

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
РЕСПУБЛІКАНСЬКИЙ НАУКОВИЙ ГІГІЄНИЧНИЙ ЦЕНТР

На правах рукопису

Зубко Олена Сергіївна

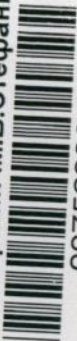
" ЕКОЛОГО-ГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА ТЕРИТОРІЙ З РІЗНОЮ  
ІНТЕНСИВНІСТЮ ЗАСТОСУВАННЯ ПЕСТИЦИДІВ "

03. 00. 15 - Генетика

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття вченого ступеню  
кандидата біологічних наук

Київ - 1994 р.



АВ 30,040

Дисертація є рукописом.

Робота виконана в Українському науково-дослідному  
інституті екології та токсикології кімичних речовин  
ім. Н. І. Медаїда.

Науковий керівник:  
доктор біологічних наук

Курінний Аркадій Йосипович

Офіційні опоненти:  
доктор біологічних наук  
професор  
кандидат біологічних наук

Демидов Сергій Вікторович  
Дуган Олександр Мартен'янович

Провідна організація: Львівський державний університет

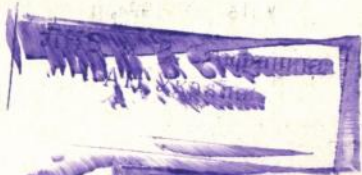
Захист відбудеться " " 27.05 1994 р. на  
васіданні спеціалізованої Вченої ради Д 01. 87. 01 при Ук-  
раїнському науковому гігієнічному центрі.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці  
Республіканського наукового гігієнічного центру.

Автореферат розіславляй " " \_\_\_\_\_ 1994 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої Вченої ради  
К. М. Н.

Селеньов Борис Іванович



Актуальність теми. Високий ступінь хімізації всіх галузей народного господарства супроводжується як територіальною асоціацією, так і глобальним забрудненням навколишнього середовища. Накопичення в атмосфері, гідросфері та літосфері ксенобіотиків, більшість з яких являється мутагенами, створює реальну загрозу для генофондів всього живого, включаючи людину. Це підтверджується багаточисленними даними по біоіндикації мутагенів в навколишньому середовищі. Так, отримані свідчення про мутагенну активність зразків повітря, відібраних в містах (Дуган та ін., 1993; Краков, 1990; Дурнев, 1990; Sewawaueg, 1989) та сільських місцевостях (Houdt, 1987; Alink, 1984). Показана наявність мутагенів в питній воді (Абилова, 1990; Курасова, 1990) та воді природних водойм (Якубов, 1992; Абилова, 1990; Цицугіна, 1989; Al-Nakkak, 1988). Мутагенну дію було відмічено при вивченні зразків ґрунту, відібраних на території, забруднених промисловими відходами (Дуган та ін., 1991; Іванченко, 1991; Wpong, 1988), а також в районах з інтенсивним землекористуванням (Meuk, 1987; Coggel-mall, 1982).

Рішення екологічних проблем в зв'язку з забрудненням навколишнього середовища не повинно зводитися до санітарно-гігієнічної оцінки, яка ґрунтується виключно на фізико-хімічних методах виявлення шкідливих речовин. В умовах комбінованої дії багаточислених факторів хімічної та фізичної природи тільки при комплексному використанні методів виявлення та ідентифікації забруднювачів з методами біоіндикації токсичних та мутагенних сполук можна отримати достатньо об'єктивну картину стану навколишнього середовища.

Результати досліджень по біоіндикації мутагенів необхідно враховувати при розробці заходів направлених на попередження росту захворювань генетичної етіології.

Порівняльна оцінка стану різних регіонів по мутагенному фону може стати основою для диференційованого регіонального регламентування застосування пестицидів.

Мета та задачі дослідження. Метою даної роботи є вивчення та порівняльна оцінка по мутагенному фону територій в різному інтенсивності застосування пестицидів.

Для здобуття поставленої мети необхідно було вирішити наступні задачі:

1. Визначити рівні регіонального та біосферного мутагенного фону в різних фізико-географічних зонах України шляхом біоіндикації мутагенів у ґрунті на територіях заловідників.
2. Визначити рівні мутагенних впливів на територіях в різному інтенсивності застосування пестицидів.
3. Визначити рівень мутаційної мінливості деяких сільськогосподарських рослин в обстежуваних районах.
4. Дати якісно-кількісну оцінку стану обстежених територій по інтенсивності мутагенних впливів.

Наукова новизна результатів досліджень. В роботі вперше проведені системні еколого-генетичні дослідження з оцінки територій по мутагенному фону та дана якісно-кількісна оцінка територій в попарно-порівняваних регіонах з різною інтенсивністю застосування пестицидів:

- низький/середній рівень хімізації сільського господарства (Закарпатська область України);
- високою інтенсивністю застосування пестицидів (Ташкентська область Узбекистану).

Вперше проведена біоіндикація мутагенів на території їх заповідників, розташованих в різних фізико-географічних зонах України.

Науково-практична значимість роботи. Отримані результати свідчать про необхідність диференційованого регіонального регламентування пестицидів. Показана можливість картування території України по мутагенному фону. Результати дисертаційної роботи можуть бути використані при розробці рекомендацій по проведенню природо-охоронних заходів в різних регіонах України.

Положення, що вносяться на захист.

1. Результати досліджень, виконаних на територіях заповідників, розташованих в різних фізико-географічних регіонах, свідчать про забрудненість території України мутагенними та токсичними речовинами.

2. Хімічні засоби захисту рослин, незважаючи на багаторічний скринінг на мутагенність та заборону використання в якості пестицидів небезпечних мутагенів, залишається мутагенним фактором навколишнього середовища малої інтенсивності.

3. Згідно класифікації по мутагенному фону, стан обстежених територій в Узбекистані та Україні, відрізняються по інтенсивності застосування пестицидів, визначено відповідно, як "критичний" та "конфліктний".

Апробація роботи. Результати досліджень докладені на секції генетичних аспектів проблеми "Человек и биосфера" (Фрунзе, 1990; Караганда, 1990); на II Всесоюзному з'їзді медичних генетиків (Алма-Ата, 1990); на VI з'їзді УГГІС (Полтава, 1992); на VI з'їзді ВОГІС (Мінськ, 1992); на конференції молодих вчених "Актуальні проблеми фізіології рослин і генетики" (Київ, 1992).

Публікації. По матеріалам дисертації опубліковано 8 робіт.

Структура та об'єм дисертації. Дисертація містить наступні розділи: вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати власних досліджень, обговорення, висновки. Робота викладена на 159 сторінках друкарського тексту, містить 21 таблицю та 31 малюнок. Список літератури складається з 220 назв.

З М І С Т Р О Б О Т И

1. Матеріали і методи досліджень.

При еколого-генетичній оцінці територій по інтенсивності мутагенних впливів були використані в якості тест-об'єктів вищі рослини: цибуля ріпчаста - *Allium cepa*; трідеканція - *Tradescantia poludosa* клон 02; сільськогосподарські рослини: вика - *Vicia sativa*, овес - *Avena sativa*.

Оцінку мутагенної активності речовин, взятих в якості позитивного контролю (рубоміци) та модельного забруднювача навколишнього середовища (талій) проводили на вищих рослинах (ано-телофазний аналіз *Allium cepa*) та лабораторних тваринах (цитогенетичний аналіз кісткового мозку мишей).

1.1. Облік аберацій хромосом у паростках насіння *Allium* сера.

Цибуля ріпчаста (*Allium* сера) класичний тест-об'єкт для вивчення цитогенетичної дії фізичних та хімічних факторів (Grant, 1982).

Метод обліку хромосомних мутацій в клітинах меристеми паростків *Allium* сера, являється одним з найбільш уніфікованих та стандартизованих з застосуванням в науково-дослідній роботі.

В роботі було використане насіння цибулі (сорт "Грандіна"), отримане в Носівській селекційній станції, яке має низький рівень спонтанної частоти мутацій.

Відбір зразків ґрунту здійснювали по методу Малехова С.Г. (1977).

Насіння *Allium* сера пророщували в чашках Петрі, наповнених вивченим субстратом. До 20 гр ґрунту добавляли 10 мл дистильованої води, перемішували і рівномірно розподіляли на фільтрувальному папері в чашці Петрі. При відсутності проросту повторювали експеримент з другим (1:1) та третім (1:2) розведеннями. Пророщували насіння в термостаті при температурі 24° С. Корінці довжиною 8-10 мм промивали дистильованою водою, фіксували фіксатором Кларка (спиртовий 3:1), промивали спиртом (80%) та переносили на тривале зберігання при 4° С в 70% спирт. Готували давлені тимчасові препарати по методу Паушевої З.П. (1988). В якості баранника використовували ацетокармін. Аналіз мутацій хромосом проводили анателофазним методом. Спонтанну частоту враховували при вирощуванні насіння *Allium* сера на дистильованій воді.

1.2. Облік аберацій хромосом у паростках сільськогосподарських рослин.

В процесі експериментальних досліджень по мутаційній мінливості було використано насіння *Vicia sativa* та *Avena sativa* (Ма, 1982). Підготування матеріалу, пророщування, фіксація, обезвоження паростків насіння, приготування цитогенетичних препаратів відповідало описаній вище методиці для лабораторного тестоб'єкту *Allium* сера.

Мітотичний індекс визначали по методу З.П. Паушевої (1988).

Аналіз проводили на зонифірованих препаратах.

1.3. Облік мутацій в волосках тичинкових ниток *Tradescantia poludosa* клон 02.

Сутність методу полягає в реєструванні точкових мутацій традесканції в індикаторному клоні 02 (Schaefer et al., 1983).

В експериментах рослини традесканції висаджували в горшки з досліджуванним ґрунтом. Аналіз тичинкових волосків починали через дві неділі. Облік мутацій проводили в послідовно розпускаючихся квітках на протязі місяця. Спонтанний рівень визначали у рослин при вирощуванні на ґрунті, відібраному на заповідних територіях.

1.4. Хромосомний аналіз клітин кісткового мозку тварин.

Кістковий мозок ссавців являється широко використовуваною моделлю для визначення мутагенної активності хімічних речовин (Dean, 1969).

Вивчаємі речовини вводили інтрапериторіально (рубоміцини) та в ялунок (сульфат талію). На кожний варіант досліду використовували 5-6 тварин. За дві години до забору тваринам вводили розчин колчіцину в кількості 4-5 мг на 1 г ваги. Забілі тварини проводили через 24 години після загроування. Виділяли стегрові кісточки та виникали в них кістковий мовок гіпотонічним розчином KCl, після чого клітини суспендіували. Фіксація матеріалу проводили двічі сумішшю оцтової кислоти та метилового спирту 3:1.

Готували препарати хромооом аляком розкапування суспензії клітин на околроджені, обезжирені предметні стекла, в послідувчому випалюванні.

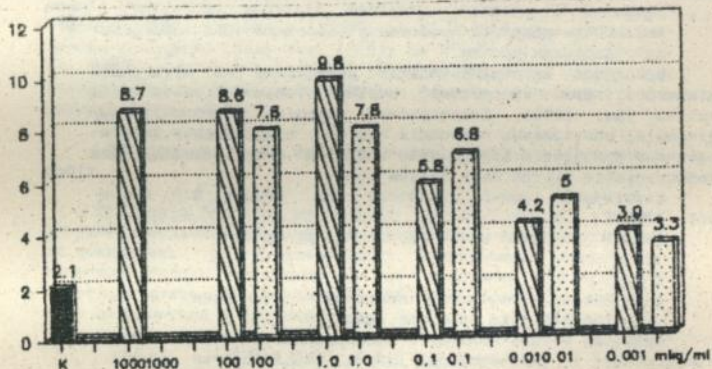
Цитогенетичний аналіз проводили на зашифрованих препаратах. Статистичне оброблення отриманих результатів проводили по методам, описаним Пломінським Н.А. (1970), Лакініним Г.Ф. (1980).

### РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

#### 1. Експериментальна оцінка мутагенної активності рубоміцину та сульфату талію.

Дію рубоміцину досліджували в концентраціях: 1000 мг/мл, 100 мг/мл, 1,0 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,01 мг/мл та 0,001 мг/мл, на протязі чотирьох та 24 години.

Результати цитогенетичного аналізу представлени на малюнку 1.



К - контроль (дистильована вода);

▨ - кількість аберацій хромооом (X) при експозиції 4 години;

▤ - кількість аберацій хромооом (X) при експозиції 24 години.

Мал. 1. Цитогенетична активність рубоміцину на *Allium cepa*.

При концентрації рубоміцину 1000 мг/мл (експозиція 24 години) спостерігали цитотоксичний ефект, який супроводжувався пригніченням мітотичної активності. При дії концентрації,

але в експозиція чотири години, частота аберацій хромосом становила 8,7%. При дії речовини рубоміцину в концентрації 100мкг/мл частота аберацій хромосом була 8,6% та 7,8%; в концентрації 1,0 мкг/мл становила 9,8% та 7,8%; в концентраціях 0,1 мкг/мл та 0,01 мкг/мл процент аберацій хромосом знизувався і становив 5,6% та 6,8%; 4,2% та 5,0% (при чотирьох та 24 годинах експозиції, відповідно). В усіх випадках показники достовірно підвищували рівень хромосом в контролі (2,1%). При концентрації 0,001 мкг/мл різниця з контролем була не достовірною.

Спостереження в експерименті аберації хромосом були представлені хроматидними та хромосомними мостами, подвійними та одинарними фрагментами, відставанням хромосом. Співвідношення аберацій хромосомного та хроматидного типів показано в таблиці 1.

Таблиця 1  
Частота та співвідношення аберацій хромосом хромосомного та хроматидного типу в меристемних клітинах паростків *Allium* сера при вирощуванні на речовині рубоміцину

Вивчаєма речовина	Експозиція (години)	Кількість аберацій хромосом хромосомного типу		Кількість аберацій хромосом хроматидного типу		Співвідношення аберацій	
		всього	I	всього	I	хромосомні	хроматидні
Рубоміцини	4	13	4,7	263	95,3	1	: 21
	24	13	6,3	193	93,7	1	: 15
Контроль (дистильована вода)		1	6,2	15	93,7	1	: 15

В результаті проведення досліджень підтверджено наявність у рубоміцину мутагенної активності. Встановлено можливість використання даної речовини в якості позитивного контролю, при проведенні еколого-генетичних досліджень. При дії рубоміцином на протязі чотирьох та 24 годин не виявлено суттєвих змін цитогенетичного ефекту від тривалості експозиції.

Отже, як при оцінюванні мутагенності хімічних речовин, так і ґрунтів, час експозиції рівний чотирьом годинам може бути прийнятний в якості оптимального.

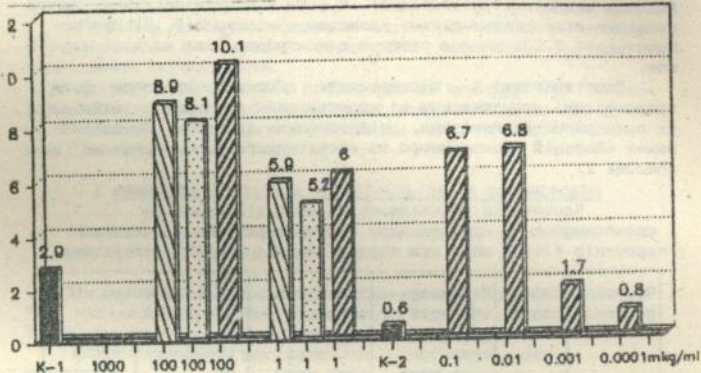
В якості модельної речовини-забруднювача навколишнього середовища використали сульфат талію.

Цитогенетичну активність сульфату талію вивчали при дії в концентраціях: 1000 мкг/мл; 100 мкг/мл; 1,0 мкг/мл; 0,1 мкг/мл; 0,01 мкг/мл; 0,001 мкг/мл; 0,0001 мкг/мл. Проводили обробку пророщеного мезисма *Allium* сера. Час експозиції становив: 24 години для всіх концентрацій, та 16, 21 та 24 години для концентрацій: 1000 мкг/мл; 100 мкг/мл; 1,0 мкг/мл.

Результати цитогенетичного аналізу представлені на малюнку 2.

При дії в концентрації 1000 мкг/мл спостерігався цитотоксичний ефект: пошкодження ядер на різних стадіях клітинного циклу, наявність багатоядерних клітин, грануляції цитоплазми, пригнічення мітотичної активності. При дії в інших

концентраціях сульфат талів викликав різні пошкодження: хромосомні та хроматидні мости, фрагменти, відставання хромосом. Співвідношення аберацій хромосом хромосомного та хроматидного типів при дії сульфатом талів при різних експозиціях представлені в таблиці 2.



К - контроль (дистильована вода);

▤ - кількість аберацій хромосом (X) при експозиції 16 годин;

▥ - кількість аберацій хромосом (X) при експозиції 21 година;

▧ - кількість аберацій хромосом (X) при експозиції 24 години.

Мал. 2. Цитогенетична активність сульфату талів на *Allium* сера.

Таблиця 2

Частота та співвідношення аберацій хромосом хромосомного та хроматидного типів в меристемних клітинах паростків *Allium* сера при вирощуванні на розчині сульфату талів

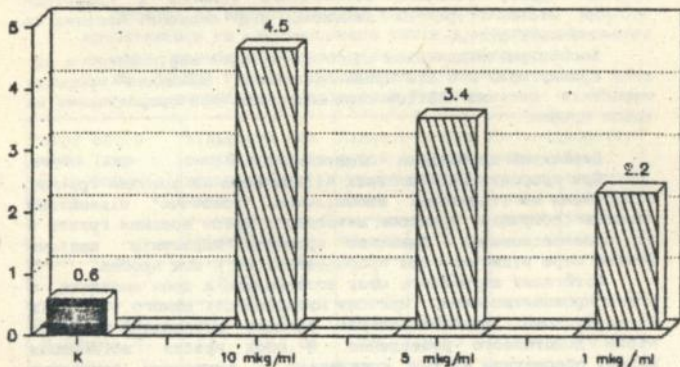
Вивчена речовина	Експозиція (години)	Кількість аберацій хромосом хромосомного типу		Кількість аберацій хромосом хроматидного типу		Співвідношення аберацій	
		всього	X	всього	X	хромосомні	хроматидні
Сульфат талів	16	3	3,4	86	96,6	2	29
	21	17	14,5	100	85,5	1	7
	24	38	13,1	251	86,9	1	7
Контроль 1 (дистильована вода)	1	6	20,0	24	80,0	1	4
Контроль 2 (д. в.)	2	2	25,0	6	75,0	1	3
Контроль 1 + 2	8	8	21,0	30	78,9	1	4

Частота аберацій в контролі становила 2,9% та 0,6%.

При дії сульфатом талів в дозах 100 мкг/мл; 1,0 мкг/мл, частота абераційних клітин становила: 8,9% та 5,9% при експозиції 16 годин; 6,1% та 5,2% при експозиції 21 година; 6,0% при експозиції рівній 24 годинам. Таким чином, тільки при найменшій концентрації рівній 0,0001 мкг/мл частота аберацій хромосом не перевищувала спонтанного рівня.

Враховуючи, що при всіх строках експозиції не відмічалось достовірної зміни в частоті аберацій хромосом можна стверджувати, що сульфат талів має приблизно однакову мутагенну дію на протяжні всього мітотичного циклу.

Цитогенетичну активність сульфату талів на кістковому мозку мишей досліджували при одноразовому влишковому введенні в концентрації: 10 мг/кг, 5 мг/кг, 1 мг/кг. Одержані результати представлені на малюнку 3.



К - контроль;



- кількість аберацій хромосом (%) - дослід.

Мал. 3. Оцінка мутагенної активності сульфату талів на кістковому мозку мишей.

Як видно з цих даних досліджувана речовина індукувала цитогенетичний ефект різного ступеня вираженості в кістковому мозку мишей.

Частота аберацій хромосом у тварин контрольної групи становила: 0,6%. При дії сульфату талів в дозах 10 мг/кг, 5 мг/кг частота абераційних метафаз становила 4,5% та 3,4%, відповідно. В концентрації 1 мг/кг сульфат талів не виявляв цитогенетичного ефекту.

По ступеню вираженості ефекту та величині ефективною дози талій можна віднести до першого класу речовин-мутагенів (найбільш небезпечні сполуки).

## 2. Біоіндикація мутагенів на територіях заповідників України

В кожному окремому випадку оцінку стану територій по забрудненню мутагенами необхідно здійснювати в порівнянні з мутагенним фоном, характерним для даного регіону. Для виконання цієї умови була проведена біоіндикація мутагенів у ґрунті (мулі) деяких заповідників, розташованих на території України в різних фізико-географічних районах: Донецько-Придніпровському (Луганський державний заповідник), Південно-західному (державний заповідник "Розточчя"), Південному (державні заповідники: "Кара-Даг", "Мис Март'ян", Ялтинський).

### Луганський державний заповідник.

На території Луганського заповідника не виявлено мутагенних ефектів при вивченні зразків ґрунту. Однак відмічено зниження проросту паростків насіння *Allium* сера в п'яти пробах ґрунту з десяти проаналізованих. В більшості досліджених зразків ґрунту величина мітотичного індексу в паростках насіння *Allium* сера не залежала від спожитості насіння та інтенсивності росту.

Достовірне підвищення частоти мутацій зафіксовано в одному зразку мулу з п'яти проаналізованих. Зниження проросту паростків насіння *Allium* сера відмічено при пророщуванні на трьох пробах.

### Державний заповідник "Розточчя".

При пророщуванні насіння *Allium* сера на зразках ґрунту, відібраних на території заповідника "Розточчя" підвищення частоти аберацій хромосом виявлено в трьох зразках ґрунту з 11 проаналізованих. Зниження проросту паростків насіння *Allium* сера відмічено при пророщуванні на п'яти пробах.

Мутагенну активність мулу встановлено в двох випадках з п'яти проаналізованих, причому мутагенність одного з зразків із-за високої цитотоксичності вдалось встановити тільки після додаткового розведення. В обох пробах збільшення виходу аберентних клітин корелувало з зниженням показника проросту насіння достовірно в порівнянні з контролем, хоч мітотичний індекс залишався на рівні контрольного показника.

### Карадзький державний заповідник.

Цитогенетичний ефект відмічено на пробах ґрунту, відібраних на ділянках постійного біомоніторингу в трьох випадках з 11 проаналізованих. Зниження проросту насіння та уповільнення розвитку корінців *Allium* сера відмічено на шести пробах. Причому, на одній пробі пригнічення росту було настільки значимо виражено, що достовірно для цитогенетичного аналізу кількість корінців було отримано тільки після додаткового розведення.

### Державний заповідник "Мис Март'ян".

При дослідженні мутагенної активності зразків ґрунту, відібраних на території заповідника "Мис Март'ян", достовірне підвищення частоти аберацій хромосом в паростках насіння *Allium* сера, в порівнянні з контролем відмічено на двох пробах ґрунту, причому на цих же пробах відмічено повне пригнічення проросту насіння. Достатки для цитогенетичного аналізу кількість корінців було отримано після другого розве-

дення (1:1). Уповільнення схожості насіння та росту корінців зафіксовано на п'яти пробах з 10 проаналізованих.

Ялтинський державний заповідник.

З 10 проб ґрунту, відібраних на території Кримського заповідно-мисливського господарства тільки в одній пробі з 10 проаналізованих спостерігалось достовірне підвищення частоти аберацій хромосом в паростках насіння *Allium* сера в порівнянні з контролем. В цьому ж варіанті відмічено зниження показника проросту насіння та уповільнення росту корінців.

Переважаючим типом пошкоджень хромосом в паростках насіння *Allium* сера у всіх випадках досліджень, проведених на територіях заповідників, були аберації хроматидного типу. Співвідношення аберацій хроматидного та хромосомного типів представлено в таблиці 3.

Таблиця 3

Частота та співвідношення аберацій хромосом хроматидного та хромосомного типів в меристемних клітинних паростках *Allium* сера при вирощуванні на пробах ґрунту, відібраних на територіях державних заповідників України

Район обстеження (державні заповідники)	Кількість аберацій хромосомного типу		Кількість аберацій хромосом хроматидного типу		Співвідношення аберацій	
	всього	%	всього	%	хромосомні	хроматидні
1	2	3	4	5	6	
Дуганський	60	17,1	290	82,8	1 : 5	
Контроль 1	11	11,0	89	89,0	1 : 8	
" Розточка "	17	6,8	233	93,2	1 : 14	
Контроль 2	9	15,5	49	84,5	1 : 5	
" Кара-Дар "	28	8,4	303	91,5	1 : 11	
Контроль 3	1	4,5	21	95,4	1 : 21	
" Мис Март'ян "	37	12,7	255	87,3	1 : 7	
Контроль 1	11	11,0	89	89,0	1 : 8	
Ялтинський	43	13,7	270	86,3	1 : 6	
Контроль 1	11	11,0	89	89,0	1 : 8	
Контроль 1+2+3	21	11,6	159	88,3	1 : 8	

З підвищенням загальної частоти цитогенетичних порушень кількість хроматидних та хромосомних аберацій підвищувалась пропорційно. Спостерігаємо співвідношення типів аберацій хромосом характерне при переважаючій дії хімічних мутагенів.

Результати проведених досліджень свідчать про наявність токсичних та мутагенних ефектів в окремих ділянках на територіях заповідників, розташованих в різних регіонах України.

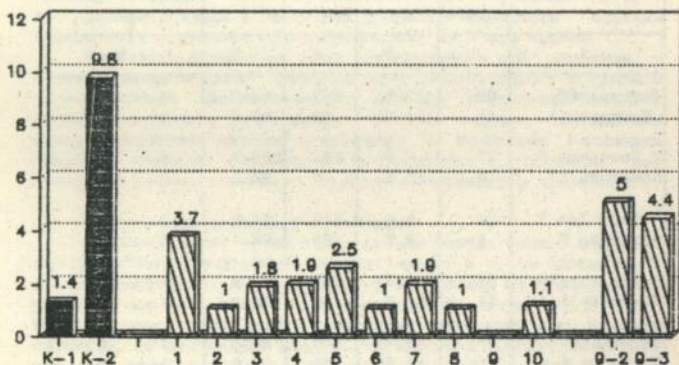
3. Біоіндикація мутагенів у ґрунті та мулі в регіоні з низькою/середньою інтенсивністю застосування пестицидів.

На території України дослідження проводили в двох сільськогосподарських районах, розташованих у Мукачевському районі, Закарпатської області, схожих по природно-кліматичним, соціально-добутовим умовам та рівню радіоактивного фону, але відрізняючись по направленості сільськогосподарського господарства, те відповідно, асортименту та витратам пестицидів.

В першому районі с. Бобовище (напрялення господарської діяльності-виноградарство) загальні витрати пестицидів становили 5,16 кг/га. В другому с. Кашарове (напрялення господарської діяльності - тваринництво) загальні витрати пестицидів в попередньому році становили 0,9 кг/га.

Оцінювачі інтенсивності мутагенних впливів на обстежуваних територіях за основу брали результати біоіндикації в ґрунті та мулі водою, визначення рівня аберацій хромосом у *Allium* сера.

В першому районі в деяких випадках відмічено цитотоксичний ефект (пригнічення мітотичної активності, наявність багатоядерних клітин) та тенденцію до підвищення кількості абераційних анателозів. Достовірне підвищення частоти мутацій зафіксовано на двох пробах ґрунту NN 1,9. Мутагенність зразку N 9 з-за високої цитотоксичності можна було встановити тільки після додаткових розведень (мал. 4).



■ - K-1 (контроль - дистильована вода);  
 ■ - K-2 (позитивний контроль - рубоміци);  
 ▨ - кількість аберацій хромосом у *Allium* сера (χ) - дослід.  
 9-2; 9-3 - кількість аберацій хромосом у *Allium* сера (χ) - дослід (розведення 1:1, 1:2)

Мал. 4. Мутагенність ґрунту, відібраного на території першого району (с. Бобовище) Закарпатської області.

В одній пробі ґрунту (№ 3) з другого району частота абераційних клітин в паростках насіння достовірно підвищувале контрольний рівень (3,2% та 1,4%, відповідно). Результати цитогенетичного аналізу представлені на малюнку 5.



Мал. 5. Мутагенність ґрунту, відібраного на території другого району (с. Межарове) Закарпатської області.

Ні в одному з проаналізованих зразків мулу (перший та другий район) достовірного підвищення рівня частоти мутацій в порівнянні з контролем відмічено не було (мал. 6, 7).

Переважаючим типом пошкоджень хромосом в меристемних клітинах паростків *Allium cepa* були аберації хроматидного типу. Співвідношення аберацій хромосом хромосомного та хроматидного типів представлені в таблиці 4.

Підвищення частоти мутацій в тичинкових волосках *Tradescantia poludosa* при вирощуванні на сумішах проб ґрунту відмічали в усіх трьох варіантах першого району та в одному випадку другого району.

При вивченні мутаційної мінливості сільськогосподарських рослин установлено підвищення частоти аберацій хромосом в паростках насіння *Vicia sativa* з першого району. Різниця між двома районами по мутабельності *Avena sativa* не виявлено, однак тенденція до збільшення рівня аберацій та збільшення кількості пошкоджень на одну обстежену та одну абераційну клітину підтверджує наявність більш сильних мутагенних впливів в першому районі.

Результати проведених досліджень вказує на більш сильний мутагенні вплив в першому районі, з більшою інтенсивністю вистосування пестицидів (по ступеню розповсюдження мутагенів).



Мал. 6. Мутагенність мулу, відібраного на території першого району (с. Вобовице) Закарпатської області.



Мал. 7. Мутагенність мулу, відібраного на території другого району (с. Макарове) Закарпатської області.

4. Біоіндикація мутагенів в ґрунті та мулі в регіоні з високою інтенсивністю застосування пестицидів.

Дослідження проводили в Ташкентській області Узбекастану на території двох сільськогосподарських районів, відрізняючись по інтенсивності застосування пестицидів, розташованих на відстані 200 км один від одного.

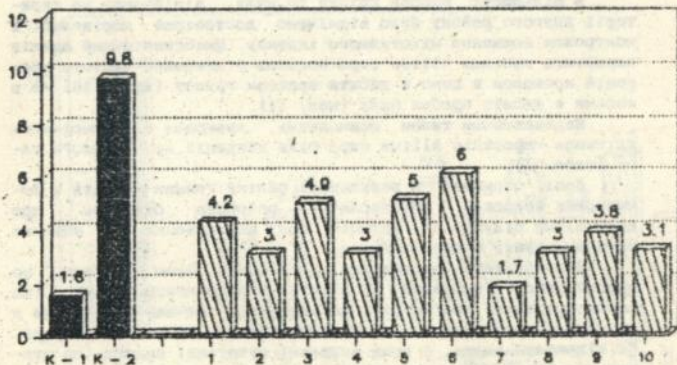
В першому районі, розташованому в степовій зоні, дослідження проводили на території господарства, яке спеціалізується на вирощуванні бавовника (госп. 30 років УзССР) Чинзаського району, Ташкентської області. Бавовняні поля підкосять впритул до селення. Сумарна витрата пестицидів становила 36 кг/га.

В другому районі, розташованому в передгір'ї на висоті 1500 м над рівнем моря, дослідження проводили на території багатопрофільного господарства (тваринництво, садівництво) с. Сіджак, Гвалкентського району, Ташкентської області. Пестициди застосовувались на виноградниках, які займають невелику частину від загальної площі сільськогосподарських угідь.

Ступінь забрудненості території токсичними та мутагенними речовинами був астенований на лабораторних тест-об'єктах: *Allium* сера, *Tradescantia poludosa* клон 02.

При вирощуванні насіння *Allium* сера на зразках ґрунту, відібраного в першому районі, зареєстровано значне та достовірне по відношенню до контролю зниження мітотичного індексу на більшості проб.

Результати цитогенетичного аналізу паростків насіння *Allium* сера свідчать про високий ступінь забруднення території мутагенними сполуками. Мутагенний ефект виявлено в п'яти зразках ґрунту: NN 1, 3, 5, 6, 9 в десяти проаналізованих та в більшості проб мулу, виключення становили: NN 13, 14, 20 (мал. 8,9).



■ - K-1 (контроль - дистильована вода);

■ - K-2 (позитивний контроль - рубоміцин);



- кількість аберацій хромосом у *Allium* сера (1) - дослід.

Мал. 8. Мутагенність ґрунту, відібраного на території першого району (госп. 30 років УзССР) Ташкентської області.



Мал. 9. Мутагенність мулу, відібраного на території першого району Ташкентської області.

В деяких випадках зниження мітотичного індексу в меристемних клітинах паростків *Allium cepa* на звичайних зразках ґрунту та мулу співпадало з збільшенням виходу абераційних клітин: NN 1, 5, 9, 16, 18.

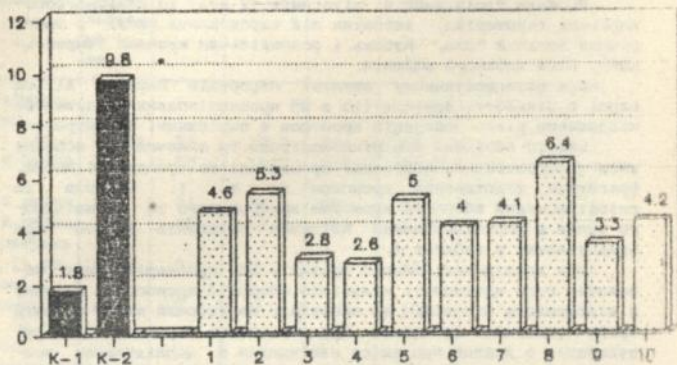
В більшості пробках ґрунту та мулу, відібраних на території другого району було відмічено достовірне порівняно з контролем зниження мітотичного індексу. Цитогенетичний аналіз паростків насіння *Allium cepa* показав підвищення частоти аберацій хромосом в семи з десяти зразках ґрунту (мал. 10) та в восьми в десяти пробках мулу (мал. 11).

Переважаючим типом пошкоджень хромосом в меристемних клітинах паростків *Allium cepa* були аберації хроматидного типу (табл. 4).

Дані, отримані в результаті обліку генних мутацій в тичинкових волосках *Tridax ascarifolia* свідчать про достовірне підвищення мутацій при вирощуванні на збірних зразках ґрунту з обох районів.

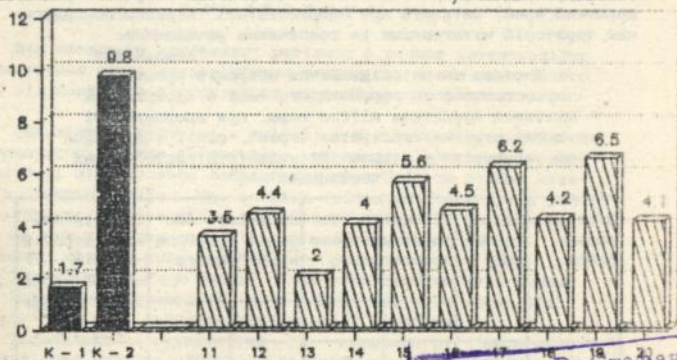
В результаті проведених досліджень було показано, що другий район, вибраний в якості умовно-контрольного (на основі свідчень про витрати пестицидів), виявився настільки ж забрудненим токсичними та мутагенними сполуками як і перший. По кількості точок, в яких виявлені мутагенні впливи (по ступеню розповсюдження мутагенів), різниці між районами практично не було.

Отримані результати по оцінці мутагенного фону в регіоні з інтенсивним землекористуванням (Узбекистан), на територіях відрізняються по інтенсивності використання агрохімікатів свідчать про забрудненість обох районів токсичними та мутагенними речовинами.



■ - К-1 (контроль - дистильована вода);  
 ■ - К-2 (позитивний контроль - рубоміци);  
 ▨ - кількість аберацій хромосом у *Allium cepa* (X)-дослід.

Мал. 10. Мутагенність ґрунту, відібраного на території другого району (с. Сіджак) Ташкентської області.



■ - К-1 (контроль - дистильована вода);  
 ■ - К-2 (позитивний контроль - рубоміци);  
 ▨ - кількість аберацій хромосом у *Allium cepa* (X)-дослід.

ЛІБ ім. В. Стефаніка  
 АН України

Мал. 11. Мутагенність мулу, відібраного на території другого району (с. Сіджак) Ташкентської області.

5. Біоіндикація мутагенів у мулі на території господарств спеціалізованих на вирощуванні рису (Краснодарський край).

Провели біоіндикацію мутагенів у мулі на сільськогосподарських територіях, зайнятих під вирощування рису, а також річкеш Козачий Брмк, Кубень і розподільчих каналах Темрвкського, Слав'янського районів.

При цитогенетичному аналізі паростків насіння *Allium* сера, в більшості зразків (15 з 33 проаналізованих) виявлено підвищення рівня аберацій хромосом в порівнянні з контролем.

Спектр порушень був різноманітним та включав усі основні типи цитогенетичних порушень: хромосомні та хроматидні мости, фрагменти, відставання хромосом та т. і. Частота та співвідношення аберацій хромосом хромосомного та хроматидного типу в меристематичних клітинах паростків *Allium* сера представлені в таблиці 4.

При дослідженні одного зразку в 33 проаналізованих неможливо було встановити кількість аберацій хромосом в зв'язку з відсутністю митозів, що вказувало на високий вміст в даній пробі токсичних речовин. При порівнянні отриманих нами результатів з даними про вміст пестицидів в досліджуваних пробах, виявилось, що саме в цій пробі, де виявлено значний цитотоксичний та цитогенетичний ефекти, встановлено високий вміст пропаніду та метафосу, які, як показано облядають мутагенно активність і по ступеню мутагенної небезпеки відносяться відповідно до другого та третього класу пестицидів-мутагенів. Паралельно проводили визначення митотичного індексу. Пригнічення ділення клітин в меристемі коріців *Allium* сера було відмічено в шести випадках з 33 проаналізованих. В чотирьох варіантах зниження митотичної активності співпадало з збільшенням кількості абераційних клітин.

Таким чином, визначення мутагенності та токсичності мулу в господарствах спеціалізованих на вирощуванні рису (Краснодарський край) свідчать про забрудненість сільськогосподарських територій мутагенними та токсичними речовинами.

Таблиця 4.

Частота та співвідношення аберацій хромосом хромосомного та хроматидного типу в меристематичних клітинах паростків *Allium* сера, при вирощуванні на досліджуваних субстратах (грунт, мул), відібраних на території з різною інтенсивністю застосування пестицидів

Обстежуваний район	Назва субстрату	Кількість аберацій хромосом хромосомного типу		Кількість аберацій хромосом хроматидного типу		Співвідношення аберацій	
		всього	I	всього	I	хромосомні	хроматидні
Україна							
1 район	грунт	6	6,4	88	93,6	1	15
2 район		14	12,9	94	87,0	1	7
1 район	мул	0	-	42	100		
2 район		16	21,0	60	78,9	1	4

1	2	3	4	5	6	7
Контроль 1	дисти- льова- на во- да	4	36,4	7	63,7	1 : 2
Узбеки- стан						
1 район	грунт	52	13,9	321	86,0	1 : 6
2 район		56	15,7	300	84,3	1 : 5
1 район	мул	64	16,2	287	81,8	1 : 4
2 район		60	12,9	406	87,1	1 : 7
Контроль 2 (1 ра- йон)	д. в.	0	-	18	100	
Контроль 3 (2 ра- йон)	д. в.	0	-	18	100	
Красно- дарський край	мул	122	16,0	638	83,9	1 : 5
Контроль 4	д. в.	0	-	8	100	
Контроль 1+2+3+4		4	7,5	49	92,4	1 : 12

## ЗАКЛЮЧЕННЯ

При попарному порівнянні регіонів з різною інтенсивністю застосування пестицидів показана залежність рівня мутагенного фону від масштабів застосування хімічних засобів захисту рослин.

Результати, отримані в процесі біоіндикації мутагенів на сільськогосподарських територіях, показали, що немає прямої залежності між ступенем забруднення територій та рівнем мутацій у тест-об'єктів. Не в усіх випадках співпадає токсичність та мутагенність досліджених зразків. Показано також, що при високому ступені забруднення ксенобіотиками, мутагенного ефекту може не бути.

Таким чином, при оцінці стану територій по мутагенному фону необхідно враховувати, як вираженість мутагенних ефектів так і ступінь забруднення територій.

По ступеню забрудненості та вираженості мутагенних ефектів стан першого району (з більшими витратами пестицидів) в регіоні з низько/середньою інтенсивністю застосування пестицидів, може бути класифіковано як "конфліктний" (Закарпатська обл., с. Вовошице). Для усунення мутагенних навантажень бажано виключити в асортименту пестициди-мутагени другого та третього класу по ступеню потенційної мутагенної небезпеки та знизити норми витрат.

Вивчення мутагенності більшої частини зразків ґрунту,

відібраних в регіоні з високою інтенсивністю застосування пестицидів (Ташкентська обл.) свідчать про значне забруднення (60%) обстежених територій мутагенами.

Стан обстежених територій може бути класифіковано як "критичний". В Ташкентській області необхідно повністю виключити застосування хімічних засобів захисту рослин, які проявляють мутагенні властивості. Зменшити загальні витрати пестицидів на одиницю площі.

Ії обставини, що зміжи результати отримані для районів, розташованих на значній відстані один від одного, які відрізняються за фізико-географічними параметрами та ступенем хімізації сільського господарства, вказує на глобальний характер забруднення навколишнього середовища в Узбекистані. Однак, для встановлення конкретних мутагенних факторів, діючи у другому районі, необхідно провести ідентифікація забруднювачів.

Однією з основних причин повсемісного забруднення навколишнього середовища в усьому цьому обширному регіоні можуть бути багаторічні інтенсивні авіаобробки бавовникових плантацій.

Результати досліджень проведених на території Краснодарського краю показали, що існуючі використовувані технології вирощування рису зстаріли та не забезпечують екологічну безпеку застосування хімічних засобів захисту рослин. При проведенні заходів направлених на усунення мутагенних навантажень необхідно прийняти міри по реорганізації технічного стану сільськогосподарського виробництва на даній території.

Проведена біоіндикація мутагенів у ґрунті (мулі) в відповідниках свідчить про наявність на їх території окремих ділянок забруднених токсичними та мутагенними сполуками.

## В И С Н О В К И

1. При попарному порівнянні районів з різною інтенсивністю застосування хімічних засобів захисту рослин в регіонах з високими та помірними витратами пестицидів, встановлено підвищений рівень мутагенності ґрунту в районах з більш інтенсивним застосуванням агрохімікатів.

2. Характеристика стану району Закарпатської області, з витратами пестицидів 5 кг/га, згідно якісно-кількісної класифікації територій по мутагенному фону, може бути розцінено, як "конфліктний".

3. Стан обстежених територій по мутагенному фону в Ташкентській області може бути охарактеризовано, як "критичний", наближаючись до "небезпечного", що свідчить про значне забруднення навколишнього середовища Узбекистану.

4. Виявлення мутагенних ефектів на територіях, зайнятих під вирощування рису в Краснодарському краї, свідчать про реальність екологічної небезпеки від застосування застарілих технологій, що не забезпечують безпеку застосування хімічних засобів захисту рослин.

5. В результаті проведеної біоіндикації мутагенів на території відповідників встановлено наявність окремих ділянок, забруднених токсичними та мутагенними сполуками.

6. Рубоніція може використовуватися в якості позитивного контролю при проведенні еколого-генетичних досліджень.

7. По ступеню вираженості ефекту та величині ефективної дози сульфат талію може бути віднесений до першого класу ре-

човин-мутагенів (найбільш небезпечні сполуки).

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Куринний А.И., Зубко Е.С., Кравчук А.П. "Картографирование территорий по мутагенному фону как основа генетико-экологического контроля за загрязнением окружающей среды и уровнем индуцированной мутационной изменчивости / тез. докл. XII объединенного пленума советского и республиканского Комитетов по проблеме "Человек и биосфера", Фрунза, 5-8 июня 1990 г., с. 72-73.
2. Куринний А.И., Зубко Е.С. "Мутагенность почвы в связи с использованием пестицидов" / тез. док. "Эколого-генетический мониторинг состояния окружающей среды". Секция генетических аспектов проблемы "Человек и биосфера"; Караганда, 5-8 сентября 1990 г., с. 74.
3. Куринний А.И., Кравчук А.П., Зубко Е.С., Деревяницко Е.В. "Регламентирование применения пестицидов с учетом мутагенного фона и мутационной изменчивости" / тез. докл. II Всесоюзного съезда медицинских генетиков, Алма-Ата, 4-6 декабря 1990 г., М., 1990, с. 234.
4. Зубко Е.С. "Оценка загрязненности почвы мутагенами в некоторых сельскохозяйственных районах" / тез. докл. VI съезде Украинского общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова, Полтава, 3-6 марта 1992 г., Киев, 1992, с. 176.
5. Зубко Е.С. "Биоиндикация мутагенов в почве и иле при оценке мутагенного фона сельскохозяйственных районов" / тез. док. конференции молодых ученых "Актуальные проблемы физиологии растений и генетики", Киев, 26-28 мая 1992 г., с. 93.
6. Куринний А.И., Зубко Е.С., Кравчук А.П. "Сравнительная эколого-генетическая оценка по мутагенному фону двух сельскохозяйственных районов в Закарпатской области". Цитология и генетика. 1993, Т. 27, №1, с. 13-18.
7. Куринний А.И., Кравчук А.П., Зубко Е.С. "Оценка мутагенного фона и мутационной изменчивости у населения в регионе с высокой интенсивностью применения пестицидов". Цитология и генетика. 1993, Т. 27, № 4, с. 32-36.
8. Куринний А.И., Зубко Е.С. "Біоіндикація мутагенів у ґрунті на територіях заповідників України". Доповіді АН України. 1993, № 9, с. 172-176.





AB 30.040

**AB 30.040**