	0
0.5	3.28±0.16 ^b	20.58
1	2.83±0.14 ^c	31.47
2	2.24±0.12 ^d	45.76
4	1.92±0.11 ^e	53.51

*مقادیر شامل میانگین ± خطای معیار در ۵ تکرار می‌باشند. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح $p < 0/05$ بر اساس آزمون توکی می‌باشند.

* Data are presented as mean ± DE of five replicates. Different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ (Tukey's HSD test).



شکل ۲- بازدارندگی رشد ریشه *A. cepa* در معرض عصاره *E. amoenum*

Figure 2. Growth inhibition of *A. cepa* roots exposed to Ethanol extract of *E. amoenum*

در پژوهش حاضر، اثر سمی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی برگ و گل *E. amoenum* با تجزیه و تحلیل درصد شاخص میتوزی (MI)، مهار رشد نوک ریشه *A. cepa*، غلظت مؤثر و ناهنجاری‌های کروموزومی برای شناسایی اثر سمیت سلولی و سمیت ژنی احتمالی عصاره‌های این گیاه ارزیابی شد. کاهش شاخص میتوزی (MI) القای احتمالی سمیت سلولی را نشان می‌دهد و معمولاً آزمون *A. cepa* برای تعیین اثرات سیتوتوکسیک (سمیت سلولی) مورد استفاده قرار می‌گیرد (Prajitha and Thoppil, 2016). درجه سیتوتوکسیک بودن یک عامل را می‌توان با افزایش یا کاهش MI تعیین کرد گردید (Chukwujekwu and Van, 2014)؛ بنابراین کاهش مشاهده شده در شاخص‌های میتوزی با افزایش غلظت عصاره‌ها نشان دهنده مهار فعالیت تقسیم سلولی و نسبت‌های مراحل تقسیم (شاخص فاز) است (Owolarafe et al., 2020). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که عصاره‌های گیاهی با اتصال به توبولین، روند میتوز را مهار می‌کنند (Kalidoss and Krishnamoorthy, 2011). در مطالعه حاضر، عصاره گل گاوزبان باعث کاهش معنی‌دار شاخص میتوزی در غلظت‌های ۰/۵ تا ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نسبت به نمونه کنترل شد، به‌طوری‌که بیشترین کاهش در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید که حاکی از اثر مهاری و مخرب میتوزی عصاره می‌باشد. این کاهش می‌تواند ناشی از انسداد چرخه سلولی در فاز G2، اختلال در سنتز DNA یا نقص در تشکیل دوک تقسیم باشد (Sreeranjini and Siril, 2011; Pandey et al., 2002; Sudhakar et al., 2001). این یافته با نتایج مطالعات انجام‌شده بر روی گیاهان *Ziziphus mauritiana* (Owolarafe et al., 2020)، *Luffariella herdmani* (Kuruppuarachchi et al., 2023) و *Amaranthus spinosus* (Sandeep et al., 2021) که همگی با استفاده از آزمون *A. cepa* و تیمارهای عصاره‌ای مشابه انجام شده‌اند، همخوانی دارد.

مهار رشد ریشه و مقدار EC₅₀ که در این مطالعه ۳/۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد، نشان‌دهنده اثر نامطلوب مواد شیمیایی یا عصاره‌های گیاهی است (Udo et al., 2014; Ślusarczyk et al., 2014). این نتایج با یافته‌های مطالعات آکینبورو و باکاره (Akinboro and Bakare, 2014) همخوانی دارد.

(2007) و همچنین اودو و همکاران (Udo et al., 2014) که هریک اثر سیتوتوکسیک عصاره‌های پنج گیاه دارویی را بر رشد ریشه *A. cepa* گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. اوولارافه و همکاران (Owolarafe et al., 2020) به‌طور مقایسه‌ای نشان دادند که غلظت مؤثر (EC₅₀) عصاره اتانولی گیاه *Ziziphus mauritiana* از سایر حلال‌ها سمی‌تر است که نشان‌دهنده اثر مخرب میتوزی بر رشد مریستمی ریشه *A. cepa* است. در مطالعه کوروپواراچی و همکاران (Kuruppuarachchi et al., 2023)، غلظت مؤثر (EC₅₀) عصاره اسفنج دریایی *Luffariella herdmani* که باعث ۵۰ درصد مهار رشد ریشه شد، ۳۴/۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد و چنین اظهار نمودند که غلظت‌های بیشتر از EC₅₀ با القای آپتوز یا نکروز سلولی، اثرات سیتوتوکسیک مستقیم داشته و در نتیجه تعداد تقسیمات میتوزی و انحرافات کروموزومی قابل تشخیص را کاهش می‌دهند. ناهنجاری‌های کروموزومی شامل شکستگی یا تبادل قطعات کروموزومی بوده (Yuet Ping et al., 2012) و محرک‌های خارجی با ایجاد مهار میتوز، موجب بروز این ناهنجاری‌ها می‌شوند. در بررسی ناهنجاری‌های کروموزومی، افزایش وابسته به غلظت در فراوانی کل ناهنجاری‌ها (TADC) از ۶/۵۴ درصد در شاهد به ۴۸/۲۱ درصد در بالاترین غلظت مشاهده شد که نشان‌دهنده فعالیت کلاستورژنیک عصاره است. این یافته با نتایج مطالعات انجام‌شده بر روی عصاره‌های گیاهان *Lavandula stoechas* (Askin and Aslanturk, 2010)، *Crinum asiaticum* (Das et al., 2022) و *Catharanthus roseus* (al., 2022) که در شرایط آزمون *A. cepa* انجام شده‌اند، همسو می‌باشد. با این حال، اوولارافه و همکاران (Owolarafe et al., 2020) در مطالعه بر روی عصاره *Ziziphus mauritiana* کاهش ناهنجاری‌های کروموزومی را با افزایش غلظت عصاره گزارش کردند که آن را به وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی یا میتورژنیک در عصاره نسبت دادند. این تفاوت می‌تواند ناشی از تنوع ترکیبات شیمیایی و نسبت متفاوت متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف باشد. در مطالعه حاضر، ناهنجاری‌های کروموزومی القا شده توسط عصاره گیاه گل گاوزبان در سلول‌های میتوزی انتهای

دوک، سموم میتوزی یا ترکیبات ضد میتوزی طبقه‌بندی کردند. در مطالعه‌ای مشابه بر روی عصاره *Luffariella herdmani* نیز افزایش C-میتوز گزارش شده که نشان‌دهنده پتانسیل ضد میتوزی این ترکیبات است (Kuruppuarachchi et al., 2023). در مطالعه حاضر، فراوانی کروموزوم‌های سرگردان (لاگارد) با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت. بر اساس نظر داس و روی (Das and Roy, 1989)، مواد جهش‌زا با ایجاد شکست در فیبرهای دوک تقسیم، مانع از انتقال صحیح کروموزوم‌ها به قطب‌ها شده و در نتیجه کروموزوم‌های سرگردان در مرحله آنافاز ظاهر می‌شوند. همچنین، حرکت نامنظم کروموزوم‌ها یا مسمومیت دوک می‌تواند علت دیگری برای تشکیل این ناهنجاری باشد (Moustafa et al., 2016). کروموزوم‌های سرگردان (لاگارد) می‌توانند در مراحل بعدی منجر به تشکیل میکرونوکلئوس شوند (Mansuelli et al., 1995). در مطالعه حاضر، فراوانی میکرونوکلئوس با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت، هرچند کمتر از سایر ناهنجاری‌ها بود. افزایش میکرونوکلئوس در سلول‌های مریستم ریشه *A. cepa* در پاسخ به عصاره‌های گیاهی در مطالعات متعددی نیز گزارش شده است (Soliman, 2001; Askin and Aslanturk, 2007; 2009; 2010; Akinboro and Bakare, 2007) که نشان‌دهنده آسیب ژنتیکی ناشی از این ترکیبات می‌باشد.

بر اساس نتایج این مطالعه، عصاره اتانولی اندام هوایی *E. amoenum* در شرایط آزمون و در مدل *A. cepa* با کاهش وابسته به غلظت شاخص میتوزی و رشد ریشه و همچنین افزایش فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی همراه بود. مقدار EC₅₀ برای مهار ۵۰ درصدی رشد ریشه نیز ۳/۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که عصاره مورد بررسی، در شرایط آزمایشگاهی، دارای پتانسیل سمیت سلولی و ژنوتوکسیک در مدل *A. cepa* است و می‌تواند بر تقسیم سلولی و پایداری کروموزومی اثر بگذارد. با توجه به ماهیت آزمایشگاهی این پژوهش، یافته‌ها عمدتاً بیانگر پاسخ سلول‌های مریستمی *A. cepa* به عصاره‌ی اتانولی *E. amoenum* در شرایط *in vitro* است. بنابراین، تعمیم‌پذیری نتایج به سایر سیستم‌های زیستی، به‌ویژه مدل‌های

ریشه *A. cepa*، شامل چسبندگی کروموزوم، لاگارد، پل، C-میتوز و میکرونوکلئوس گزارش شد. افزایش این ناهنجاری‌ها همراه با کاهش شاخص میتوزی، نشانه‌ای از سمیت سلولی گزارش شده است (Akinboro and Bakare, 2007). چسبندگی کروموزوم به‌عنوان فراوان‌ترین ناهنجاری در این مطالعه (با بیش از ۲۷ درصد در بالاترین غلظت)، ممکن است ناشی از اتصالات ثانویه کروماتیدی، دیپلمریزاسیون DNA یا تغییرات در پوشش پروتئینی کروموزوم‌ها باشد (Yuet Ping et al., 2012). آسکین و آسلانتورک (Askin and Aslanturk, 2010) با مشاهده متافاز چسبیده در سلول‌های میتوزی انتهایی ریشه *A. cepa*، به اثر سمی عصاره برگ *Lavandula stoechas* اشاره کردند. این ناهنجاری (چسبندگی کروموزوم) در مطالعه‌ی عصاره‌های مختلف گیاهی بر روی آزمون *A. cepa*، با فراوانی نسبتاً بالاتری نسبت به سایر ناهنجاری‌ها گزارش شده است. به‌عنوان مثال، آکینورو و باکاره (Akinboro and Bakare, 2007) در مطالعه‌ی خود بر روی عصاره‌های آبی پنج گیاه دارویی شامل *Azadirachta indica*، *Morinda lucida*، *Cymbopogon citratus*، *Mangifera indica* و *Carica papaya*، افزایش چسبندگی کروموزومی را در سلول‌های مریستم ریشه *A. cepa* مشاهده کردند. همچنین، کوروپواراچی و همکاران (Kuruppuarachchi et al., 2023) در مطالعه‌ی خود بر روی عصاره‌ی خام اسفنج دریایی *Luffariella herdmani*، چسبندگی کروموزوم را به‌عنوان یکی از ناهنجاری‌های شایع گزارش نمودند. به‌علاوه، داس و همکاران (Das et al., 2022) در بررسی اثر عصاره‌ی آبی برگ گیاه *Crinum asiaticum* بر سلول‌های مریستم ریشه *A. cepa*، به فراوانی بالای چسبندگی کروموزومی اشاره کردند. در مطالعه حاضر، ناهنجاری C-میتوز به‌صورت وابسته به غلظت افزایش یافت که می‌تواند نشان‌دهنده اختلال در عملکرد دوک تقسیم باشد (Levan, 1938) و حتی می‌تواند منجر به پلی‌پلوئیدی شود (Yuet et al., 2012). حضور این ناهنجاری بیانگر وجود ترکیبات سمی است (Bonciu et al., 2018). تیموتی و همکاران (Timothy et al., 2014) ترکیبات ایجادکننده‌ی C-میتوز را در سه دسته‌ی سموم

در نظر گرفته شود. بدیهی است که شناسایی ترکیبات زیست‌فعال، تبیین سازوکارهای مولکولی و ارزیابی تکرارپذیری این اثرات، نیازمند مطالعات جامع‌تر با استفاده از مدل‌های سلولی و جانوری مناسب و تحلیل‌های شیمیایی دقیق‌تر است.

جانوری و انسانی، محدود بوده و نیازمند مطالعات تکمیلی می‌باشد. نتایج حاضر به‌تنهایی نمی‌تواند مبنایی برای نتیجه‌گیری قطعی درباره ایمنی یا اثربخشی درمانی این گیاه محسوب شود، بلکه باید به‌عنوان شواهد اولیه از فعالیت زیستی عصاره در یک مدل گیاهی استاندارد

References

- Abed, A., Vaseghi, G., Jafari, E., Fattahian, E., Babadiashar, N. and Abed, M. (2014). Echium Amoenum Fisch. Et Mey: A Review on its Pharmacological and Medicinal Properties. Asian Journal of Medical and Pharmaceutical Research, 4: 21-23.
- Adam, F.I. M. and El-Ashry, Z.M. (2010). Evaluation of genotoxicity of 4-n-Nonylphenol using Vicia faba L. Journal of Biological Sciences, 10: 368-372.
<https://doi.org/10.3923/jbs.2010.368.372>
- Akinboro, A. and Bakare, A.A. (2007). Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on Allium cepa Linn. Journal of Ethnopharmacology, 112: 470-475.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.04.014>
- Askin Celik, T. and Aslanturk, O.S. (2007). Cytotoxic and genotoxic effects of Lavandula stoechas aqueous extracts. Biologia, 62: 292-296.
<https://doi.org/10.2478/s11756-007-0051-2>
- Askin Celik, T. and Aslanturk, O.S. (2010). Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of Inula viscosa Leaf Extracts with Allium Test. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010: 189252.
<https://doi.org/10.1155/2010/189252>
- Askin Celik, T.A. and Aslanurk, O.S. (2009). Investigation of cytotoxic and genotoxic effects of Ecballium elaterium juice based on Allium test. Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 31: 591-596.
<https://doi.org/10.1358/mf.2009.31.9.1434629>
- Aslantürk, O.S. (2018). In vitro cytotoxicity and cell viability assays: Principles, advantages, and disadvantages. In: Larramendy, M. and Soloneski, S. (Eds.), Genotoxicity: A predictable risk to our actual world, 2nd ed., pp. 64-80. Intech Open Limited, London, UK.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.71923>
- Azizi, H., Ghafari, S., Ghods, R., Shojaii, A., Salmanian, M. and Ghafarzadeh, J. (2018). A review study on pharmacological activities, chemical constituents, and traditional uses of Echium amoenum. Pharmacognosy Reviews, 12: 208-213.
https://doi.org/10.4103/phrev.phrev_13_18
- Azizi, E., Salehan, N., Rahbarian, R. and Masoomi, A. (2024). Cytogenetic analysis of different landraces of purslane (*Portulaca oleracea* L.). Plant Genetic Research, 10(2): 35-46 (In Persian).
<https://doi.org/10.22034/PGR.10.2.3>
- Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C.S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M.C., Liu, D., Menicucci, F., Pesnya, D.S., Popescu, A. and Romanovsky, A.V. (2018). An evaluation for the standardization of the Allium cepa test as cytotoxicity and genotoxicity assay. Caryologia, 71: 191-209.
<https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1503496>
- Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C.S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M.C., Liu, D., Menicucci, F., Pesnya, D.S., Popescu, A. and Romanovsky, A.V. (2018). An evaluation for the standardization of the Allium cepa test as cytotoxicity and genotoxicity assay. Caryologia, 71: 191-209.
<https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1503496>
- Camparoto, M.L., Teixeira, R.O., Mantovani, M.S. and Vicentini, V.E.P. (2002). Effects of Maytenus ilicifolia Mart. and Bauhinia candicans Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. Genetics and Molecular Biology, 25: 85-89.
<https://doi.org/10.1590/S1415-47572002000100016>
- Chukwujekwu, J.C. and Van Staden, J. (2014). Cytotoxic and genotoxic effects of water extract of *Distephanus angulifolius* on *Allium cepa* Linn. South African Journal of Botany, 92: 147-150.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.03.001>
- Daneshfar, E., Kuhkheil, A., Omidbaigi, R. and Zand, A. (2011). Vegetative and reproductive characteristics of Iranian Gole-Gav-Zaban (*Echium amoenum* Fisch & C. A. Mey) accessions cultivated in Mazandaran Province. Journal of American Science, 7: 911-913.
- Das, A.B. and Roy, P. (1986). Cytological effects of some heavy metals on root meristems of *Allium cepa* L. Cytologia, 51(4): 793-801.

- Das, R., Goswami, S., Ghosh, P., Roy, S. and Ray, S. (2022). Cytotoxic and cytostatic effects of leaf aqueous extract of *Crinum asiaticum* in *Allium cepa* root apical meristem cells. *Cytologia*, 87: 107-112.
<https://doi.org/10.1508/cytologia.87.107>
- Das, S.K. and Roy, S.K. (1989). Radio Cytologia studies on *Solanum* meiotic abnormalities. *Cytologia*, 54: 477-481.
<https://doi.org/10.1508/cytologia.54.477>
- Fiskesjo, G. (1985). The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102: 99-112.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>
- Fukui, K. and Nakayama, S. (1996). *Plant chromosomes: Laboratory methods*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Gali-Muhtasib, H. and Bakkar, N. (2002). Modulating cell cycle: current applications and prospects for future drug development. *Current Cancer Drug Targets*, 2: 309-336.
<https://doi.org/10.2174/1568009023333809>
- Hajmoradi, F. and Alijani, F. (2022). Chromosomal abnormalities induced by heavy metals in Golpar (*Heracleum persicum* Desf. ex fisch). *Journal of Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, 35: 1-10. (In Persian).
- Hajmoradi, F. and Kakaei, M. (2021). Genotoxic effects of heavy metals on mitotic chromosomes of *Trigonella foenum-graecum* L. *Journal of Genetic Resource*, 7(2): 264-270.
<https://doi.org/10.22080/jgr.2021.21814.1263>
- Ifeoma, O. and Oluwakanyinsola, S. (2013). Screening of herbal medicines for potential toxicities. In: Gowder, S.J.T. (Ed.), *New insights into toxicity and drug testing*, pp. 63-88. Intech Open Limited, London, UK.
<https://doi.org/10.5772/54493>
- Iqbal, M., Abbas, M., Nazir, A. and Qamar, A. (2019). Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: A review. *Chemistry International*, 5(1): 1-80.
- Jamnani, M.J., Holmelid, B., Vedeler, A., Parsian, H.H., Andersen, H.L. and Fossen, T. (2023). Natural Products from Leaves of the Ancient Iranian Medicinal Plant *Echium amoenum* Fisch. & C. A. Mey. *Molecules*, 28: 385.
<https://doi.org/10.3390/molecules28010385>
- Jayatilake, N.J. and Jayewardena, U.A. (2021). Genotoxic potential of aqueous extract: A sea cucumber species, *Bohadschia vitiensis* using genotoxicity model *Allium cepa*. *Advances in Pharmaceutical Journal*, 6: 9-14.
<https://doi.org/10.31024/apj.2021.6.1.2>
- Kalidoss, A. and Krishnamoorthy, P. (2011). Antioxidant efficacy of endocarp with kernel of *Ziziphus mauritiana* Lam. in p-dimethylaminoazobenzene induced hepatocarcinoma in *Rattus norvegicus*. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2: 387-314.
- Kurupparachchi, S. U., Jayawardena, U. A. and Gunathilake, V. K. (2023). Use of the *Allium cepa* model to assess the cytogenotoxicity of *Luffariella herdmanni* marine sponge extract. *Alternatives to Laboratory Animals*, 51: 175-187.
<https://doi.org/10.1177/02611929231171943>
- Leme, D.M. and Marin-Morales, M.A. (2020). *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research*, 682: 71-81.
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>
- Levan, A. (1938). The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. *Hereditas*, 24: 471-486.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1938.tb03221.x>
- Levan, A. (1951). Localised chromosome breakage in *Vicia faba*. *Hereditas*, 30: 382-388.
- Mansuelli, R.W., Tanimoto, E.Y., Brown, C. and Comai, L. (1995). Irregular meiosis in a somatic hybrid between *Solanum bulbocastanum* and *S. tuberosum* detected by species-specific PCR markers and cytological analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, 91: 401-408.
<https://doi.org/10.1007/BF00222966>
- Moustafa, M.F., Alrumman, S.A., Zaki, H., Loutfy, N. and Hashem, M. (2016). Cyto-physiological effects of aqueous extracts of some weeds and clove on the growth of Chinese faba bean (*Vicia faba* L.). *Journal of Advances in Biology and Biotechnology*, 9: 1-8.
<https://doi.org/10.9734/JABB/2016/27964>
- Owolarafe, T.A., Salawu, K., Ihegboro, G.O., Ononamadu, Ch.J., Alhassan, A.J. and Wudil, A.M. (2020). Investigation of cytotoxicity potential of different extracts of *Ziziphus mauritiana* (Lam) leaf *Allium cepa* model. *Toxicology Reports*, 7: 816-821.
<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.06.010>
- Pandey, H., Kumar, V. and Roy, B.K. (2014). Assessment of genotoxicity of some common food preservatives using *Allium cepa* L. as a test plant. *Toxicology Reviews*, 1: 300-308.
<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.06.002>
- Patocka, J. and Navratilova, Z. (2019). Bioactivity of *Echium amoenum*: a mini review. *Biomedical Journal of Scientific and Technical Research*, 20: 14915-14917.
<https://doi.org/10.26717/BJSTR.2019.20.003429>

- Prajitha, V. and Thoppil, J.E. (2016). Genotoxic and antigenotoxic potential of the aqueous leaf extracts of *Amaranthus spinosus* L. using *Allium cepa* assay. South African Journal of Botany, 102: 18-25.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.06.018>
- Rechinger, K.H. (1967). Flora Iranica. Akademische Druck- und Verlagsanstalt, Graz, Austria.
- Sandeep, W., Omkar, D., Harshada, M., Aaditi, P., Prajwal, G., Deepak, G., Nilesh, G., Ajay, K. and Mohan, K. (2021). Evaluation of phytochemical & antimitotic potential of annona reticulata extracts by onion root model. Chemical Proceedings, 3: 137.
<https://doi.org/10.3390/ecsoc-24-08296>
- Sehgal, R., Roy, S. and Kumar, V.L. (2006). Evaluation of cytotoxic potential of latex of *Calotropis procera* and podophyllotoxin in *Allium cepa* root model. Biocell, 30: 9-13.
<https://doi.org/10.32604/biocell.2006.30.009>
- Ślusarczyk, J., Dudek, M., Wierzbicka, M., Suchocki, P. and Kuraś, M. (2014). Antimitotic effect of Selol and sodium selenate (IV) on *Allium* test cells. Caryologia, 67: 250-259.
<https://doi.org/10.1080/0144235X.2014.974353>
- Soliman, M.I. (2001). Genotoxicity testing of neem plant (*Azadirachta indica* A. Juss.) using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. Journal of Biological Sciences, 1: 1021-1027.
<https://doi.org/10.3923/jbs.2001.1021.1027>
- Sreeranjini, S. and Siril, E.A. (2011). Evaluation of anti-genotoxicity of the leaf extracts of *Morinda citrifolia* L. Plant, Soil and Environment, 57: 222-227.
<https://doi.org/10.17221/376/2010-PSE>
- Sudhakar, R., Gowda, N. and Venu, G. (2001). Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa*. Cytologia, 66: 235-239.
<https://doi.org/10.1508/cytologia.66.235>
- Sunmonu, T.O., Oloyede, O.B., Owolarafe, T.A., Yakubu, M.T. and Dosunmu, O.O. (2014). Toxicopathological evaluation of *Picralima nitida* seed aqueous extract in Wistar rats. Turkish Journal of Biochemistry, 39: 119-125.
<https://doi.org/10.5505/tjb.2014.83997>
- Tamokou, J.D.D. and Kuete, V. (2014). Mutagenicity and carcinogenicity of African medicinal plants. In: Kuete, V. (Ed.), Toxicological survey of African medicinal plants, pp. 277-322. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800018-2.00010-8>
- Tedesco, S.B. and Laughinghouse IV, H.D. (2012). Bioindicator of genotoxicity: The *Allium cepa* test. In: Srivastava, J.K. (Ed.), Environmental contamination, pp. 137-156. Intech Open Limited, London, UK.
- Timothy, O., Idu, M. and Olorunfemi, D.I. (2014). Cytotoxic and genotoxic properties of leaf extract of *Icacina trichantha* Oliv. South African Journal of Botany, 91: 71-74.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.11.008>
- Turkoglu, S. (2009). Genotoxic effects of mono-, di-, and trisodium phosphate on mitotic activity, DNA content, and nuclear volume in *Allium cepa* L. Caryologia, 62(3): 171-179.
<https://doi.org/10.1080/00087114.2004.10589683>
- Udo, I.J., Akpan, G.A. and Esenowo, I.K. (2014). Cytotoxic effects of (5) medicinal plants on mitosis in *Allium cepa* root tips. Current Research Journal of Biological Sciences, 6: 71-75.
<https://doi.org/10.19026/crjbs.6.5501>
- Wilson, G.B. (1945). The venetian turpentine mounting medium. Stain Technology, 20: 133-135.
<https://doi.org/10.3109/10520294509107150>
- Yuet Ping, K., Darah, I., Yusuf, U.K., Yeng, C. and Sasidharan, S. (2012). Genotoxicity of *Euphorbia hirta*: an *Allium cepa* assay. Molecules, 17: 7782-7791.
<https://doi.org/10.3390/molecules17077782>
- Zarei, P., Badakhshan, H. and Mirzaghaderi, G. (2024). Comparison of genetic diversity between two oat species (*Avena sativa* and *Avena fatua*) using phenotyping, molecular markers, and chromosomal parameters. Plant Genetic Research, 11(1): 15-36 (In Persian).
<https://doi.org/10.22034/PGR.11.1.2>