

Порівняльний аналіз цитогенетичних порушень у *Triticum aestivum* L., індукованих ксенобіотиком ґрунту та N-нітрозо-N-метилсечовиною

Руслан А. Якимчук^{1,2✉}, Вікторія Ф. Валюк², Світлана С. Коляденко³

¹Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України, м. Умань

e-mail: peoplenature16@gmail.com; ORCID ID: 0000-0002-6249-4304

²Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, м. Київ

e-mail: viktoriavalyuk@gmail.com; ORCID ID: 0000-0003-2244-5927

³Український інститут експертизи сортів рослин, м. Київ

e-mail: skolyadenko@ukr.net; ORCID ID: 0000-0001-5341-8601

✉ peoplenature16@gmail.com

Реферат.

Мета. Визначити частоту і спектр типів цитогенетичних порушень, індукованих пролонгованою дією забруднень ґрунту ксенобіотиком територій складування токсичних відходів і встановлення рівня їхньої мутагенної активності в порівнянні з дією помірних і високих концентрацій N-нітрозо-N-метилсечовини (НМС). **Методи.** У зразках ґрунту полігону токсичних відходів ТОВ «Оріана Галев», його рекультивованої ділянки та відвалів Домбровського кар'єру калійних руд, розміщених поблизу м. Калусь Івано-Франківської обл., пророщували насіння *Triticum aestivum* L. сортів 'Альбатрос одеський' і 'Зимоярка'. Для вивчення мутагенної активності помірних і високих концентрацій НМС насіння витримували у 0,005, 0,01 та 0,025 % водному розчині супермутагену. Визначення частоти і спектра цитогенетичних порушень у клітинах кореневої меристеми проростків проводили за допомогою анателофазного методу. **Результати.** Частота цитогенетичних порушень, індукованих генотоксикантами ґрунту Калуського промислово району, перевищувала контрольний рівень в 1,8–3,8 рази. За дії низької концентрації гексахлорбензолу у ґрунті в комплексі з наявними природномінеральними сполуками гірничо-хімічної сировини частота хромосомних аберацій перевищувала спонтанні показники в 1,8–2,4 рази. Спектр хромосомних аберацій переважно включав ацентричні фрагменти та розширювався за рахунок індукування мостів, хромосомних кілець і мікроядер, які виявлено також за впливу високих концентрацій НМС. За дії гексахлорбензолу в найвищій і найнижчій концентраціях показник кількості аберацій на аберантну клітину статистично достовірно перевищував контрольний рівень. **Висновки.**

Хімічне забруднення ґрунту гексахлорбензолом виявляє високу мутагенну активність, яка за рівнем індукування цитогенетичних аномалій не поступається мутагенній активності НМС у помірних концентраціях. Хімічний мутагенний чинник у комплексі з природно-мінеральними сполуками гірничо-хімічної сировини навіть за низьких концентрацій зберігає високу мутагенну активність. Істотне зростання у спектрі типів хромосомних аберацій частки клітин з дицентричними хромосомами може свідчити про радіоміметичні властивості хімічного генотоксиканта. Збільшення кількості клітин з множинними абераціями вказує на високу генотоксичність хімічної сполуки та небезпеку появи важких генетичних наслідків у разі потрапляння її в навколишнє середовище.

Ключові слова: озима пшениця, мутагенні чинники, хромосомні перебудови, частота аберацій, радіоміметичний ефект.

Comparative analysis of cytogenetic disorders in *Triticum aestivum* L. induced by soil xenobiotic and N-nitroso-N-methylurea

Ruslan A. Yakymchuk^{1,2✉}, Viktoriya F. Valuk², Svitlana C. Koladenko³

National dendrological park "Sofiyivka" of NAS of Ukraine, Uman
e-mail: peoplenature16@gmail.com; ORCID ID: 0000-0002-6249-4304

²Institute of Plant Physiology and Genetics of NAS of Ukraine, Kyiv
e-mail: viktoriavalyuk@gmail.com; ORCID ID: 0000-0003-2244-5927

³Ukrainian Institute for Plant Variety Examination, Kyiv
e-mail: skolyadenko@ukr.net; ORCID ID: 0000-0001-5341-8601

✉ peoplenature16@gmail.com

Abstract.

Aims. To determine the frequency and spectrum of the cytogenetic disorders, induced by a prolonged effect of the soil contamination with xenobiotic of the areas of the warehoused toxic wastes, and to identify the level of their mutagenic activity in comparison with the effect of the moderate and high concentrations of N-nitroso-N-methylurea (NMU). **Methods.** The seeds of *Triticum aestivum* L., cultivars ‘Albatros Odeskyi’ and ‘Zymoiarika’, were grown in the soil samples of the ground of toxic wastes of “OrianaGalev Ltd.”, its re-cultivated plot and Dombrovskyi career dump of potash ores, situated near Kalush city, Ivano-Frankivsk region. To study the mutagenic activity of the moderate and high concentrations of NMU, seeds were kept in 0.005, 0.01, and 0.025 % water solution of supermutagen. The frequency and spectrum of the cytogenetic disorders in the cells of the root meristem of the shoots were defined by an ana-telophase method. **Results.** The frequency of the cytogenetic disorders, induced by genotoxicants of the soil near Kalush industrial district,

exceeded the control level by 1.8–3.8 times. Under the effect of a low concentration of hexachlorobenzene in the soil together complex with available natural mineral compounds of mining-chemical raw material, the frequency of chromosome aberrations exceeded spontaneous indicators by 1.8–2.4 times. The spectrum of chromosome aberrations contained mostly acentric fragments; it was expanded due to the induction of the bridges, chromosome rings, and micro-nuclei, which were recorded under the effect of high NMU concentrations. Under the effect of hexachlorobenzene in the highest and the lowest concentrations, the indicator of the aberration number per aberrant cell, most likely, exceeded the control level statistically. **Conclusions.** The chemical soil contamination with hexachlorobenzene shows a high mutagenic activity, which, by the induction level of cytogenetic abnormalities, is almost equal to the mutagenic activity NMU in moderate concentrations. A chemical mutagenic factor in complex with natural mineral compounds of mining-chemical raw material keeps a high mutagenic activity even at low concentrations. A significant increase in share of cells with dicentric chromosomes in the spectrum of chromosome aberration types can indicate the radiomimetic properties of chemical genotoxicant. The increase in the number of cells with multiple aberrations shows the high genotoxicity of a chemical compound and the danger of facing serious genetic consequences in case the compound enters the environment.

Key words: winter wheat, mutagenic factors, chromosome aberrations, frequency of aberrations, radiomimetic effect.

Вступ/Introduction. В умовах зростаючого техногенного навантаження у вигляді фізичних і хімічних мутагенних чинників системи контролю геномних перебудов неспроможні забезпечувати їх сталий спонтанний рівень. Індуковані генетичні порушення виявляються дестабілізацією геному (Kumar & Pandey, 2015), вадами розвитку (Yahaya et al., 2017), зростанням генетичного тягаря в популяціях, змінами напряму природного добору (Car et. al., 2023), скороченням тривалості життя (Correia et al., 2013), порушенням статевого диморфізму, загибеллю особин (Kumar & Pandey, 2015) тощо. Масштаби екологічної небезпеки для України, як однієї з найбільш забруднених європейських держав, продовжують непомірно зростати внаслідок військового вторгнення росії. Масоване бомбардування та обстріл ракетами дальнього радіусу дії спричинює техногенні катастрофи на всій території України, особливо в промислово-розвинених регіонах, де сконцентровані підприємства енергетичної, видобувної, переробної, хімічної та інших галузей промисловості (Angurets et al., 2023).

На основі узагальнень результатів досліджень щодо чинників хімічного забруднення навколишнього середовища виявлено, що відходи 1–3 класу небезпеки, яких щороку в Україні утворюється до 8 млн. т, мають найвищу

генотоксичність. Їх масово було накопичено на полігонах поблизу населених пунктів, зокрема м. Калуш та прилеглих до нього сіл Кропивник і Сівка-Калуська Івано-Франківської області, що перетворило ці населені пункти в зони екологічного лиха з оголошенням Указом Президента України зоною надзвичайної екологічної ситуації (Ukraine..., 2016). Інтенсивне забруднення ґрунту, води й повітря Калуського промислового району високотоксичними сполуками із найбільшого в Європі полігону токсичних відходів ТОВ «Оріана Галев» та Домбровського кар'єру калійних руд, де було складовано лише за офіційними даними 11087,6 т гексахлорбензолу, що становить близько 50 % наявних на території України відходів I класу небезпеки (Lysychenko et al., 2015), призвело до зростання у місцевих жителів рівня генетичних патологій, вроджених аномалій, новоутворень, соматичних захворювань основних систем органів (Rozhko et al., 2014). За оцінкою міжнародних експертів ООН рекультивация території полігону і вивезення токсичних відходів для подальшої утилізації за межі країни спричинили додаткове забруднення регіону високотоксичними хімічними сполуками та викликало занепокоєння міжнародної спільноти щодо можливості виникнення транскордонної еколого-технологічної надзвичайної ситуації (Yakymchuk & Valyuk, 2018).

Більшість досліджень зводилися в основному до моніторингу та визначення величини концентрації ксенобіотиків у ґрунті, воді та продуктах харчування (Febbraio, 2017; Kovach & Lysychenko, 2017). Серед нерозв'язаних питань залишається оцінювання рівня мутагенної небезпеки для організмів хімічного забруднення ґрунту в межах територій складування токсичних відходів. Для з'ясування їхньої мутагенної активності та механізмів виникнення генетичних порушень важливо дослідити вплив генотоксикантів на функціонування ядерного апарату клітини й частоту цитогенетичних порушень. Вивчення частоти і спектра цитогенетичних аномалій, індукованих хімічним забрудненням ґрунту природного середовища в порівнянні з дією різних концентрацій всебічно вивчених супермутагенів, з-поміж яких широкого практичного значення набула N-нітросо-N-метилсечовина (НМС), дасть можливість визначити рівень мутагенної активності виявлених ксенобіотиків та можливі механізми індукування ними хромосомних перебудов і порушень мітозу.

Здебільшого для вивчення впливу шкідливих чинників довкілля на генетичний апарат живих організмів, зокрема і людини, використовують рослинні тест-об'єкти, які дають можливість визначати різні типи мутацій, не потребують значних фінансових витрат, а експерименти за їх використання можуть бути проведені у порівняно короткі терміни (Kumar & Srivastava, 2015). Найбільш інформативними і чутливими маркерами забруднення хімічними мутагенними чинниками є показники цитогенетичних порушень, а саме хромосомні аберації в клітинах рослин (Maluszynska & Juchimiuk, 2005). Оцінка мутаційного процесу за допомогою цитогенетичного аналізу дає результати, що

зіставні з результатами, отриманими методом електрофоретичного аналізу ізоферментів (Ramzaev et al., 2008).

Мета роботи — визначити частоту і спектр типів цитогенетичних порушень, індукованих пролонгованою дією забруднень ґрунту ксенобіотиком територій складування токсичних відходів і з'ясування рівня його мутагенної активності в порівнянні з дією помірних і високих концентрацій НМС.

Матеріали і методи/Materials and Methods. Мутагенну активність хімічного забруднення ґрунту 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 в чашках Петрі за температури 25 °С у зволжених дистильованою водою зразках ґрунту, відібраних відповідно до стандартних методик (АЕА-ТЕСДОС-1415) у межах полігону токсичних відходів (49°04' пн. ш. 24°19' сх. д.), його рекультивованої ділянки (49°05' пн. ш. 24°19' сх. д.) та відвалів Домбровського кар'єру (49°01' пн. ш. 24°20' сх. д.). Концентрації гексахлорбензолу у 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 в її водному розчині за концентрацій 0,005, 0,01 та 0,025 %, після чого висівали в чашки Петрі на фільтрувальний папір, зволожений дистильованою водою. За контроль використовували насіння, замочене в дистильованій воді.

Первинні корінці завдовжки 0,8–1,0 см фіксували протягом 4 год у фіксаторі Кларка (суміш 96 % етилового спирту і льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1). Їх хімічну мацерацію здійснювали впродовж 1 хв в 1 н розчині соляної кислоти. По завершенню мацерації корінці витримували протягом 24 год за температури 23–25 °С у розчині ацетоорсеїну. Для мікроскопічного аналізу готували тимчасові давлені цитологічні препарати (Singh, 2018). Мікроскопічне вивчення клітин кореневої меристеми проводили із застосуванням мікроскопу «JENAVAL» (Carl Zeiss Jena) при збільшенні $\times 900$. Під час визначення частоти хромосомних аберацій та порушень мітозу до уваги брали клітини, що перебували в анафазі та ранній телофазі. Вибірка для кожного варіанту становила не менше як 1000 клітин, які аналізувалися в 20 і більше первинних корінцях. При розрахунку середньої кількості аберацій на аберагентну клітину до уваги брали клітини з 0, 1, 2 та множинними хромосомними абераціями («>2» аберацій). Статистичний аналіз експериментальних даних здійснювали загальноприйнятими методами (Atramentova & Utievska, 2007), достовірність різниці оцінювали за критерієм Ст'юдента.

Результати та обговорення/Results and Discussion. Пролонгована дія на насіння пшениці хімічних чинників забруднення ґрунту із територій полігону токсичних відходів ТОВ «Оріана Галев» і Домбровського кар'єру калійних руд м. Калуш викликала в клітинах меристеми первинних корінців озимої пшениці зростання частоти хромосомних аберацій, що становила 1,51–2,35 % для сорту 'Альбатрос одеський' і 1,37–2,51 % у сорту 'Зимоярка', перевищуючи контрольний рівень у 1,8–3,8 рази (рис. 1).

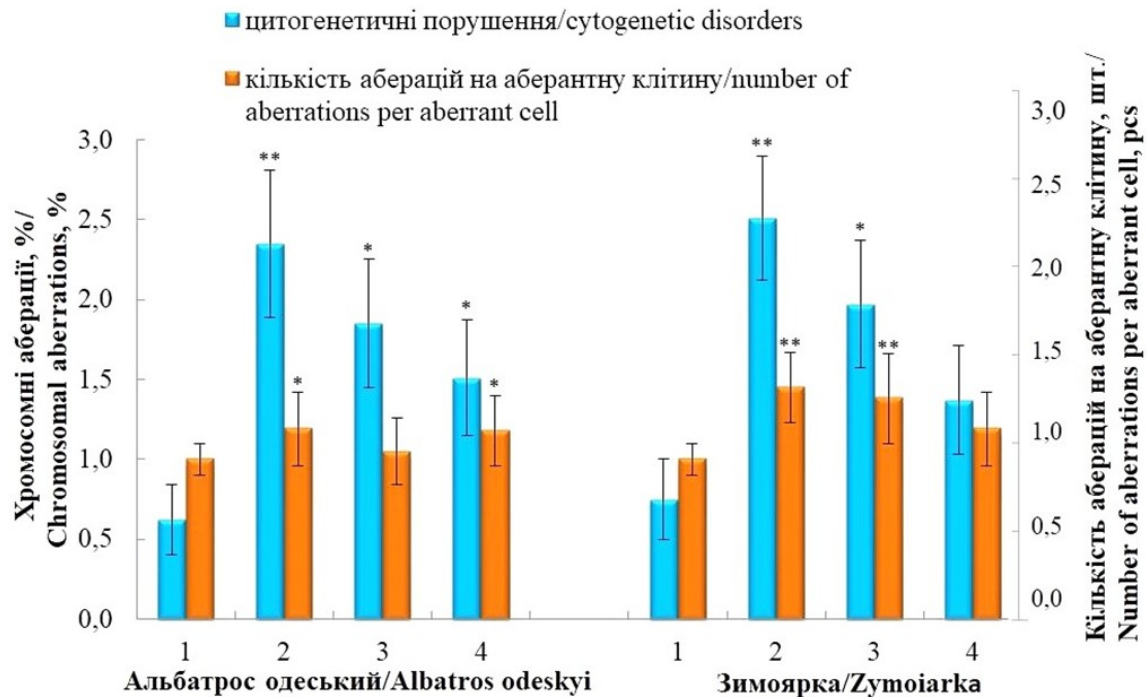


Рисунок 1. Частота цитогенетичних порушень у *T. aestivum*, індукованих забрудненням ґрунту хімічним мутагенним чинником:

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

Figure 1. Frequency of cytogenetic disorders in *T. aestivum* induced by soil contamination with a chemical mutagenic factor:

1 — Svatky village, Poltava rgn. (control), 2 — toxic waste ground of LLC "Oriana Halev", 3 — Recultivated area of the toxic waste ground of LLC "Oriana Halev", 4 — Dombrovskiy potash ore mine

* — різниця відносно контролю статистично достовірна за $P < 0,05$,

** — різниця відносно контролю статистично достовірна за $P < 0,01$

* — difference as to the control is statistically reliable at $P < 0.05$,

** — difference as to the control is statistically reliable at $P < 0.01$

Найвищі її значення — 2,35 % для сорту ‘Альбатрос одеський’ і 2,51 % для сорту ‘Зимоярка’, виявлено на ділянках полігону токсичних відходів з найбільшою концентрацією у ґрунті гексахлорбензолу. Частота цитогенетичних порушень перевищувала в 3,4–3,8 рази контрольний рівень. У ґрунті рекультивованої ділянки полігону концентрація залишкових кількостей гексахлорбензолу, порівняно з попереднім варіантом, була вдвічі меншою. Проте хімічне забруднення продовжувало зберігати високу мутагенну активність, чим спричинило істотне зростання в 2,6–3,0 рази кількості абераційних клітин кореневої меристеми. Зниження частоти цитогенетичних порушень незалежно від генотипу сорту озимої пшениці лише в 1,3 рази при зменшенні концентрації мутагену вдвічі свідчить про відсутність прямої залежності між інтенсивністю забруднення ґрунту гексахлорбензолом і рівнем цитогенетичних аномалій.

Перевищення в 1,8–2,4 рази рівня хромосомних аберацій і аномалій мітозу в порівнянні з контрольними показниками виявлено за умов впливу на клітини кореневої меристеми хімічних мутагенних чинників ґрунту відвалів Домбровського кар’єру калійних руд. Ґрунти з відвалів Домбровського кар’єру включають розкриті породи, які містять галіт, каїніт, лангбейніт, сільвін, кізерит, полігаліт, ангідрит, шеніт, леоніт та сполуки Ni, Fe, Mn, Pb, Cr, Me, концентрації яких істотно перевищують визнані допустимі норми (Haidin et al., 2014). Крім того, в межах відвалів кар’єру відбулося несанкціоноване захоронення тисяч тон особливо небезпечних хімічних речовин — гексахлорбензолу й амінів, які, в міру їх неналежного ізолювання, можуть потрапляти до поверхневих шарів ґрунту. Тому збереження високої частоти хромосомних аберацій за подальшого зниження майже у 8 разів інтенсивності забруднення ґрунту гексахлорбензолом може розглядатись як наслідок кумулятивного або синергетичного ефекту комплексної дії низьких концентрацій ксенобіотиків з природномінеральними сполуками гірничо-хімічної сировини. Наявність синергетичного ефекту за дії хімічних чинників навколишнього середовища, які особливо помітні за малих концентрацій, доведено на сочевиці звичайній *Lens culinaris* Medik. (Laskar & Khan, 2017), фізалісі перуанському *Physalis peruviana* L. (Gupta et al., 2018), нематоді *Caenorhabditis elegans* (Guo et al., 2014) та на клітинах людини (Devid et al., 2016). 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 %, а для сорту ‘Зимоярка’ — 5,82 %, за показників контролю відповідно 0,78 % і 0,58 % (рис. 2).

Подальше подвоєння концентрації НМС (0,01 %) спричинило 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 разів. Проте статистично

достовірної різниці між показниками частоти абераційних клітин, індукованих НМС в концентраціях 0,05 і 0,01 %, не виявлено.

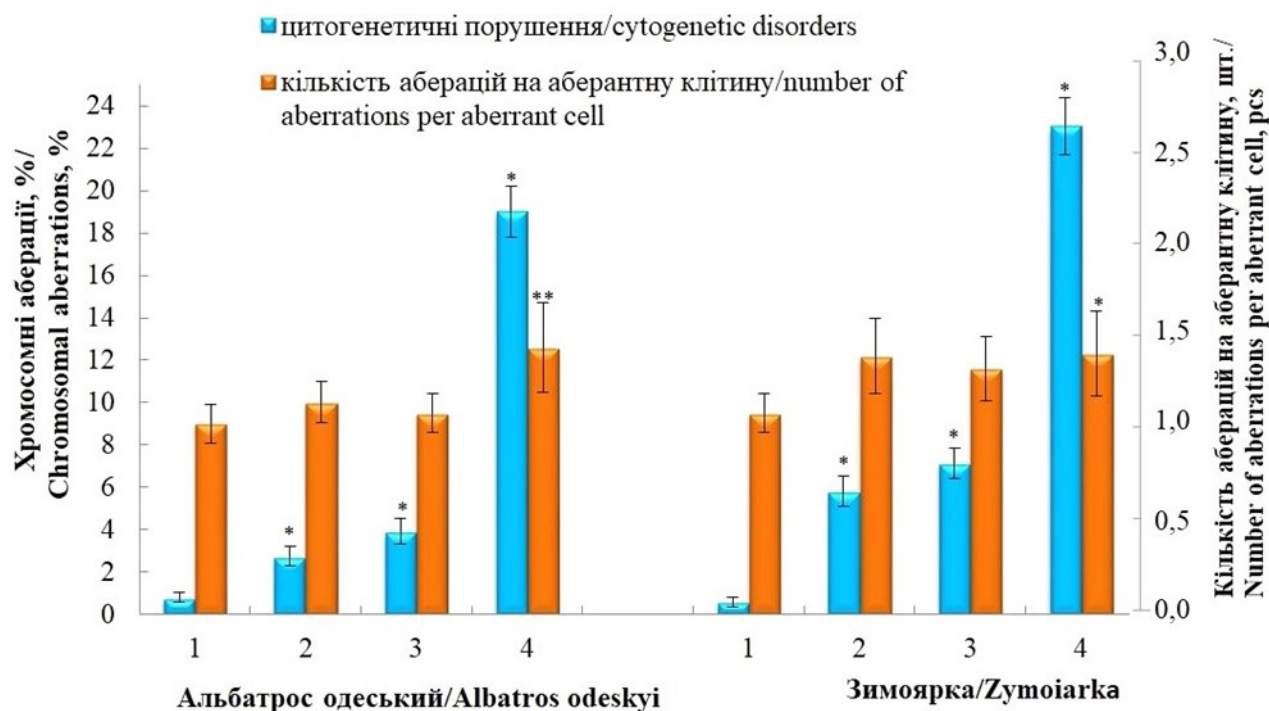


Рисунок 2. Частота цитогенетичних порушень у *T. aestivum*, індукованих НМС: 1 — вода (контроль), 2 — НМС 0,005 %, 3 — НМС 0,01 %, 4 — НМС 0,025 %

Figure 2. Frequency of cytogenetic disorders in *T. aestivum* induced by NMU:

1 — water (control), 2 — NMU 0.005 %, 3 — NMU 0.01 %, 4 — NMU 0.025 %

* — різниця відносно контролю статистично достовірною за $P < 0,01$

* — difference as to the control is statistically reliable at $P < 0.01$

Можна припускати, що відсутність істотної різниці між частотою клітин з хромосомними абераціями за дії НМС в концентраціях 0,005 % і 0,01 % та забруднень гексахлорбензолом ґрунту полігону захоронення токсичних відходів і його рекультивованої ділянки пов'язана зі зростанням за вищих концентрацій мутагенів точкових мутацій — специфічних генетичних порушень, які не ідентифікуються за допомогою цитогенетичного аналізу та для свого виявлення потребують вивчення мутаційної мінливості рослин на рівні фенотипних і молекулярно-генетичних спадкових змін. Нелінійну залежність генетичних порушень від концентрації хімічних мутагенів також пов'язують з різною ефективністю процесів репарації та різними шляхами їх біотрансформації (Budinsky et al., 2013; Zhu et al., 2020).

Подальше збільшення концентрації НМС в 2,5 рази (0,025 %) супроводжувалось індукуванням у меристематичних клітинах первинних корінців найвищого рівня цитогенетичних порушень, що перевищував

контрольні показники в 24,4–39,7 рази. Істотне зростання кількості клітин з хромосомними перебудовами вказує на радіоміметичний ефект впливу хімічного мутагену у високій концентрації. Перевагою хімічних сполук за низьких та помірних концентрацій у порівнянні з радіацією є висока частота індукування точкових мутацій та низький рівень хромосомних перебудов (Venken & Bellen, 2014; Oladosu et al., 2016). Проте хімічні мутагени у високих концентраціях діють діаметрально протилежно, індукуючи найбільшою мірою пошкодження ядерного апарату клітини у вигляді перебудов хромосом та анеуплоїдії, що відповідає жорсткій дії іонізуючого опромінення.

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 варіанту, містив мікроядра, ацентричні хромосомні кільця та хромосоми, що відстають (рис. 3, *a, b*).

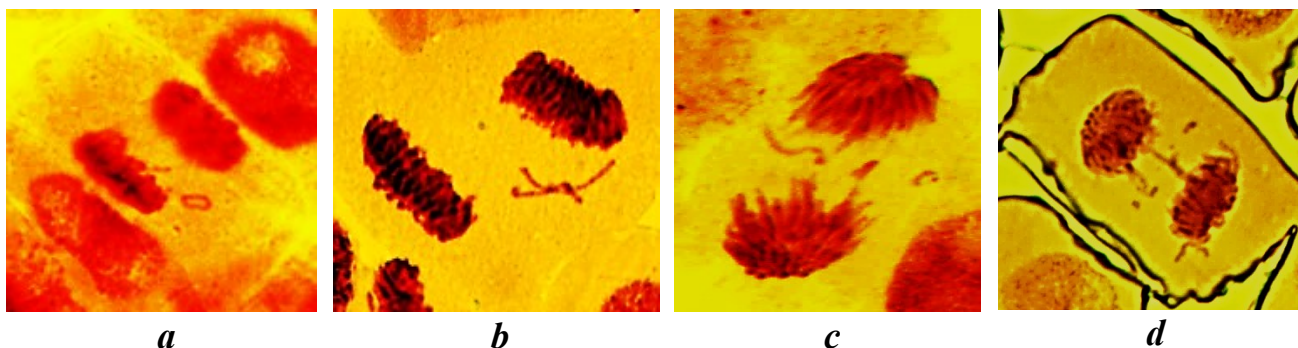


Рисунок 3. Хромосомні аберації та порушення мітозу в кореневій меристемі *T. aestivum*, індуковані забрудненням ґрунту токсичними відходами: *a* — хромосомне кільце, *b* — хромосома, що відстає, *c* — парні ацентричні фрагменти і хромосома, що відстає, *d* — мультиаберації

Figure 3. Chromosomal aberrations and mitotic disorders in the root meristem of *T. aestivum* induced by soil contamination with toxic waste: *a* — ring chromosome, *b* — lagging chromosome, *c* — paired acentric fragments and lagging chromosome, *d* — multiaberrations

Виявлено залежність частоти індукування окремих типів хромосомних аберацій від генотипу рослин та концентрації діючої речовини. Збільшення частоти хромосомних аберацій в 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’ (рис. 4).

Унаслідок впливу на кореневу меристему пшениці забруднення ґрунту гексахлорбензолом у нижчих концентраціях, що характерно для рекультивованої ділянки полігону токсичних відходів, частота клітин з

ацентричними фрагментами зберігалася на рівні попереднього варіанту і становила 0,88 % для сорту ‘Альбатрос одеський’ і 0,90 % для сорту ‘Зимоярка’.

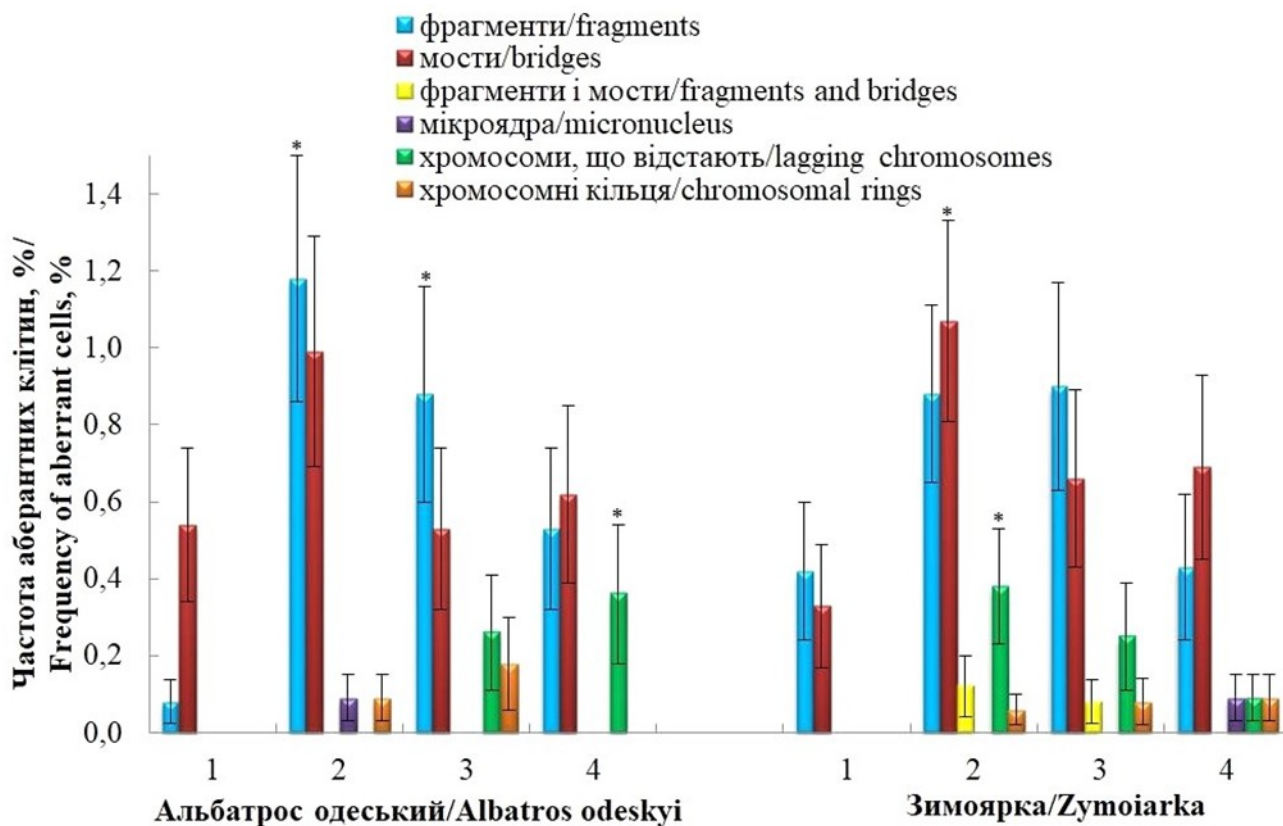


Рисунок 4. Спектр цитогенетичних порушень у *T. aestivum*, індукованих забрудненням ґрунту хімічним мутагенним чинником:

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

Figure 4. Spectrum of cytogenetic disorders in *T. aestivum* induced by soil contamination with a chemical mutagenic factor:

1 — Svatky village, Poltava rgn. (control), 2 — toxic waste ground of LLC “Oriana Halev”, 3 — Recultivated area of the toxic waste ground of LLC “Oriana Halev”, 4 — Dombrovskiy potash ore mine

* — різниця відносно контролю статистично достовірна за $P < 0,05$

* — difference as to the control is statistically reliable at $P < 0.05$

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’.

Варіювання частоти фрагментів і мостів у залежності від генотипу рослин та концентрації мутагену також виявлено за впливу на озиму пшеницю НМС (рис. 5).

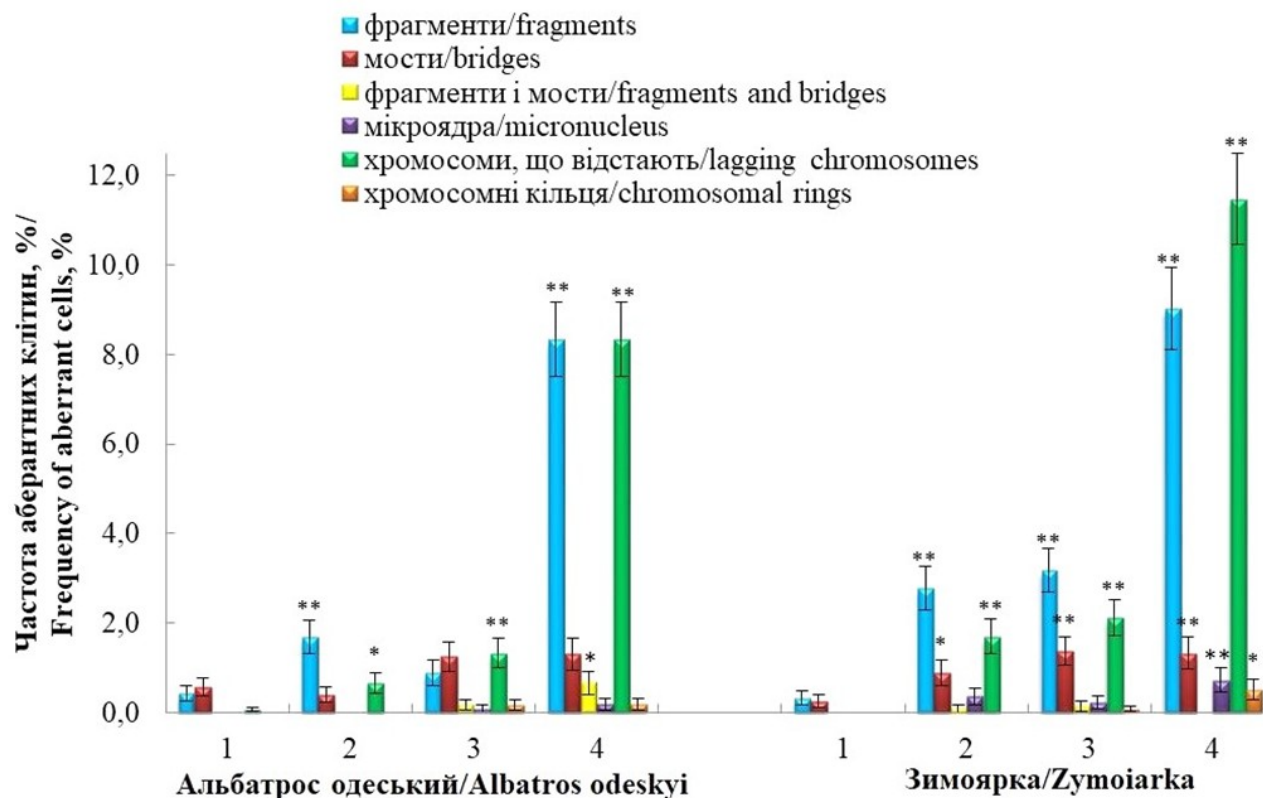


Рисунок 5. Спектр цитогенетичних порушень у *T. aestivum*, індукованих НМС: 1 — вода (контроль), 2 — НМС 0,005 %, 3 — НМС 0,01 %, 4 — НМС 0,025 %

Figure 5. Spectrum of cytogenetic disorders in *T. aestivum* induced by NMU:

1 — water (control), 2 — NMU 0.005 %, 3 — NMU 0.01 %, 4 — NMU 0.025 %

* — різниця відносно контролю статистично достовірна за $P < 0,05$

** — різниця відносно контролю статистично достовірна за $P < 0,01$

* — difference as to the control is statistically reliable at $P < 0.05$

** — difference as to the control is statistically reliable at $P < 0.01$

Дія супермутагену в концентрації 0,005 % викликала в мітотичних клітинах кореневої меристеми проростків пшениці сорту ‘Зимоярка’ істотне зростання як ацентричних фрагментів, так і хроматидних мостів (відповідно 2,78 % і 0,89 %, при контрольному рівні 0,33 % і 0,25 %), тоді як у клітинах кореневої меристеми сорту ‘Альбатрос одеський’ зростала лише частота ацентричних фрагментів (1,69 %, за їх рівня в контролі 0,43 %). Підвищення концентрації НМС до 0,01 % супроводжувалось подальшим істотним зростанням у клітинах меристеми сорту ‘Зимоярка’ частоти фрагментів і мостів, проте в кореневій меристемі проростків сорту ‘Альбатрос одеський’ спостерігалось зменшення кількості клітин з ацентричними фрагментами

(0,89 %) та зростання клітин з дицентриками (1,25 %). За впливу НМС у високій концентрації (0,025 %) для обох сортів виявлено істотне зростання ацентричних фрагментів (8,34–9,02 %), більшість з яких були парними. Показник частоти анателофазних клітин з хроматидними мостами, у порівнянні з попереднім варіантом впливу мутагену, істотно не змінювався.

Здебільшого індукування з високою частотою мостів, зокрема хромосомних, вважається характерним цитогенетичним наслідком впливу іонізуючих випромінювань (Syaifudin et al., 2017; Anderson, 2019). Утворення в кореневій меристемі пшениці великої кількості клітин з дицентриками, викликане дією забруднень ґрунту гексахлорбензолом у межах полігону токсичних відходів м. Калуш, свідчить про радіоміметичні властивості хімічної сполуки, які, за результатами досліджень з вивчення мутагенної активності НМС, можуть проявлятися в умовах впливу високих концентрацій мутагену.

Забруднення ґрунту досліджених територій гексахлорбензолом спричинило появу клітин з хромосомними ацентричними кільцями, що може свідчити про відсутність спорідненості хімічних мутагенів з генетичними структурами клітини та механізмом їхньої дії за принципом мішені — випадково. Їх утворення пов'язане з втратою прителомерних фрагментів, внаслідок чого зникає зв'язок хромосом з ядерною оболонкою та порушується архітектоніка ядра (Bursed et al., 2022).

Спектр типів цитогенетичних порушень у міру зростання концентрації НМС також розширювався за рахунок появи хромосомних кілець. Вони вважаються маркерами радіаційного впливу (Marković et al., 2017), тому поява таких хромосомних аберацій за дії НМС в концентрації 0,025% та забруднень ґрунту гексахлорбензолом у місцях його складування з частотою відповідно 0,19–0,51% і 0,06–0,19% підтверджує радіоміметичні властивості досліджених хімічних сполук.

Негативна дія хімічного забруднення ґрунту територій полігону токсичних відходів і Домбровського кар'єру проявилася в утворенні анеуплоїдних клітин з частотою 0,09–0,38 % . Статистично достовірне зростання частоти індукування хромосом, що відстають, спричинило хімічне забруднення ґрунту полігону токсичних відходів та відвалу Домбровського кар'єру, що становило відповідно 0,38 % для сорту 'Зимоярка' і 0,36 % для сорту 'Альбатрос одеський'. Істотне зростання частоти порушень сегрегації хромосом, яке виявлене за дії забруднень ґрунту гексахлорбензолом у межах полігону токсичних відходів і Домбровського кар'єру може бути наслідком взаємодії мутагену не лише з білками мікротрубочок веретена поділу, але і з гетерохроматином прицентромерних ділянок хромосом. Унаслідок аналізу частоти індукування анеугенних ефектів за дії НМС у концентраціях 0,005 і 0,01 % з'ясувалося, що рівень клітин з відстаючими хромосомами перебував у прямій залежності від концентрації супермутагену. Частота утворення в кореневій меристемі проростків сортів 'Альбатрос одеський' і 'Зимоярка' клітин з хромосомами, що

відстають, становила відповідно 0,65–1,33 % і 1,70–2,12 %. Істотне збільшення частоти цитогенетичних порушень за рахунок анеуплоїдних клітин виявлено за високої концентрації хімічного мутагену (0,025 %), що становить 8,34 % для сорту ‘Альбатрос одеський’ і 11,47 % для сорту ‘Зимоярка’. Вважають, що НМС основний внесок у мутагенний ефект здійснює не за рахунок прямої атаки мутагену молекул ДНК, а в результаті реакції взаємодії продуктів її розпаду з біополімерами та, як один із наслідків, блокування ниток веретена поділу. Хімічний мутаген у високих концентраціях діє безпосередньо на гетерохроматин хромосоми в районі центромери, що спричинює відставання хромосоми в анателофазі мітозу (Morgun et al., 2019). Зважаючи на недостатнє вивчення механізмів хімічної взаємодії гексахлорбензолу зі спадковими структурами клітини, можна припускати, що його висока мутагенна активність зумовлена утворенням низки високотоксичних сполук унаслідок метаболізму мутагену в рослинній клітині.

З-поміж аберантних клітин, індукованих забрудненням ґрунту хімічними мутагенами, виявлено клітини, що несли відразу більше двох хромосомних перебудов. Найвищими показниками кількості аберацій на аберантну клітину, що прирівнювались до показників, виявлених за помірних і високих концентрацій НМС, характеризувались клітини меристеми первинних корінців проростків озимої пшениці сорту ‘Зимоярка’, які зазнали впливу забруднень ґрунту гексахлорбензолом полігону токсичних відходів (1,45) і рекультивованої його ділянки (1,38). Комплексні цитогенетичні порушення в меристематичних клітинах сорту ‘Альбатрос одеський’ утворювались з меншою частотою, проте за дії гексахлорбензолу в найвищій і найнижчій концентраціях, що характерно для забруднень ґрунту полігону токсичних відходів і відвалів Домбровського кар’єру, показник кількості аберацій на аберантну клітину статистично достовірно перевищував контрольний рівень. Більшість цитогенетичних аномалій у клітинах з множинними абераціями були представлені ацентричними фрагментами й хромосомами, що відстають. Виявлено також клітини, що включали одночасно три ацентричні фрагменти, дві хромосоми, що відстають, одиничний ацентричний фрагмент і міст, парні ацентричні фрагменти і міст, парні ацентричні фрагменти і хромосому, що відстає (див. рис. 2, *c*, *d*). Важкі цитогенетичні порушення, індуковані низькими концентраціями гексахлорбензолу в ґрунті можуть бути пов’язані з кумулятивним чи синергетичним ефектом їхньої комбінованої дії з хімічними чинниками природного походження.

Висновки/Conclusions. Забруднення ґрунту Калуського промислового району ксенобіотиком проявлялося у високій мутагенній активності, що за рівнем індукування цитогенетичних аномалій у кореневій меристемі озимої пшениці перевищувала в 1,8–3,8 рази контрольні показники, що зіставно з проявами мутагенної активності НМС у помірних концентраціях. Забруднення гексахлорбензолом ґрунту рекультивованої ділянки полігону токсичних

відходів призводило до підвищення у 2,6–3 рази частоти аберантних клітин, що продовжує становити загрозу для геному живих організмів. Забруднення ґрунту гексахлорбензолом у комплексі з природно-мінеральними сполуками гірничо-хімічної сировини навіть за низьких концентрацій зберігає високу мутагенну активність. Спектр хромосомних аберацій, який переважно містить типові для хімічного мутагенезу ацентричні фрагменти, розширювався за рахунок індукування дицентриків, хромосомних кілець і мікроядер. Істотне зростання частки клітин з дицентричними хромосомами у спектрі типів хромосомних аберацій, викликаних дією забруднення ґрунту полігону гексахлорбензолом з токсичних відходів, може свідчити про радіоміметичні властивості хімічного цього генотоксиканта. Збільшення кількості клітин з множинними абераціями, індукованими дією забруднення ґрунту досліджуваних об'єктів гексахлорбензолом вказує на високу генотоксичність хімічної сполуки та небезпеку появи важких генетичних наслідків у разі потрапляння її в навколишнє середовище.

Список посилань/References

- Anderson, R. M. (2019). Cytogenetic Biomarkers of Radiation Exposure. *Clinical Oncology*. No 31. P. 311–318. DOI: 10.1016/j.clon.2019.02.009.
- Angurets, O., Khazan, P., Kolesnikova, K., Kush, M., Chernokhova, M., & Navranek, M. (2023). Naslidky dlya dovkilliya viyny rosiyi proty Ukrayiny. URL: <https://cleanair.org.ua/wp-content/uploads/2023/03/cleanair.org.ua-war-damages-ua-version-04-low-res.pdf> (accessed 20.09.23). (in Ukrainian).
- Atramentova, L. O., & Utievska, O. M. (2007). *Biometriia*. Kharkiv: Ranok. 176 p. (in Ukrainian).
- Budinsky, R., Gollapudi, B., Albertini, R. J., Valentine, R., Stavanja, M., Teegarden, J., Fensterheim, R., Rick, D., Lardie, T., McFadden, L., Green, A., & Recio L. (2013). Nonlinear responses for chromosome and gene level effects induced by vinyl acetate monomer and its metabolite, acetaldehyde in TK6 cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. Vol. 54. No 9. P. 691–768. DOI: 10.1002/em.21809.
- Bursted, B., Zamariolli, M., Bellucco, F. T., & Melaragno, M. I. (2022). Mechanisms of structural chromosomal rearrangement formation. *Molecular Cytogenetic*. No 15. P. 1–19. DOI: 10.1186/s13039-022-00600-6.
- Car, C., Gilles, A., Goujon, E., Muller, M.-L. D., Camoin, L., Frelon, S., Burraco, P., Granjeaud, S., Baudelet, E., Audebert, S., Orizaola, G., Armengaud, J., Tenenhaus, A., Garali, I., Bonzom, J.-M., & Armant, O. (2023). Population transcriptogenomics highlights impaired metabolism and small population sizes in tree frogs living in the Chernobyl Exclusion Zone. *Evolutionary Applications*. Vol. 15. No 2. P. 203–219. DOI: 10.1111/eva.13282.
- Correia, A. W., Pope, C. A., Dockery, D. W., Wang, Yu., Ezzati, M., & Dominici F. (2013). The effect of air pollution control on life expectancy in the

United States: an analysis of 545 US counties for the period 2000 to 2007. *Epidemiology*. Vol. 24. No 1. P. 23–31. DOI: 10.1097/EDE.0b013e3182770237.

David, R., Ebbels, T., & Gooderham, N. (2016). Synergistic and antagonistic mutation responses of human MCL-5 cells to mixtures of benzo[a]pyrene and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine: dose-related variation in the joint effects of common dietary carcinogens. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 124. No 1. P. 88–96. DOI: 10.1289/ehp.1409557.

Febbraio, F. (2017). Biochemical strategies for the detection and detoxification of toxic chemicals in the environment. *World Journal of Biological Chemistry*. Vol. 8. No 1. P. 13–20. DOI: 10.4331/wjbc.v8.i1.13.

Guo, X., Bian, P., Liang, J., Wang, Y., Li, L., Wang, J., Yuan, H., Chen, Sh., Xu, A., & Wu, L. (2014). Synergistic effects induced by a low dose of diesel particulate extract and ultraviolet-A in *Caenorhabditis elegans*: DNA damage-triggered germ cell apoptosis. *Chemical Research in Toxicology*. Vol. 27. No 6. P. 990–1001. DOI: 10.1021/tx500137f.

Gupta, A. K., Singh, S. P., Singh, M., & Marboh, E. S. (2018). Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and EMS on cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. Vol. 7. No 2. P. 3254–3260. DOI: 10.20546/ijcmas.2018.702.390.

Haidin, A. M., Diakiv, V. O., & Chikova, I. V. (2014). Kalush – programa revitalizacii'. *Technogenic and Ecological Safety*. Vol. 10. No 2. P. 102–107. (in Ukrainian).

Kovach, V., & Lysychenko, G. (2017). Toxic soil contamination and its mitigation in Ukraine. *Soil Science Working for a Living: Applications of soil science to present-day problems* [Eds.: David Dent & Yuriy Dmytruk]. Chan: Springer International Publishing. P. 191–201. DOI:10.1007/978-3-319-45417-7_18.

Kumar, G., & Pandey, A. (2015). Heavy metal induced genomic distortion in root meristems of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *International Journal of Research Plant Sciences*. Vol. 4. No 5. P. 47–53.

Kumar, G., & Srivastava, A. (2015). Clastogenic and mito-inhibitory effect of heavy metals in root meristems of *Vicia faba*. *Chromosome Botany*. Vol. 10. No 1. P. 23–29. DOI: 10.3199/iscb.10.23.

Laskar, R. A. & Khan, S. (2017). Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and HZ with phenotyping of induced mutations in lentil cultivars. *International Letters of Natural Sciences*. No 64. P. 17–31. DOI: 10.18052/www.scipress.com/ILNS.64.17.

Lysychenko, G., Weber, R., Kovach, V., Gertsyuk, M., Watson, A., & Krasnova I. (2015). 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*. Vol. 22. No 19. P. 14391–14404. DOI: 10.1007/s11356-015-5184-1.

Maluszynska, J., & Juchimiuk, J. (2005). Plant genotoxicity: a molecular cytogenetic approach in plant bioassays. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. No 56. P. 177–184.

Marković, S. Z., Nikolić, L. I., Hamidović, J. Lj., Grubor, M. G., Grubor, M. M., & Kastratović, D. A. (2017). Chromosomes aberrations and enviromental factors. *Hospital Pharmacology*. Vol. 4. No 1. P. 486–490. DOI: 10.5937/hpimj1701486M.

Morgun, V. V., Yakymchuk, R. A., & Azizov, I. V. (2019). Peculiarities of the mechanisms of spontaneous, and induced by ionizing radiation and chemical factors mutagenesis. *Plant Physiology and Genetics*. Vol. 51. No 6. P. 463–481. DOI: 10.15407/frg2019.06.463.

Oladosua, Y., Rafii, M. Y., Abdullaha, N., Hussind, G., Ramlie, A., Rahimf, H. A., Miaha, G., & Usmana M. (2016). Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. Vol. 30. No 1. P. 1–16. DOI: 10.1080/13102818.2015.1087333.

Ramzaev, V., Bøtter-Jensen, L., & Thomsen, K. J. (2008). An assessment of cumulative external doses from Chernobyl fallout for a forested area using the optically stimulated luminescence from quartz inclusions in bricks. *Journal of Environmental Radioactivity*. Vol. 99. No 7. P. 1154–1164. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2008.01.014.

Singh, R. J. (2018). *Practical manual on plant cytogenetics*. Boca Raton: CRC Press. 346 p. DOI: 10.4324/9781351228268.

Syaifudin, M., Lusiyanti, Y., Purnami, S., Lee, Y. S., & Kang, C. M. (2017). Assessment of ionizing radiation induced dicentric chromosome and micronuclei in human peripheral blood lymphocytes for preliminary reconstruction of cytogenetic biodosimetry. *Atom Indonesia*. Vol. 43. No 1. P. 47–54. DOI: 10.17146/aij.2017.624.

Ukraine Country Environmental Analysis. (2016). *The International Bank for Reconstruction and Development*. Washington: The World Bank, 1818 H Street NW. 106 p.

Venken, K. J. T., & Bellen, H. J. (2014). Chemical mutagens, transposons, and transgenes to interrogate gene function in *Drosophila melanogaster*. *Methods*. Vol. 68. No 1. P. 15–28. DOI: 10.1016/j.ymeth.2014.02.025.

Yahaya, T., Obaroh, I., & Oladele, E. O. (2017). The roles of environmental pollutants in the pathogenesis and prevalence of diabetes: a review. *Journal of Applied Science and Environmental Management*. Vol. 21. No 1. P. 5–8. DOI: 10.4314/jasem.v21i1.1.

Yakymchuk, R. A., & Valyuk, V. F. (2018). Soil mutagenic activity in hazardous waste site of Kalush City (Western Ukraine). *Ukrainian Journal of Ecology*. Vol. 8. No 1. P. 880–886. DOI: 10.15421/2018_288.

Zhu, Y., Ong, C. S., & Huttley, G. A. (2020). Machine learning techniques for classifying the mutagenic origins of point mutations. *Genetics*. Vol. 215. No 1. P. 25–40. DOI: 10.1534/genetics.120.303093.