

ВАЛЮК В. Ф.<sup>1</sup>, ЯКИМЧУК Р. А.<sup>1,2✉</sup>, СОБОЛЕНКО Л. Ю.<sup>1</sup>, СОРОКІНА С. І.<sup>1</sup><sup>1</sup> Уманський державний педагогічний університету імені Павла Тичини, Україна, 20300, м. Умань, вул. Садова, 2, e-mail: viktoriavalyuk@gmail.com<sup>2</sup> Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: peoplenature16@gmail.com  
✉ peoplenature16@gmail.com, (097) 341-89-12

### ОЦІНКА МУТАГЕННОЇ АКТИВНОСТІ ХІМІЧНОГО ЗАБРУДНЕННЯ ГРУНТУ ПОЛІГОНУ ТОКСИЧНИХ ВІДХОДІВ (М. КАЛУШ) ЗА РІВНЕМ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОРУШЕНЬ У *TRITICUM AESTIVUM* L.

**Мета.** Вивчити частоту та спектр цитогенетичних порушень у *Triticum aestivum* L. за пролонгованої дії на насіння ксенобіотиків ґрунту територій складування токсичних відходів і встановити рівень їх мутагенної активності в порівнянні з дією помірних і високих концентрацій НМС. **Методи.** Цитогенетичні порушення, індуковані хімічним забрудненням ґрунту полігону токсичних відходів, відвалів Домбровського кар'єру (м. Калуш) та впливом помірних і високих концентрацій НМС, визначали в клітинах кореневої меристеми за допомогою анателофазного методу. **Результати.** Хімічне забруднення ґрунту досліджених об'єктів виявляє високу мутагенну активність, яка перевищує в 1,8–3,8 рази контрольний рівень та не поступається мутагенній активності НМС у помірних концентраціях. Висока частота хромосомних аберацій за низької концентрації гексахлорбензолу в ґрунті відвалів Домбровського кар'єру є наслідком його комплексної дії з природномінеральними сполуками гірничо-хімічної сировини. **Висновки.** Зростання у спектрі цитогенетичних порушень, індукованих хімічним забрудненням ґрунту, частки мостів і хромосомних кілець свідчить про радіоміметичні властивості мутагенних чинників. Збільшення кількості клітин із множинними абераціями вказує на високу генотоксичність гексахлорбензолу та небезпеку вияву важких генетичних наслідків у разі потрапляння його в навколишнє середовище.

**Ключові слова:** *Triticum aestivum* L., токсичні відходи, порушення мітозу, хромосомні аберації, мутагенна активність.

Масове накопичення в навколишньому середовищі хімічних мутагенних чинників створило окремі регіони України, зокрема м. Калуш та прилеглі до нього села Кропивник і

Сівка-Калуська Івано-Франківської області, в зони екологічного лиха [1, 2]. Інтенсивне забруднення ґрунту, води і повітря Калуського промислового району високотоксичними сполуками із найбільшого в Європі полігону токсичних відходів ТОВ «Оріана Галев» та Домбровського кар'єру калійних руд, де складовано (лише за офіційними даними) 11087,6 т гексахлорбензолу (майже 50 % наявних на території України відходів I класу небезпеки), призвело до зростання у місцевих жителів рівня генетичних патологій, вроджених аномалій, новоутворень, соматичних захворювань основних систем органів [3, 4]. За оцінкою міжнародних експертів ООН, рекультивація території полігону і вивезення токсичних відходів для подальшої утилізації за межі країни спричинили додаткове забруднення регіону високотоксичними хімічними сполуками та викликали занепокоєння міжнародної спільноти щодо можливості виникнення транскордонної еколого-технологічної надзвичайної ситуації [5].

Для вивчення мутагенної активності забруднення хімічними чинниками та встановлення механізмів виникнення генетичних порушень важливо досліджувати вплив генотоксикантів на функціонування ядерного апарату клітини і частоту цитогенетичних порушень [6–9]. Аналіз частоти і спектра цитогенетичних аномалій, індукованих хімічними забруднювачами ґрунту, в порівнянні з дією різних концентрацій всебічно вивчених супермутагенів, серед яких широкого практичного значення набула N-нітрозоз-N-метилсечовина (НМС), дозволить встановити рівень мутагенної активності виявлених у навколишньому середовищі ксенобіотиків та можливі механізми індукування ними хромосомних перебудов і порушень мітозу.

© ВАЛЮК В. Ф., ЯКИМЧУК Р. А., СОБОЛЕНКО Л. Ю., СОРОКІНА С. І.

Метою досліджень було вивчити частоту та спектр типів цитогенетичних порушень у *Triticum aestivum* L. за пролонгованої дії на насіння ксенобіотиків ґрунту територій складування токсичних відходів і встановити рівень їх мутагенної активності в порівнянні з дією помірних і високих концентрацій НМС.

### Матеріали і методи

Мутагенну активність хімічного забруднення ґрунту території полігону токсичних відходів ТОВ «Оріана Галев» і Домбровського кар'єру калійних руд (м. Калуш Івано-Франківської обл.) вивчали на проростках озимої пшениці сортів Альбатрос одеський і Зимоярка за допомогою анателофазного методу. Насіння пророщували у зволжених дистильованою водою зразках ґрунту, відібраних у межах полігону токсичних відходів, його рекультивованої ділянки та відвалів Домбровського кар'єру калійних руд. Концентрації гексахлорбензолу в ґрунті становили відповідно 550,5 мг/кг, 292,0 мг/кг і 37,0 мг/кг, що перевищує в 1233–18350 разів ГДК (0,03 мг/кг). За контроль взято зразки ґрунту з умовно чистої території с. Сватки Гадяцького р-ну Полтавської обл. Для вивчення цитогенетичних наслідків впливу помірних і високих концентрацій НМС насіння пшениці витримували протягом 18 год у водному розчині зазначеного супермутагену за концентрацій 0,005, 0,01, 0,025 %, після чого висівали в чашки Петрі на фільтрувальному папері, зволоженому дистильованою водою. Як контроль використовували насіння, замочене в дистильованій воді.

Для мікроскопічного аналізу готували тимчасові давлені цитологічні препарати апікальної частини первинних корінців за загальноприйнятими методиками [10]. Під час визначення частоти хромосомних аберацій та порушень мітозу до уваги брали клітини, що знаходилися в анафазі та ранній телофазі. Вибірка для кожного варіанта становила не менше 1000 клітин. Статистичний аналіз експериментальних даних здійснювали загальноприйнятими методами [11], достовірність різниці оцінювали за критерієм Стьюдента. У таблицях наведені відсоткові частки хромосомних аберацій та середні похибки вибірових середніх арифметичних.

### Результати та обговорення

Пролонгована дія на насіння пшениці хімічних чинників забруднення ґрунту із терито-

рій полігону токсичних відходів і Домбровського кар'єру калійних руд (м. Калуш) викликала в клітинах кореневої меристеми озимої пшениці зростання в 1,8–3,8 раза частоти хромосомних аберацій (табл. 1). Найвищі її показники – 2,35 % для сорту Альбатрос одеський і 2,51 % для сорту Зимоярка, що в 3,4–3,8 раза перевищували контрольний рівень, – виявлено на ділянках із найбільш інтенсивним забрудненням ґрунту гексахлорбензолом полігону токсичних відходів. У ґрунті рекультивованої ділянки полігону концентрація залишкових кількостей гексахлорбензолу, порівняно з попереднім варіантом, зменшилася вдвічі. Проте хімічне забруднення продовжувало зберігати високу мутагенну активність, про що свідчить індуковане ним статистично достовірне зростання в 2,6–3 рази кількості абераційних клітин. Зниження частоти цитогенетичних порушень (незалежно від генотипу сорту озимої пшениці) лише в 1,3 раза за умов зменшення концентрації мутагену вдвічі свідчить про відсутність прямої залежності між інтенсивністю забруднення ґрунту гексахлорбензолом і рівнем цитогенетичних аномалій.

Частота цитогенетичних порушень, індукованих забрудненням ґрунту в межах відвалів Домбровського кар'єру калійних руд, перевищувала контрольні показники в 1,8–2,4 раза. Зважаючи на те, що ґрунт відвалів Домбровського кар'єру, крім особливо небезпечних хімічних речовин, містить розкриті породи, збереження високої частоти хромосомних аберацій за подальшого зниження майже у 8 разів інтенсивності забруднення ґрунту гексахлорбензолом може розглядатися як наслідок кумулятивного, або синергетичного ефекту комплексної дії низьких концентрацій ксенобіотиків із природно-мінеральними сполуками гірничо-хімічної сировини.

За дії водного розчину НМС у найнижчій концентрації (0,005 %) рівень індукованих цитогенетичних порушень у клітинах кореневої меристеми зростав у 3,5–10 разів і становив для сорту Альбатрос одеський 2,74 % і для сорту Зимоярка 5,82 % за показників контролю відповідно 0,78 % і 0,58 % (табл. 2). Подальше подвоєння концентрації НМС (0,01 %) викликало зростання рівня хромосомних перебудов у клітинах проростків сортів Альбатрос одеський і Зимоярка до показників відповідно 3,92 % і 7,13 %, що перевищувало контрольний рівень у 5–12,3 раза. Проте статистично достовірної різ-

ниці між показниками частоти абераційних клітин, індукованих НМС у концентраціях 0,005 і 0,01 %, не виявлено. Подальше збільшення концентрації супермутагену в 2,5 рази (0,025 %) супроводжувалося індукуванням в меристематичних клітинах первинних корінців найвищого рівня цитогенетичних порушень – 19,03 % для сорту Альбатрос одеський і 23,05 % для сорту Зимоярка, – що перевищував показники контролю в 24,4–39,7 рази. Істотне зростання кількості клітин з абераціями хромосомного типу свідчить про радіоміметичний ефект впливу хімічного мутагену у високій концентрації.

Спектр типів цитогенетичних аномалій за впливу забруднень гексахлорбензолом ґрунту досліджених об'єктів і водних розчинів НМС, окрім ацентричних фрагментів і мостів, які були характерні також для контрольного варіанта, містив мікроядра, кільцеві та відстаючі хромосоми. Виявлено залежність частоти індукування окремих типів хромосомних аберацій від генотипу рослин та концентрації діючої речовини. Зростання частоти хромосомних аберацій у клітинах кореневої меристеми проростків за дії

забруднення ґрунту гексахлорбензолом у найвищій концентрації (територія полігону токсичних відходів) зумовлене індукуванням переважно одиничних ацентричних фрагментів (1,18 %) у сорту Альбатрос одеський та хроматидних і хромосомних мостів (1,07 %) у сорту Зимоярка. Внаслідок впливу на кореневу меристему пшениці забруднень ґрунту гексахлорбензолом у нижчих концентраціях, що характерно для рекультивованої ділянки полігону токсичних відходів, частота клітин з ацентричними фрагментами зберігалася на рівні попереднього варіанта і становила 0,88 % для сорту Альбатрос одеський і 0,90 % для сорту Зимоярка (рис. 1). Проте частка мостів від загальної частоти цитогенетичних порушень зменшилася до показників контрольного рівня. Збільшення кількості кластогенних порушень у клітинах меристеми первинних корінців проростків пшениці за впливу хімічного забруднення ґрунту Домбровського кар'єру зумовлене утворенням переважно ацентричних фрагментів у сорту Альбатрос одеський і дицентричних хромосом у сорту Зимоярка.

Таблиця 1. Частота анателофазних хромосомних аберацій в озимій пшениці, індукованих забрудненням ґрунту токсичними відходами

Місце відбору зразків	Вивчено анателофаз мітозів, шт.	Мітози з цитогенетичними порушеннями		Вивчено анателофаз мітозів, шт.	Мітози з цитогенетичними порушеннями	
		шт.	%		шт.	%
	Альбатрос одеський			Зимоярка		
с. Сватки Полтавської обл. (контроль)	1291	8	0,62±0,22	1200	9	0,75±0,25
Полігон токсичних відходів ТОВ «Оріана Галев»	1107	26	2,35±0,46**	1592	40	2,51±0,39**
Рекультивована ділянка полігону токсичних відходів ТОВ «Оріана Галев»	1133	21	1,85±0,40*	1219	24	1,97±0,40*
Домбровський кар'єр калійних руд	1126	17	1,51±0,36*	1166	16	1,37±0,34

Примітки: \*різниця відносно контролю статистично достовірна за  $p \leq 0,05$ , \*\*різниця відносно контролю статистично достовірна за  $p \leq 0,01$ .

Таблиця 2. Частота анателофазних хромосомних аберацій в озимій пшениці, індукованих НМС

Концентрація мутагену	Вивчено анателофаз мітозів, шт.	Мітози з цитогенетичними порушеннями		Вивчено анателофаз мітозів, шт.	Мітози з цитогенетичними порушеннями	
		шт.	%		шт.	%
	Альбатрос одеський			Зимоярка		
Вода (контроль)	1409	11	0,78±0,23	1210	7	0,58±0,22
НМС 0,005 %	1239	34	2,74±0,46*	1117	65	5,82±0,70*
НМС 0,01 %	1122	44	3,92±0,60*	1319	94	7,13±0,71*
НМС 0,025 %	1067	203	**19,03±1,20*	976	225	**23,05±1,35*

Примітки: \*різниця відносно контролю статистично вірогідна за  $p \leq 0,01$ , \*\*різниця відносно варіантів НМС 0,005 % і НМС 0,01 % статистично вірогідна за  $p \leq 0,01$ .

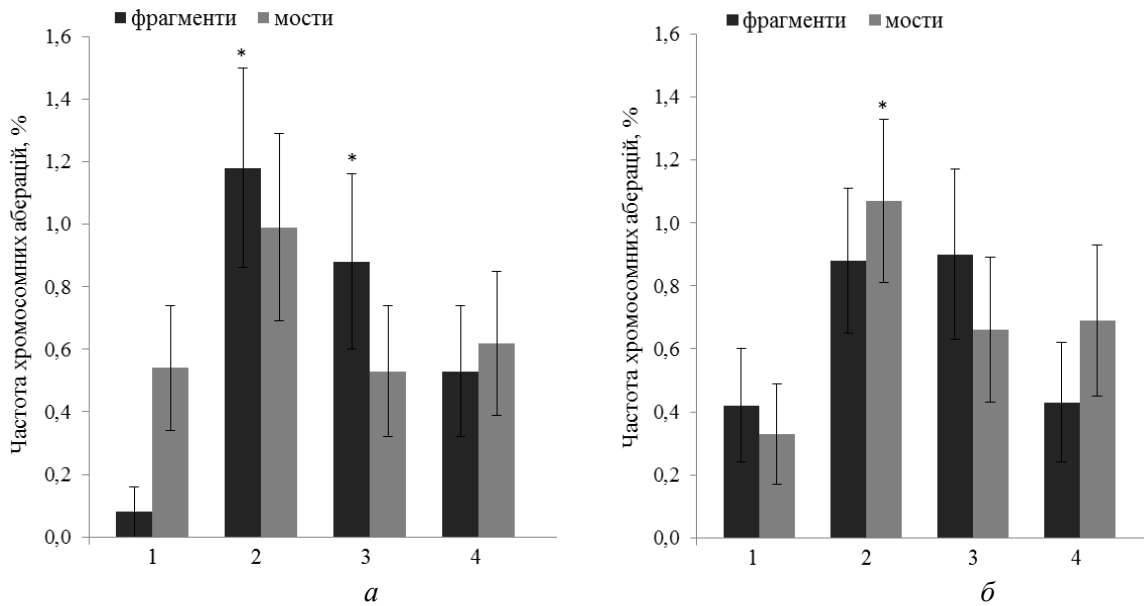


Рис. 1. Індукування в клітинах кореневої меристеми озимої пшениці сортів Альбатрос одеський (а) і Зиморярка (б) ацентричних фрагментів і мостів забрудненням ґрунту токсичними відходами: 1 – с. Сватки Полтавської обл. (контроль), 2 – полігон токсичних відходів ТОВ «Оріана Галев», 3 – рекультивована ділянка полігону токсичних відходів ТОВ «Оріана Галев», 4 – Домбровський кар'єр калійних руд. Примітки: \* –  $p \leq 0,05$  порівняно з контролем,  $n = 1000$ ,  $x \pm SE$ .

Варіювання частоти фрагментів і мостів залежно від генотипу рослин та концентрації мутагену також виявлено за впливу на озиму пшеницю НМС. Дія супермутагену в концентрації 0,005 % викликала в мітотичних клітинах кореневої меристеми проростків пшениці сорту Зиморярка істотне зростання як ацентричних фрагментів, так і хроматидних мостів (відповідно 2,78 % і 0,89 %, за контрольного рівня 0,33 % і 0,25 %), тоді як у клітинах кореневої меристеми сорту Альбатрос одеський зростала лише частота ацентричних фрагментів (1,69 %, за контрольного рівня 0,43 %) (рис. 2). Підвищення концентрації НМС до 0,01 % супроводжувалося подальшим істотним зростанням у клітинах кореневої меристеми сорту Зиморярка частоти фрагментів і мостів, проте в меристемі проростків сорту Альбатрос одеський спостерігалося зменшення кількості клітин з ацентричними фрагментами (0,89 %) та зростання клітин із дицентриками (1,25 %). За впливу НМС у високій концентрації (0,025 %) для обох сортів виявлено істотне зростання ацентричних фрагментів (8,34–9,02 %), більшість із яких були парними. Показник частоти анателофазних клітин із хроматидними мостами (у порівнянні з попереднім варіантом впливу мутагену) істотно не змінювався.

Отже, поява в кореневій меристемі пшениці великої кількості клітин із дицентриками, викликана дією забруднень ґрунту гексахлорбензолом у межах полігону токсичних відходів, свідчить про радіомітетичні властивості хімічної сполуки. Зазначений тип хромосомних аберацій за результатами, одержаними в дослідженні з вивчення цитогенетичних наслідків впливу НМС, із високою частотою може виникати за дії помірних і високих концентрацій мутагену.

Забруднення гексахлорбензолом ґрунту досліджених територій викликало появу клітин із кільцевими хромосомами, що може свідчить про відсутність спорідненості хімічних мутагенів із генетичними структурами клітини та механізмом їх дії за принципом мішені – випадково. Спектр типів цитогенетичних порушень у міру зростання концентрації НМС також розширювався за рахунок появи кільцевих хромосом, які є маркерами радіаційного впливу. Тому поява таких хромосомних аберацій за дії НМС у концентрації 0,025 % та забруднень ґрунту гексахлорбензолом у місцях його складування з частотою відповідно 0,19–0,51 % і 0,06–0,19 % підтверджує радіомітетичні властивості досліджених ксенобіотиків.

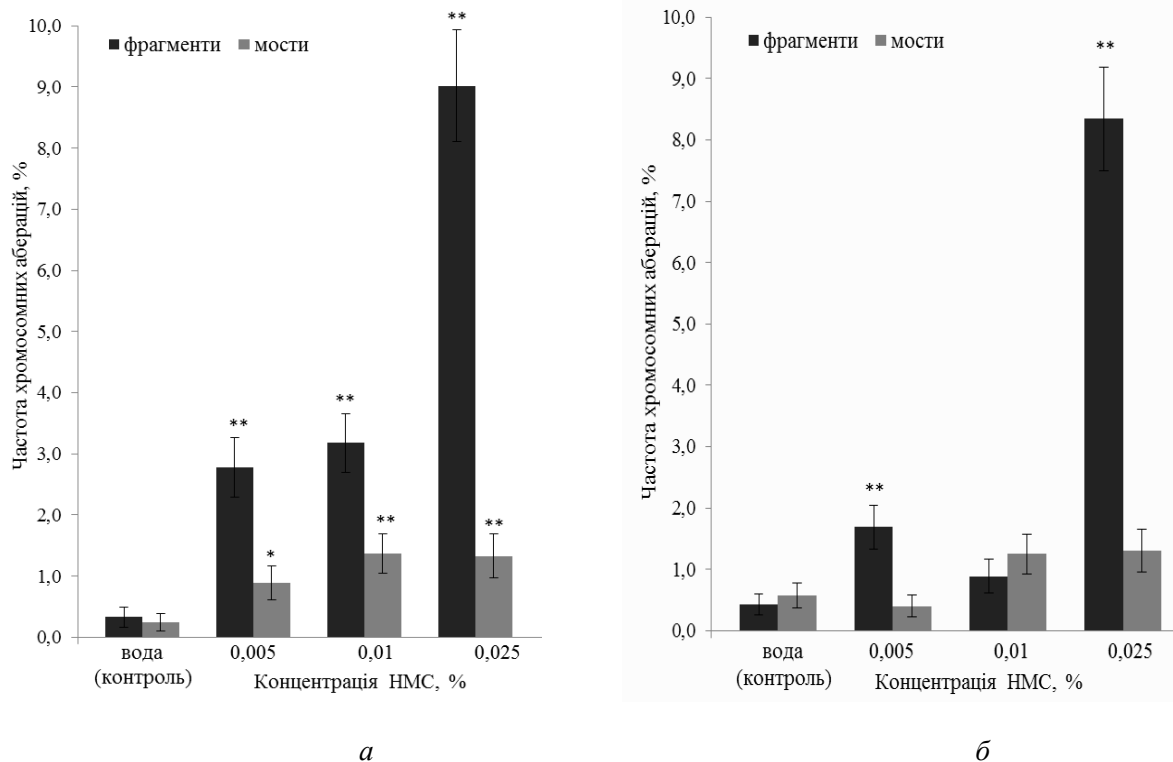


Рис. 2. Індукування в клітинах кореневої меристеми озимої пшениці сортів Альбатрос одеський (а) і Зимоярка (б) ацентричних фрагментів і мостів дією НМС. Примітки: \* $p \leq 0,05$  порівняно з контролем, \*\* $p \leq 0,01$  порівняно з контролем,  $n = 1000$ ,  $\bar{x} \pm SE$ .

Серед аберантних клітин, індукованих забрудненням ґрунту хімічними мутагенами, виявлено клітини, що несли відразу більше двох хромосомних перебудов. Значна частина цитогенетичних аномалій у клітинах із множинними абераціями представлена ацентричними фрагментами і відстаючими хромосомами. Важкі цитогенетичні порушення, індуковані низькими концентраціями гексахлорбензолу в ґрунті, можуть бути пов'язані з кумулятивним чи синергетичним ефектом їх комбінованої дії з хімічними чинниками природного походження.

### Висновки

Хімічне забруднення ґрунту полігону токсичних відходів і відвалів Домбровського кар'єру калійних руд (м. Калуш) виявляє високу мутагенну активність, яка за рівнем індукування цитогенетичних аномалій у кореневій меристемі озимої пшениці перевищує в 1,8–3,8 раза конт-

рольні показники і не поступається мутагенній активності НМС в помірних концентраціях. Забруднення ґрунту гексахлорбензолом у комплексі з природномінеральними сполуками гірничо-хімічної сировини навіть за низьких концентрацій зберігають високу мутагенну активність. Істотне зростання у спектрі типів хромосомних порушень, викликаних дією забруднень ґрунту полігону токсичних відходів гексахлорбензолом, частки клітин із дицентричними хромосомами може свідчити про радіомітетичні властивості хімічного генотоксиканта. Збільшення кількості клітин із множинними абераціями, індукованими дією забруднень гексахлорбензолом ґрунту в межах досліджуваних об'єктів, вказує на високу генотоксичність хімічної сполуки та небезпеку вияву важких генетичних наслідків у разі потрапляння її в навколишнє середовище.

### References

1. Al-Naber H.M.F., Slenzak A., Stranadko N., Tykhyy V., Sulukhia T., Lvovsky K., Fan Q., Ahmed K. Ukraine country environmental analysis. The World Bank, Washington, 2016. 107 p. doi: 10.1596/24971.
2. Morgun V.V., Yakymchuk R.A. Cytogenetic anomalies of winter wheat cells, induced by chemical contamination of the territory of Kalush industrial district. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2018. Vol. 9, No. 3. P. 446–452.
3. Rozhko M.M., Bilec'ka E.M., Shmatkov G.G., Erstenjuk G.M., Kryzhaniv's'ka A.Ie., Onyshchenko S.V., Rud'ko G.I., Samojlik M.S., Semchuk Ja.M., Solovjov V.V. Development and implementation of a system for reducing the man-caused

- load on the territory and population of ecologically crisis areas. *Ekolohiia i pryrodokorystuvannia*. 2014. № 18. P. 97–110. [in Ukrainian] / Рожко М.М., Білецька Е.М., Шматков Г.Г., Ерстенюк Г.М., Крижанівська А.Є., Онищенко С.В., Рудько Г.І., Самойлик М.С., Семчук Я.М., Соловійов В.В. Розробка та впровадження системи зменшення техногенного навантаження на території і населення екологічно кризових територій. *Екологія і природокористування*. 2014. № 18. С. 97–110.
4. Lysychenko G., Weber R., Kovach V., Gertsyuk M., Watson A., Krasnova I. Threats to water resources from hexachlorobenzene waste at Kalush City (Ukraine) – a review of the risks and the remediation options. *Environmental Science and Pollution Research*. 2015. Vol. 22, No. 19. P. 14391–14404. doi: 10.1007/s11356-015-5184-1.
  5. Yakymchuk R.A., Valyuk V.F. Soil mutagenic activity in hazardous waste site of Kalush City (Western Ukraine). *Ukrainian Journal of Ecology*. 2018. Vol. 8, No. 1. P. 880–886. doi: 10.15421/2018\_288.
  6. Morgun V.V., Yakymchuk R.A. Genetic consequences of the Chornobyl NPP. Kyiv: Lohos, 2010. 400 s. [in Ukrainian] / Моргун В.В., Якимчук Р.А. Генетичні наслідки аварії на Чорнобильській АЕС. К.: Логос, 2010. 400 с.
  7. Altwayt N.H., El-Sayed O.E., Aly N.A.H., Baeshen M.N., Baeshen N.A. Molecular and cytogenetic assessment of *Dipterygium glaucum* genotoxicity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2016. Vol. 88, No. 1. P. 623–634. doi: 10.1590/0001-3765201620150208.
  8. Morgun V.V., Yakymchuk R.A., Azizov I.V. Peculiarities of the mechanisms of spontaneous, and induced by ionizing radiation and chemical factors mutagenesis. *Fiziologiya rasteniy i genetika*. 2019. T. 51, № 6. P. 463–481. doi: org/10.15407/frg2019.06.463.
  9. Yakymchuk R.A. Genetic consequences of the contamination of the environment with natural and techno-genic mutagenic factors. Kyiv: Lohos, 2019. 379 s. [in Ukrainian] / Якимчук Р.А. Генетичні наслідки забруднення навколишнього середовища природними і техногенними мутагенними чинниками. К.: Логос, 2019. 379 с.
  10. Pausheva Z.P. Workshop on plant cytology. Moscow: Agropromizdat, 1988. 271 s. [in Russian] / Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. 271 с.
  11. Lakin G.F. Biometric. Moscow: Vysshaja shkola, 1990. 352 s. [in Russian] / Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.

**VALYUK V.F.<sup>1</sup>, YAKYMCHUK R.A.<sup>1,2</sup>, SOBOLENKO L.Yu.<sup>1</sup>, SOROKINA S.I.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Pavlo Tychyna Uman state pedagogical university, Ukraine, 20300, Uman, Sadova str., 2, e-mail: viktoriavalyuk@gmail.com

<sup>2</sup> Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylkivska str., 31/17, e-mail: peoplenature16@gmail.com

#### **ASSESSMENT OF MUTAGENIC ACTIVITY OF TOXIC WASTE POLYGON (M. KALUSH) SOIL'S CHEMICAL POLLUTION BY THE LEVEL OF CYTOGENETIC DISORDERS IN *TRITICUM AESTIVUM* L.**

**Aim.** To study the frequency and spectrum of cytogenetic disorders in *Triticum aestivum* L. with prolonged action on soil xenobiotic seeds of toxic waste storage areas and to explore the level of their mutagenic activity in comparison with the action of NMS's moderate and high concentrations. **Methods.** Cytogenetic disorders induced by soil's chemical contamination of toxic waste landfill of Dombrovsky Quarry dump (Kalush city) and influence of NMS's moderate and high concentrations were determined in the cells of the meristem root using the ana-thelophase method. **Results.** Soil's chemical contamination of the studied objects exhibits high mutagenic activity, which exceeds the control level by 1.8–3.8 times and does not yield to the mutagenic activity of NMS's moderate concentrations. The high frequency of chromosomal aberrations at the low concentration of hexachlorobenzene in the soil of the Dombrovsky Quarry dumps is a consequence of its complex interaction with natural mineral compounds of the mountain chemical raw materials. **Conclusions.** The increasing of the spectrum of cytogenetic disorders induced by chemical soil contamination the proportion of bridges and the chromosomal rings testify radiomimetic properties of the mutagenic factors. The increasing of the number of cells with multiple aberrations indicates a high genotoxicity of hexachlorobenzene and the risk of serious genetic consequences in the case of falling it's into the environment.

**Keywords:** *Triticum aestivum* L., toxic waste, mitosis disorders, chromosomal aberrations, mutagenic activity.