

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ СПОНТАННОГО МУТАГЕНЕЗУ

О.В. Мудрак¹, Т.В. Морозова²

¹КЗВО «Вінницька академія безперервної освіти» (м. Вінниця, Україна)
e-mail: ov_mudrak@ukr.net; ORCID: 0000-0002-1776-6120

²Національний транспортний університет (м. Київ, Україна)
e-mail: tetiana.morozova@ukr.net; ORCID: 0000-0003-4836-1035

У зв'язку зі складною екологічною ситуацією в Україні виникає необхідність проведення цитогенетичного моніторингу, встановлення причинно-наслідкових зв'язків та оцінки токсико-мутагенної активності складників довкілля. Результати такого моніторингу можуть послугувати основою для розробки реабілітаційних заходів, спрямованих на покращання стану навколишнього середовища. Цитогенетичні методи біотестування дають можливість оцінити екологічні та генетичні ризики для біоти, враховуючи загальну дію забруднювачів, передбачити зміни в екосистемах і ухвалити вчасні управлінські рішення для поліпшення якості довкілля та збереження генофонду нації. У статті здійснено цитогенетичний моніторинг апікальних меристем коренів проростків *Raphanus sativus* subsp. *radicula* (Pers.) DC. та *Allium cepa* L., вирощених на ґрунтах селітебних територій та вивчено вплив іонів деяких елементів на цитологічні показники *Pisum sativum* L. Відмічено розширення спектра аномалій мітози й аберацій хромосом за рахунок хромосом, що відстали та мікроядер. Селітебні території зі стабільно високим рівнем спонтанних цитогенетичних порушень потребують розробки системи локального моніторингу, задля виявлення генетичної небезпеки. Проведені дослідження проліферативної активності клітин апікальної меристеми, підтверджують гіпотезу про токсичність алюмінію для рослин. Цитотоксичну дію оцінено на мікро- та макроскопічному рівні. Макроскопічно спостерігали зменшення росту коренів біоіндикаторів, що може бути результатом кількох можливих механізмів: загибель клітин, пригнічення поділу, розтягу клітин, або поглинання поживних речовин. Виявлено, що на тривалість профазы мають прямий вплив рухомі форми Zn та Pb, тоді як Cu впливає зворотно. За результатами множинного регресійного аналізу встановлено, що найбільший вплив на ці процеси мають рухомі форми Zn, Cu та Pb у поверхневому шарі ґрунтів досліджених селітебних територій. За впливу $AlCl_3$ збільшується частка клітин на стадії анафази; $CdCl_2$ — на стадії профазы; Na_2SeO_3 — на мета- і анафазній стадіях; рентгеновського опромінення — на стадії телофази. Щодо здатності індукувати частоту аберантних анафаз, можна побудувати рейтинговий ряд: Na_2SeO_3 ($3,75 \times 10^{-6}$ M) > $AlCl_3$ ($3,86 \times 10^{-5}$ M) > $CdCl_2$ ($8,44 \times 10^{-5}$ M). Доза опромінення $9,03 \times 10^{-3}$ C/кг призводить до частоти хромосомних аберацій, аналогічно до дії $AlCl_3$ ($3,86 \times 10^{-4}$ M) і Na_2SeO_3 ($8,34 \times 10^{-6}$ M). За високих концентрацій алюмінію відмічено збільшення анафаз з фрагментами та з двома-трьома мостами.

Ключові слова: порушення, мітотична активність, мутагенна активність, апікальна меристема, мітотичний індекс, селітебні території, рухомі форми важких металів.

ВСТУП

Зі збільшенням техногенного навантаження на компоненти довкілля актуалізується необхідність оцінки впливу на біологічні системи, пошуку біологічних маркерів для прогнозування росту і розвитку рослин на ранніх етапах онтогенезу, збільшується інтерес до експериментальних моделей, які дають змогу проводити дослідження

in vivo та зростає потреба у чутливих інструментах моніторингу токсичності [1]. Це стає можливим завдяки розробці та впровадженню систем моніторингу, які допомагають адекватно оцінити генетичний ризик для організмів. У реальних умовах дуже складно передбачити реакцію організмів на різноманітні природні та техногенні чинники, використовуючи лише лабораторні дослідження. З урахуванням

значного рівня забруднення в Україні, дослідження мутаційної мінливості в різних екологічних зонах стає актуальним. Особливої уваги заслуговує вивчення меристематичних клітин, поділ яких є основою росту. Аналіз цитогенетичних характеристик дає змогу простежити зміни ще до їх фенотипового прояву. З огляду на це, саме показники мітотичної активності меристем можуть стати маркерними для прогнозування швидкості ростових процесів. Спостереження за зростаючою спонтанною мутаційною мінливістю та виявлення різниць у рівні мутацій між регіонами свідчать про можливу специфіку забруднення.

Мета роботи — визначення спонтанного рівня цитогенетичних порушень у меристематичних клітинах первинних коренів біоіндикаторів.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Біомаркери можуть виступати індикаторами відхилень від нормального стану, які не завжди дають можливість виявити в інтактному організмі [2]. Для належного аналізу впливу, встановлення причинно-наслідкових зв'язків, ідентифікації певних груп забруднювальних речовин та моніторингу стану компонентів довкілля необхідно використовувати термін «стресори». Це дасть можливість врахувати вплив біотичних та абіотичних чинників на організми. Поділ клітин є фундаментальним процесом клітинного росту, важливим для екологічної рівноваги. Реплікація ДНК у S-фазі передують мітозу, який, за нормальних умов, призводить до повного поділу клітини. Мітотична активність пов'язана з інтенсивністю клітинного росту та має ключове значення для екологічної динаміки [3]. Мітоз включає чотири основні етапи: профаза, метафаза, анафаза і телофаза. Перед мітозом клітини також можуть перебувати у фазі підготовки (G_1 , S і G_2) циклу клітинного поділу. Фаза підготовки (G) передують фазі S (реплікація ДНК), і потім відбувається мітоз. Визначення мітотичного індексу у меристематичних зонах допомагає оцінити стан та активність клі-

тин [4] і може слугувати біомаркером цитотоксичності [5], заснований на збільшенні/зменшенні швидкості поділу клітин [6].

Вивченню мітотичного індексу для оцінки цитотоксичності присвячені праці Kato T.A., Haskins J.S. [3], Ristea M.E., Zarnescu O. [4], Alaguprathana M., Poonkothai M., Al-Ansari M.M. [5], Jain P., Singh P., Sharma H.P. [7], Debnath B., Paul C., Debnath A., Saha D. [9], Rai P.K. [10], Roy A., Bhattacharya T., Kumari M. [11]. За зниження значень нижче 50% від контролю діагностується сублетальний ефект, нижче 22% — летальний [7]. Зниження мітотичного індексу зазвичай пов'язують із пригніченням синтезу ДНК [8; 9] або зупинкою G_2 фази [10]. З іншого боку, підвищення мітотичного індексу може бути результатом скорочення часу, необхідного для репарації ДНК, що свідчить про скорочення тривалості мітотичного циклу, або неконтрольовану проліферацію клітин і може призвести до утворення пухлини [10]. Поряд із мітотичним індексом використовують показник активного мітотичного індексу:

$$AMI = \frac{\text{мета-+ана-}}{\text{про- + мета- + ана- + телофаза}} \cdot 100\%.$$

Мітотичний індекс (МІ) застосовують для оцінки токсичності хрому [10], наночастинок оксиду цинку [11], хлориду міді [12], алюмінію [13], інсектицидів [14], хлорпірифосом, бензолом, оксидами азоту, озоном, діоксидом сірки [8]. Ще одним напрямом використання МІ є вивчення аелопатії, зокрема на регуляторах росту, зокрема для тестування антипроліферативного потенціалу екстрактів *Terminalia arjuna*, *Moringa oleifera* [9]; *Brassica juncea*, *Zanthoxylum limonella* [14], *Schinus* spp. [15]. Вищі рослини є ефективними моделями для виявлення мутагенів у навколишньому середовищі. Allium-тест корисний для оцінки впливу полютантів на клітинний поділ та ДНК (аберації хромосом, мікроядра). Це тест на кластогенність [16], особливо інформативний для скринінгу, моніторингу та виявлення кластогенності мутагенів

навколишнього середовища, включаючи забруднювачі атмосфери, води та ґрунту [17].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Визначення мутагенної активності здійснювали методом цитогенетичного аналізу меристематичних клітин первинних коренів проростків *P. sativum*, *R. sativus* та *A. сера*. Насіння пророщували в чашках Петрі за температури 24–26°C. Фіксацію та фарбування матеріалу проводили за стандартною методикою [18; 19]. Первинні корені завдовжки 0,8–1,0 см фіксували впродовж 1,5 год в «оцтовому алкоголі» та піддавали мацерації (1 н НСІ). Виготовляли тимчасові давлені препарати апікальної меристеми коренів, забарвлених ацетоорсеїном. Мітотичний індекс (МІ) розраховували як відношення клітин, які перебували у мітозі, до загальної кількості клітин у полі зору. Розраховувати індекси фаз мітозу (тривалість перебігу фаз), як відношення кількості клітин у певній фазі до загальної кількості клітин:

$$K_{\text{метафаза}} = \frac{\text{метафаза}}{(\text{інтерфаза} + \text{профаза} + \text{анафаза} + \text{телофаза})} \cdot (1)$$

Коефіцієнт фаз:

$$K\Phi = \frac{\text{профаза} + \text{метафаза}}{\text{анафаза} + \text{телофаза}} \cdot (2)$$

Профазний індекс:

$$I = \frac{\text{профаза}}{\text{метафаза} + \text{анафаза} + \text{телофаза}} \cdot (3)$$

З метою уніфікації значень мітотичного індексу (МІ) клітин кореня біоіндикатора розраховували відсоток зміни мітотичного індексу (% МІ_С). Цей показник відображає відсоток клітин у мітозі за певної концентрації речовини, порівняно з відповідним відсотком у контролі.

$$\% \text{ MIA}(C) = \frac{100 \cdot \text{MI}\%(C)_i}{\text{MI}\%_{\text{control}}} \cdot (4)$$

Зменшення % МІА(С) відображає зменшення кількості клітин у мітозі, і, як наслідок, зниження життєздатності клітин. Відповідно до ISO 10993-5:2009 речовина вважається нетоксичною, під час загибелі <30% клітин (життєздатність $\geq 70\%$) [20]. Ана-телофазним методом проаналізовано по 25 препаратів у кожному варіанті дослідження. Прораховано кількість нормальних клітин на стадії ана-телофази і клітин з різними типами цитогенетичних порушень. Всього проаналізовано по 20000 клітин на вибірку.

Моніторинг здійснювали у польових та лабораторних умовах на території Чернівецької обл. У межах фізико-географічних областей визначені пункти моніторингу й фонові території [13].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Наразі серйозну тривогу викликають генетичні наслідки забруднення компонентів довкілля. Окрім радіаційного впливу, алкілюючі агенти, пестициди та важкі метали стають додатковою загрозою для живих організмів. Ці речовини, хоч і не виявляються дуже токсичними, але можуть завдати шкоди геному та викликати патологічні зрушення в організмі. Один із методів оцінки впливу середовища на спадковість та передбачення темпів мутаційного процесу є цитогенетичний моніторинг [8]. Забруднювальні речовини стимулюють тривалість фаз клітинного поділу, що передусім зумовлює загальне збільшення тривалості циклу. Біотестування на клітинному рівні полягає у вивченні важливого біологічного процесу клітинного поділу [13]. Один із ключових показників цього процесу – мітотичний індекс (МІ). Значення цього показника у кореневих меристемах *A. сера* коливається від 21 до 37%, з фоновим значенням 35%. Модельні дослідження засвідчили вірогідне зниження рівня мітотичної активності меристем додаткових коренів *A. сера* у багатьох моніторингових пунктах (рис. 1).

Відмічено, що більшість ґрунтів характеризується порушенням процесу поді-

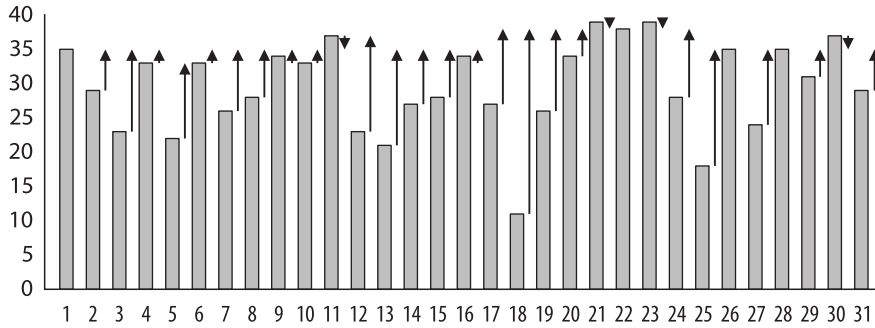


Рис. 1. Мітотичний індекс меристем додаткових коренів *A. cerea*, отриманих на ґрунтах моніторингових пунктів

лу клітин. Деякі дослідники виявили, що низькі концентрації Cu, Pb, Ni та Al можуть стимулювати активність мітозу [21]. Крім того, це може бути зумовлено не прискоренням клітинного поділу, а сповільненням проходження різних фаз мітозу на тлі збільшення частки профаз.

На ґрунтах з інгібованою мітотичною активністю спостерігалася зміна пропорції клітин у фазах мітозу. Зокрема, збільшувався відсоток клітин на стадії метафази, або на стадіях мета- та телофази, профазі або на стадіях ана- та телофази (рис. 2).

Формування профазного блоку пов'язують із дією солей цинку та купруму, які впливають на процес клітинного поділу, збільшуючи тривалість різних стадій цього процесу. Так, іони купруму можуть пошкоджувати молекули ДНК шляхом одност-

кових і подвійних розривів, а також зшивок ДНК-білок, що перешкоджає нормальній конденсації хроматину. Це може сприяти до накопичення клітин у профазі.

Виявлено зменшення кількості клітин у метафазі у меристематичних клітинах *R. sativus*, що може бути наслідком збільшення частки клітин у телофазі – 29% (у контролі – 15%) та/або анафази – 22% (у контролі – 10%). Затримка клітин на стадії анафази може відбуватися за впливу солей алюмінію. Відмічають програмовану загибель клітин [22], особливо токсичним є такий стрес на кислих ґрунтах. Показано появу фрагментів і мостів у анафазі/телофазі [11; 21], зниження мітотичного індексу. Дослідження щодо впливу алюмінію проводилися для таких видів, як *Hordeum vulgare* L., *Triticum aestivum* L., *Arabidopsis*

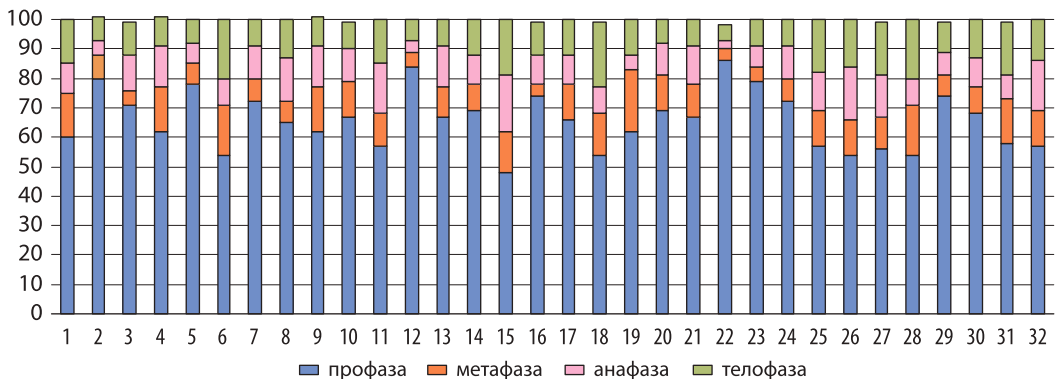


Рис. 2. Співвідношення фаз мітозу у меристемах коренів біоіндикаторів

thaliana (L.) Heynh, *Allium sativum* L. [11], *Allium cepa* L., *Sorghum bicolor* (L.) та *Zea mays* L. [22]. У наших попередніх дослідженнях [13] встановлено перевищення фонового значення рухомої форми цього елемента у ґрунтах селітебних територій в 2,7 раза. В світлі літературних даних щодо антагонізму алюмінію та кальцію гіпотеза про його вплив на утворення ахроматинного веретена видається досить ймовірною. Збільшення клітин на стадії профазі спостерігався на тлі пригнічення мітотичної активності.

Кількість клітин у мета-, ана- та телофазі становила 21% від загальної кількості клітин, що діляться. Результати порівняльного аналізу співвідношення фаз мітозу кореневих меристем *A. cepa* свідчать про достовірне збільшення відсотку профаз на ґрунтах селітебних територій. Відсоток клітин, що перебували на цій стадії, варіював у межах 71–84% проти 60% у контролі. Затримка клітин на стадії профазі простежується на тлі пригнічення мітотичної активності. Співвідношення клітин на стадіях мітозу у меристематичних клітинах *A. cepa* виявило подібну тенденцію з *R. sativus*, де кількість клітин на стадії профазі становила 48% (у контролі – 60%). Це спостеріга-

лося на тлі збільшення кількості клітин на стадії анафази до 21% (у контролі – 16%) та телофази – 17% (у контролі – 12%). На деяких ґрунтах відзначено достовірне збільшення перебування клітин на стадіях мета- та телофази та зменшення їх кількості на стадії анафази (9% порівняно з контролем 16%). Для *A. cepa* сума клітин, що знаходилися у мета- ана- та телофазі, сягала 16–22% від загальної кількості клітин, що діляться.

З метою об'єктивної оцінки залежності змін тестових показників від абіотичних чинників застосовано кореляційний та регресійний аналізи (табл. 1).

Дослідження підтвердили гіпотезу, яку висловили деякі автори [21; 22], щодо впливу солей цинку на збільшення кількості клітин, що перебувають на стадії профазі. Виявлено сильний прямий кореляційний зв'язок ($r=0,72$) між вмістом рухомих форм Zn у поверхневому шарі ґрунтів та тривалістю профазі, а також помірний рівень кореляції ($r=0,53...0,59$) між концентрацією рухомих форм Cu та Pb й відсотком клітин на стадії профазі у *R. sativus*.

Відмічено зворотний кореляційний зв'язок ($r=-0,68...-0,53$) між тривалістю

Таблиця 1. Кореляційна матриця залежності тест-ознак біоіндикаторів від абіотичних чинників на селітебних територіях

	Cu	Zn	Ni	Fe	Pb	Mn	Al
<i>Raphanus sativus</i> subsp. <i>radicula</i> (Pers.) DC.							
Профаза	0,53	0,72	0,37	0,32	0,59	0,18	0,06
Метафаза	-0,43	-0,68	-0,36	-0,23	-0,53	-0,14	-0,18
Анафаза	-0,28	-0,47	-0,35	-0,35	-0,57	-0,29	-0,09
Телофаза	-0,39	-0,51	-0,16	-0,08	-0,20	0,06	-0,04
МІ	0,04	-0,09	0,07	-0,20	0,12	-0,27	-0,28
Довжина кореня	-0,08	-0,12	-0,46	-0,29	-0,20	-0,52	-0,57
<i>Allium cepa</i> L.							
Профаза	0,44	0,54	0,44	0,31	0,54	0,10	0,37
Метафаза	-0,37	-0,43	-0,16	-0,07	-0,26	0,18	-0,31
Анафаза	-0,31	-0,33	-0,42	-0,28	-0,63	-0,07	-0,20
Телофаза	-0,39	-0,59	-0,45	-0,34	-0,39	-0,32	-0,38
МІ	-0,01	-0,16	-0,22	-0,32	-0,09	-0,45	-0,43
Довжина кореня	-0,01	-0,33	-0,50	-0,01	-0,30	-0,46	-0,58

метафази мітозу та вмістом рухомих форм Zn та Pb у поверхневому шарі ґрунтів. Також визначено помірний рівень зворотної кореляційної залежності ($r = -0,57$) між тривалістю анафази та вмістом рухомих форм Pb; між вмістом рухомих форм Zn та тривалістю телофази. Кореляція між величиною мітотичного індексу у коренях проростків *R. sativus* та концентрацією рухомих форм важких металів та алюмінію у поверхневому шарі ґрунтів виявилася не значущою ($r < 0,50$). Узагальнюючи наш аналіз, підтверджено значущий вплив (0,72) концентрації рухомих форм Zn на формування профазного блоку, проте не слід ігнорувати інші невраховані чинники ґрунту. Аналіз взаємозв'язків між цитогенетичними показниками меристем додаткових коренів *A. cepa* та вмістом рухомих форм важких металів і алюмінію у поверхневому шарі ґрунтів засвідчив середнього рівня прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,52...0,54$) між концентрацією Zn та Pb та тривалістю профази; вмістом рухомих форм Pb і тривалістю анафази – високий рівень зворотного кореляційного зв'язку ($r = -0,63$). Крім того, визначено середній рівень зворотної кореляційної залежності ($r = -0,59$) між тривалістю телофази концентрацією рухомих форм цинку у поверхневому шарі ґрунту. Кореляція між коефіцієнтами концентрації рухомих форм елементів і довжиною головного кореня *A. cepa* носила зворотно пропорційний характер. До того ж на ріст кореня у довжину істотно впливали рухомі форми нікелю та алюмінію. Між даними показниками визначено середній рівень зворотної кореляційної залежності ($r = -0,50...-0,58$).

Отже, результати кореляційного аналізу щодо залежності цитогенетичних показників від концентрації рухомих форм деяких елементів у поверхневому шарі ґрунтів селітебних територій виявив значущий вплив (0,72) цинку на формування профазного індексу. Для вивчення впливу комбінованої фітотоксичної дії рухомих форм важких металів та алюмінію у поверхневому шарі ґрунту (X) на тест-ознаками відвібіоіндикаторів (Y), провели множинний

регресійний аналіз. Під час формування вихідної матриці даних ввели значення аргументу відповідно до такої послідовності: X_1 – вміст рухомих форм Cu у поверхневому шарі ґрунтів; X_2 – Zn; X_3 – Ni; X_4 – Fe; X_5 – Pb; X_6 – Mn; X_7 – Al. Отримані рівняння регресійного аналізу між кількістю клітин, що перебували на стадії профази та коефіцієнтами концентрації рухомих форм важких металів у поверхневому шарі ґрунтів селітебних територій, можна представити у вигляді:

R. sativus:

$$Y = 53,6 - 1,4X_1 + 0,5X_2 + 18,2X_5 \quad (r = 0,8).$$

A. cepa:

$$Y = 54,2 + 0,27X_2 \quad (r = 0,8).$$

Найбільший вплив на довжину кореня *R. sativus* виявляють Cu, Zn та Pb. Результати багатофакторного регресійного аналізу для кількості клітин, що перебували на стадії метафази *R. sativus* можна подати у вигляді рівняння:

$$Y = 12,3 + 0,3X_1 - 0,1X_2 - 4,1X_5 \quad (r = 0,7).$$

Множинний регресійний аналіз встановив зв'язок між кількістю клітин на стадії анафази, та вмістом рухомих форм важких металів та алюмінію у поверхневому шарі ґрунтів селітебних територій, відображений у рівнянні:

R. sativus:

$$Y = 17,6 + X_1 - 0,2X_2 - 12,2X_5 \quad (r = 0,7).$$

A. cepa:

$$Y = 18,1 + 0,57X_1 - 9,1X_2 \quad (r = 0,8).$$

Кількість клітин на стадії анафази виявила пряму кореляційну залежність із вмістом рухомих форм Cu у поверхневому шарі ґрунтів. У той самий час вміст рухомих форм Zn та Al проявив зворотну кореляційну залежність, що свідчить про їхню негативну роль у зменшенні кількості клітин на цій фазі. Щодо клітин на стадії телофази у меристемах додаткових коренів *A. cepa* отримано рівняння:

$$Y = 16,2 - 0,12X_2 \quad (r = 0,9).$$

Як і у випадку з іншими фазами, найбільший вплив мають рухомі форми Zn,

встановлено зворотну кореляційну залежність.

Токсичність важких металів зумовлена їх здатністю інгібувати ферменти, викликати окислювальний стрес і пригнічувати антиоксидантні механізми, що призводить до пошкодження ДНК [23]. Біотестування впливу деяких елементів на цитогенетичні показники *P. sativum* показало, що усі використані дози хлориду алюмінію мали кластогенний ефект, що свідчить про можливе недооцінення рівня мутагенності цього елементу. Частота аберантних анафаз не виявила прямої лінійної залежності від концентрації $AlCl_3$. Однак встановлено, що алюміній має специфічну здатність утримувати клітини на стадії анафази. Збільшення частки клітин на стадії анафази спостерігалось пропорційно збільшенню концентрації $AlCl_3$ (рис. 3). Алюміній є третім за поширеністю елементом у земній корі та основним чинником, що обмежує ріст рослин на кислих ґрунтах. На від-

міну від $AlCl_3$, $CdCl_2$ проявив три різних діапазони концентрацій, що впливають на частоту утворення аберантних анафаз, зміна частоти — $3,38 \times 10^{-5}$ до $6,71 \times 10^{-5}$ М, стимулювання — за $8,44 \times 10^{-5}$ М. Усі досліджені дози рентгенівського випромінювання збільшували частоту утворення аберантних анафаз. Пік стимуляції простежувався на другій за величиною потужності $3,61 \times 10^{-3}$ С/кг. Незважаючи на різницю в середніх значеннях, не встановлено статистично значущої різниці за критерієм Стьюдента, що може пояснюватися мінливістю. Особливістю впливу опромінення на меристематичні клітини *P. sativum* є збільшення відносної частки клітин на стадії телофази і значне зменшення на стадії метафази.

Доза опромінення $9,03 \times 10^{-3}$ С/кг призводить до частоти аберантних анафаз, подібно до дії $AlCl_3$ ($3,86 \times 10^{-4}$ М) і Na_2SeO_3 ($8,34 \times 10^{-6}$ М). Водночас менші дози рентгенівського опромінення викликали високу

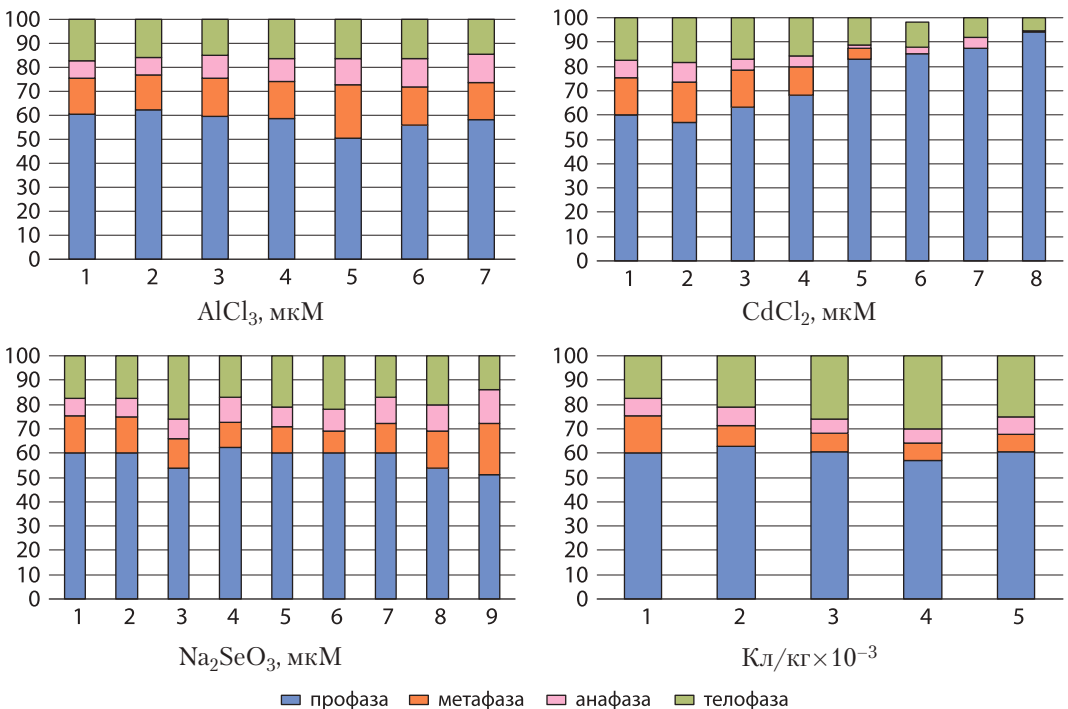


Рис. 3. Співвідношення фаз мітозу в меристематичних клітинах *Pisum sativum* L. за дії різних стресових чинників

Таблиця 2. Коефіцієнти кореляції Пірсона

	AlCl ₃	CdCl ₂	Na ₂ SeO ₃	Опромінення
Профаза	0,202	-0,090	0,053	-0,097
Метафаза	-0,352	-0,786	-0,682	-0,647
Анафаза	-0,434	-0,761	-0,344	-0,267
Телофаза	-0,189	-0,860	-0,478	0,544

частоту аберантних анафаз, що підтверджує гіпотезу про енергетичну залежність виходу генетичних змін від дози опромінення. Згідно з цим, у межах відносно широкого діапазону потужності опромінення існує зворотна залежність між частотою мутацій і потужністю дози. Обраний нами інтервал дози знаходиться в цих межах. Аналіз коефіцієнтів кореляції Пірсона між концентрацією AlCl₃ та кількістю клітин на стадіях поділу показав існування слабкої залежності (табл. 2).

Значення коефіцієнтів кореляції між концентрацією CdCl₂ та Na₂SeO₃ вказують на від'ємний зв'язок, що може свідчити про зменшення кількості клітин на стадіях

поділу за зростання концентрації цих речовин. Щодо впливу рентгенівського опромінення, спостерігаються різні залежності: для про-, ана- та метафази – зворотна кореляція, тоді як для телофази – пряма залежність. Для встановлення математичного зв'язку між незалежною (концентрація/доза) та залежною змінною (кількість клітин) використали рівняння множинної регресії (рис. 4). Рівняння можна застосовувати щодо прогнозування кількості клітин на певній стадії поділу, які можуть надати загальну інформацію про вплив концентрації на кількість клітин.

Рівняння регресії $Y = -0,3276X^2 + 1,5482X + 58,513$, що описує залежність

AlCl ₃ (X)	$Y = 0,0125X + 7,5942$, $R^2 = 0,8619$	$X = (Y - 7,5942) / 0,0125$	Кількість клітин у <i>анафазі</i> (Y)
CdCl ₂ (X)	$Y = -0,0547X + 7,3495$, $R^2 = 0,6928$	$X = (Y - 7,3495) / (-0,0547)$	Кількість клітин у <i>анафазі</i> (Y)
CdCl ₂ (X)	$Y = 0,331X + 55,201$, $R^2 = 0,9263$	$X = (Y - 55,201) / 0,331$	Кількість клітин у <i>профазі</i> (Y)
CdCl ₂ (X)	$Y = -0,1679X + 17,875$, $R^2 = 0,884$	$X = (Y - 17,875) / (-0,1679)$	Кількість клітин у <i>метафазі</i>
CdCl ₂ (X)	$Y = -0,1123X + 19,559$, $R^2 = 0,9355$	$X = (Y - 19,559) / (-0,1123)$	Кількість клітин у <i>телофазі</i>

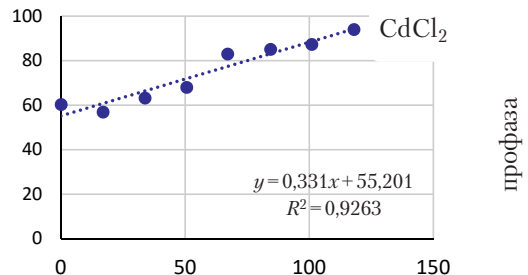
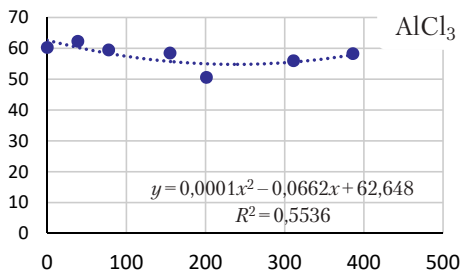


Рис. 4. Регресійна залежність від концентрації

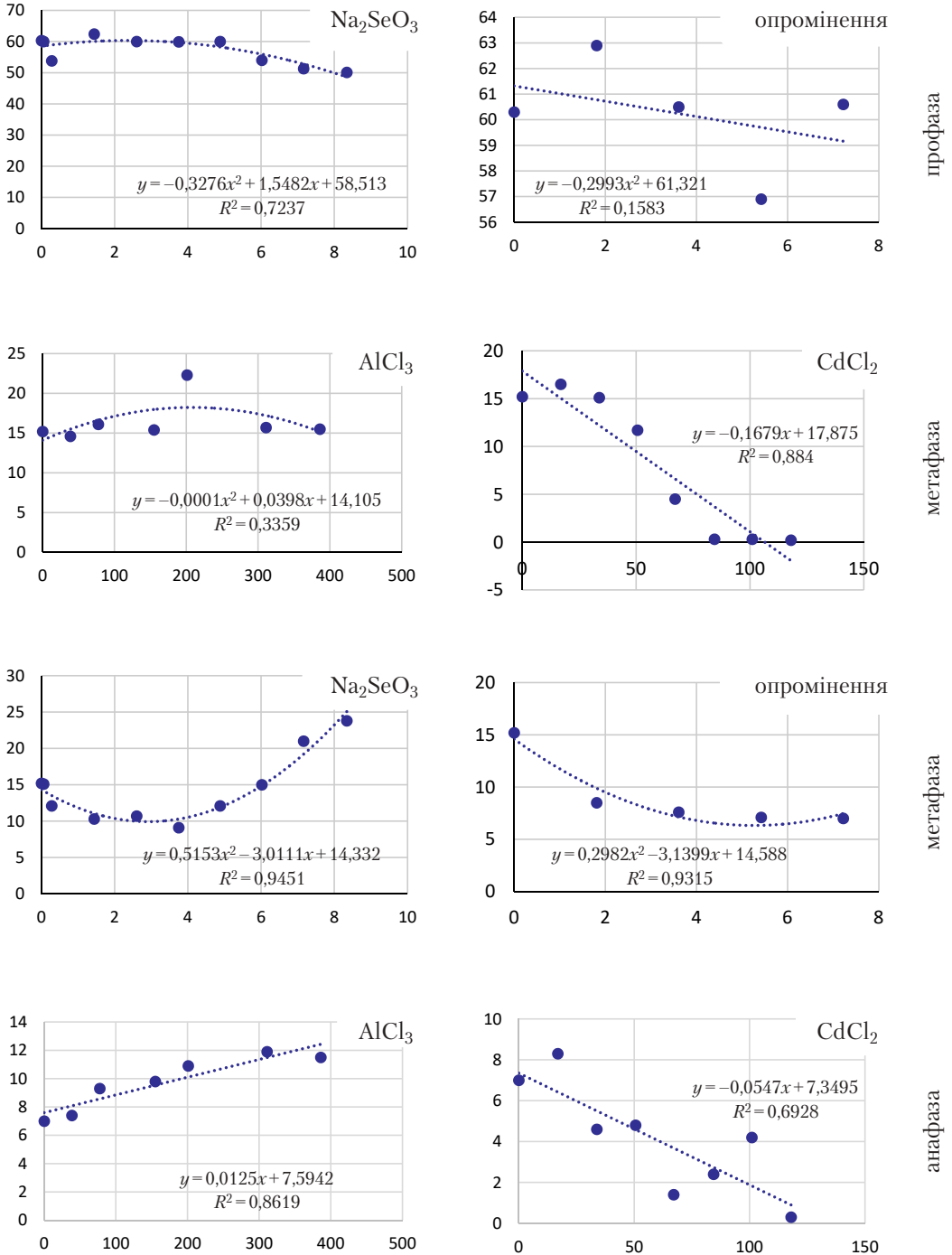


Рис. 4. Регресійна залежність від концентрації (продовження)

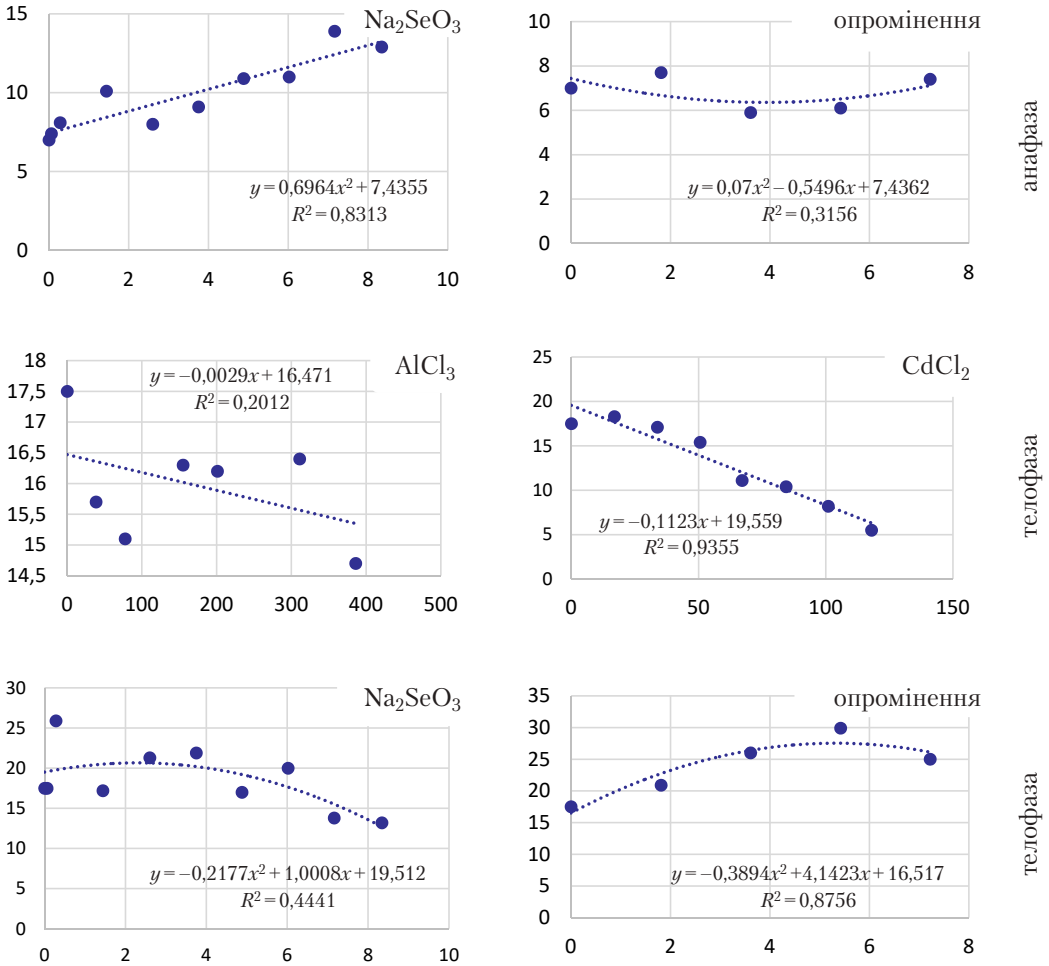


Рис. 4. Регресійна залежність від концентрації (закінчення)

між концентрацію Na_2SeO_3 та кількістю клітин у профазі, є поліноміальним і має коефіцієнт детермінації $R^2 = 0,7237$.

$$X = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a} = \frac{-1,5482 \pm \sqrt{1,5482^2 - 4 \cdot (-0,3276) \cdot 58,513}}{2 \cdot (-0,3276)}$$

Для метафази вигляд регресії такий: $Y = 0,5153X^2 - 3,0111X + 14,332$. Коефіцієнт детермінації $R^2 = 0,9451$ свідчить про високу точність моделі поліноміальної регресії.

$$X = \frac{3,0111 \pm \sqrt{3,0111^2 - 4 \cdot 0,5153 \cdot (14,332 - Y)}}{2 \cdot 0,5153}$$

Рівняння регресії для анафази має вигляд: $Y = 0,6964X + 7,4355$, де X – це концентрація Na_2SeO_3 ; Y – кількість клітин. Коефіцієнт детермінації $R^2 = 0,8313$; $X = (Y - 7,4355) / 0,6964$. Ця функція дає змогу розраховувати значення концентрації Na_2SeO_3 (X) на основі відомої кількості клітин (Y).

Рівняння регресії для метафази: $Y = 0,2982X^2 - 3,1399X + 14,588$, де X – це доза опромінення; Y – кількість клітин. Коефі-

цієнт детермінації $R^2=0,9315$ свідчить про те, що ця поліноміальна модель дуже добре пояснює більшу частину варіації даних (близько 93,15%).

$$X = \frac{3,1399 \pm \sqrt{3,1399^2 - 4 \cdot 0,2982 \cdot (14,332 - Y)}}{2 \cdot 0,2982}$$

Рівняння регресії для телофази: $Y = -0,3894X^2 + 4,1423X + 16,517$, де X – це доза опромінення; Y – кількість клітин. Коефіцієнт детермінації $R^2=0,8756$.

$$X = \frac{-4,1423 \pm \sqrt{-4,1423^2 - 4 \cdot (-0,3894) \cdot (16,517 - Y)}}{2 \cdot (-0,3894)}$$

Виявлено як лінійні, так і поліноміальні функції. Зокрема,

	Al	Cd	Se
Профаза		$X = \frac{Y - 55,201}{0,331}$	
Метафаза		$X = \frac{Y - 17,875}{-0,1679}$	
Анафаза	$X = \frac{Y - 7,5942}{0,0125}$	$X = \frac{Y - 7,3495}{-0,0547}$	$X = \frac{Y - 7,4355}{0,6964}$
Телофаза		$X = \frac{Y - 19,559}{-0,1123}$	

Та поліноміальні залежності:

Se	
Метафаза	$X = \frac{3,0111 \pm \sqrt{3,0111^2 - 4 \cdot 0,5153 \cdot (14,332 - Y)}}{2 \cdot 0,5153}$
Опромінення	
Метафаза	$X = \frac{3,1399 \pm \sqrt{3,1399^2 - 4 \cdot 0,2982 \cdot (14,332 - Y)}}{2 \cdot 0,2982}$
Телофаза	$X = \frac{-4,1423 \pm \sqrt{-4,1423^2 - 4 \cdot (-0,3894) \cdot (16,517 - Y)}}{2 \cdot (-0,3894)}$

ВИСНОВКИ

Аналіз цитогенетичних даних вказує на значний вплив ґрунтів досліджених селітебних територій на рівень мітотичної активності, принаймні, одного з модельних біоіндикаторів, що призводить до зменшення мітотичного індексу. Виявлено, що на тривалість профазы мають прямий вплив рухомі форми Zn та Pb , тоді як Cu діє зворотно. За результатами множинно-

го регресійного аналізу встановлено, що найбільший вплив на ці процеси мають рухомі форми Zn , Cu та Pb у поверхневому шарі ґрунтів досліджених селітебних територій.

За впливу $AlCl_3$ збільшується частка клітин на стадії анафази; $CdCl_2$ – на стадії профазы; Na_2SeO_3 – на мета- і анафазній стадіях; рентгеновського опромінення – на стадії телофази. Щодо здатності індуку-

вати частоту абераційних анафаз, можна побудувати рейтинговий ряд: Na_2SeO_3 ($3,75 \times 10^{-6}$ М) > AlCl_3 ($3,86 \times 10^{-5}$ М) > CdCl_2 ($8,44 \times 10^{-5}$ М). Доза опромінення

$9,03 \times 10^{-3}$ С/кг зумовлює частоту хромосомних аберацій, аналогічно до дії AlCl_3 ($3,86 \times 10^{-4}$ М) і Na_2SeO_3 ($8,34 \times 10^{-6}$ М).

ЛІТЕРАТУРА

- Banti C.N. and Hadjidakou S.K. Evaluation of toxicity with brine shrimp assay. *Bio Protoc.* 2021. No 11. P. 3895. DOI: <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3895>.
- Lemos M.F.L. Biomarker Studies in Stress Biology: From the Gene to Population, from the Organism to the Application. *Biology.* 2021. No 10. P. 1340. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology10121340>.
- Kato T.A. and Haskins J.S. Mitotic Index Analysis. *Methods. Mol. Biol.* 2023. No 2519. P. 17–26. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2433-3_3.
- Ristea M.E. and Zarnescu O. Effects of Indigo Carmine on Growth, Cell Division, and Morphology of *Allium cepa* L. *Root Tip. Toxics.* 2024. Vol. 12 (3). P. 194. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxics12030194>. PMID: 38535927.
- Alagupathana M., Poonkothai M., Al-Ansari M.M. et al. Cytogenotoxicity assessment in *Allium cepa* roots exposed to methyl orange treated with *Oedogonium subplagiotomum* API. *Environ. Res.* 2022. Vol. 213 (113). P. 612. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113612>.
- Camilo-Cotrim C.F., Bailão E.F.L.C., Ondeí L.S. et al. What can the *Allium cepa* test say about pesticide safety? A review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2022. Vol. 29 (32). P. 48088–48104. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20695-z>.
- Jain P., Singh P. and Sharma H.P. Anti-proliferative activity of some medicinal plants. *Int. J. Pharmacol. Pharm. Sci.* 2016. Vol. 3 (2). P. 46–52.
- Sánchez-Moreiras M.J. Reigosa. Advances in Plant Ecophysiology Techniques. 2018. P. 230–240. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-93233-0>.
- Debnath B., Paul C., Debnath A. and Saha D. Evaluation of cytotoxicity of *Terminalia arjuna* (Roxb.) Wight & Arn. and *Moringa oleifera* Lam. in root meristems cells of *Allium cepa* L. *J. Med. Plant. Stud.* 2016. Vol. 4 (3). P. 107–110. URL: <http://surl.li/thcuj>.
- Rai P.K. Impacts of particulate matter pollution on plants: Implications for environmental biomonitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2016. Vol. 129. P. 120–136. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.012>.
- Roy A., Bhattacharya T. and Kumari M. Air pollution tolerance, metal accumulation and dust capturing capacity of common tropical trees in commercial and industrial sites. *Sci. Total Environ.* 2020. Vol. 722. P. 137622. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137622>.
- Can A.A., Isik G. and Yuçel E. The effects of copper (CuCl_2) on mitotic cell division of Lebanon cedar (*Cedrus libani*). *Fresenius Environ. Bull.* 2016. Vol. 25 (1). P. 4324–4326.
- Морозова Т.В. Різномірне біоіндикаційна оцінка слабкоурбанізованих селітебних територій Чернівецької області: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16. Чернівці, 2005. 23 с.
- Charoenyong P., Laosinwattana C. and Chotsaeng N. The Allelopathic Activity of Extracts and Isolated from *Spirulina platensis*. *Molecules.* 2022. Vol. 27. P. 3852. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27123852>.
- Pawlowski A., Kaltchuk-Santos E., Zini C.A. et al. Essential oils of *Schinus terebinthifolius* and *S. molle* (Anacardiaceae): Mitodepressive and aneugenic inducers in onion and lettuce root meristems. *S. Afr. J. Bot.* 2012. Vol. 80. P. 96–103. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.03.003>.
- Обстеження та районування території за ступенем впливу антропогенних чинників на стан об'єктів довкілля з використанням цитогенетичних методів: Методичні рекомендації. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0116282-07#Text>.
- Ma R., Yan M., Han P. et al. Deficiency and excess of groundwater iodine and their health associations. *Nat Commun.* 2022. No 29. Vol. 13 (1). P. 7354. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35042-6>.
- Морозова Т.В. Аспекти екологічного моніторингу. Київ, 2020. 380 с.
- Milionis I., Banti C.N., Sainis I. et al. Silver ciprofloxacin (CIPAG): a successful combination of chemically modified antibiotic in inorganic-organic hybrid. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2018. No 23. P. 705–723. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00775-018-1561-9>.
- Rossos A.K., Banti C.N., Raptis P.K. et al. Silver nanoparticles using eucalyptus or willow extracts (AgNPs) as contact lens hydrogel components to reduce the risk of microbial infection. *Molecules.* 2021. Vol. 26. P. 5022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26165022>.
- Tzima C.S., Banti C.N. and Hadjidakou S.K. Assessment of the biological effect of metal ions and their complexes using *Allium cepa* and *Artemia salina* assays: a possible environmental implementation of biological inorganic chemistry. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2022. Vol. 27 (7). P. 611–629. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00775-022-01963-2>.
- Liu H.-L. and Shen Y.-S. The Impact of Green Space Changes on Air Pollution and Microclimates: A Case Study of the Taipei Metropolitan Area. *Sustainability.* 2014. No 6. P. 8827–8855. DOI: <https://doi.org/10.3390/su6128827>.
- Gumpu M.B., Sethuraman S, Krishnan U.M. and Rayappan J.B.B. A review on detection of heavy metal ions in water an electrochemical approach. *Sens. Actuators B Chem.* 2015. Vol. 213. P. 515–533. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.02.122>.

REFERENCES

- Banti, C.N. & Hadjikakou, S.K. (2021). Evaluation of toxicity with brine shrimp assay. *Bio Protoc*, *11*, 3895. DOI: <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3895> [in English].
- Lemos, M.F.L. (2021). Biomarker Studies in Stress Biology: From the Gene to Population, from the Organism to the Application. *Biology*, *10*, 1340. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology10121340> [in English].
- Kato, T.A. & Haskins, J.S. (2023). Mitotic Index Analysis. *Methods Mol. Biol.*, *2519*, 17–26. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2433-3_3 [in English].
- Ristea, M.E. & Zarnescu, O. (2024). Effects of Indigo Carmine on Growth, Cell Division, and Morphology of *Allium cepa* L. *Root. Tip. Toxics*, *12* (3), 194. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxics12030194>. PMID: 38535927 [in English].
- Alaguprathana, M., Poonkothai, M., Al-Ansari, M.M. et al. (2022). Cytogenotoxicity assessment in *Allium cepa* roots exposed to methyl orange treated with *Oedogonium subplagiostomum* AP1. *Environ. Res.*, *213*, 113612. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113612> [in English].
- Camilo-Cotrim, C.F., Bailão, E.F.L.C., Ondei, L.S. et al. (2022). What can the *Allium cepa* test say about pesticide safety? A review. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, *29* (32), 48088–48104. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20695-z> [in English].
- Jain, P., Singh, P. & Sharma, H.P. (2016). Antiproliferative activity of some medicinal plants. *Int. J. Pharmacol. Pharm. Sci.*, *3* (2), 46–52 [in English].
- Sánchez-Moreiras, M.J. (2018). Reigosa. Advances in Plant Ecophysiology Techniques. (pp. 230–240). DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-93233-0> [in English].
- Debnath, B., Paul, C., Debnath, A. & Saha, D. (2016). Evaluation of cytotoxicity of *Terminalia arjuna* (Roxb.) Wight & Arn. and *Moringa oleifera* Lam. in root meristems cells of *Allium cepa* L. *J. Med. Plant. Stud.*, *4* (3), 107–110. URL: <http://surl.li/thcuj> [in English].
- Rai, P.K. (2016). Impacts of particulate matter pollution on plants: Implications for environmental biomonitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *129*, 120–136. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.012> [in English].
- Roy, A., Bhattacharya, T. & Kumari, M. (2020). Air Pollution Tolerance, Metal Accumulation and Dust Capturing Capacity of Common Tropical Trees in Commercial and Industrial Sites. *Sci. Total Environ.*, *722*, 137622. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137622> [in English].
- Can, A.A., Isik, G. & Yucel, E. (2016). The effects of copper (CuCl₂) on mitotic cell division of Lebanon cedar (*Cedrus libani*). *Fresenius Environ. Bull.*, *25* (1), 4324–4326 [in English].
- Morozova, T.V. (2005). Riznorivneva bioindykatsiina otsinka slabkourbanizovanykh selytebnykh terytorii Chernivetskoï oblasti [Multilevel Bioindication Assessment of Sparsely Urbanized Residential Areas of Chernivtsi Region]. *Extended abstract of candidate's thesis*. Chernivtsi [in Ukrainian].
- Charoenying, P., Laosinwattana, C. & Chotsaeng, N. (2022). The Allelopathic Activity of Extracts and Isolated from *Spirulina platensis*. *Molecules*, *27*, 3852. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27123852> [in English].
- Pawłowski, A., Kaltchuk-Santos, E., Zini, C.A. et al. (2012). Essential oils of *Schinus terebinthifolius* and *S. molle* (Anacardiaceae): Mitodepressive and aneugenic inducers in onion and lettuce root meristems. *S. Afr. J. Bot.*, *80*, 96–103. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.03.003> [in English].
- Ministry of Health of Ukraine. *Obstzhenhnia ta raionuvannia terytorii za stupenem vplyvu antropohennykh chynnykiv na stan ob'ektiv dovkilla z vykorystanniam tsytohennykh metodiv: Metodychni rekomendatsii [Survey and zoning of the territory according to the degree of influence of anthropogenic factors on the state of environmental objects using cytogenetic methods: Methodical recommendations]* [in Ukrainian].
- Ma, R., Yan, M., Han, P. et al. (2022). Deficiency and excess of groundwater iodine and their health associations. *Nat. Commun.*, *29*, 13 (1), 7354. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35042-6> [in English].
- Morozova, T.V. (2020). *Aspekty ekolohichnoho monitorynha [Aspects of environmental monitoring]*. Kyiv [in Ukrainian].
- Milionis, I., Banti, C.N., Sainis, I. et al. (2018). Silver ciprofloxacin (CIPAG): a successful combination of chemically modified antibiotic in inorganic-organic hybrid. *J. Biol. Inorg. Chem.*, *23*, 705–723. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00775-018-1561-9> [in English].
- Rossos, A.K., Banti, C.N., Raptis, P.K. et al. (2021). Silver nanoparticles using eucalyptus or willow extracts (AgNPs) as contact lens hydrogel components to reduce the risk of microbial infection. *Molecules*, *26*, 5022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26165022> [in English].
- Tzima, C.S., Banti, C.N. & Hadjikakou, S.K. (2022). Assessment of the biological effect of metal ions and their complexes using *Allium cepa* and *Artemia salina* assays: a possible environmental implementation of biological inorganic chemistry. *J. Biol. Inorg. Chem.*, *27* (7), 611–629. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00775-022-01963-2> [in English].
- Liu, H.-L. & Shen, Y.-S. (2014). The Impact of Green Space Changes on Air Pollution and Microclimates: A Case Study of the Taipei Metropolitan Area. *Sustainability*, *6*, 8827–8855. DOI: <https://doi.org/10.3390/su6128827> [in English].
- Gumpu, M.B., Sethuraman, S., Krishnan, U.M. & Rayappan, J.B.B. (2015). A review on detection of heavy metal ions in water an electrochemical approach. *Sens. Actuators B Chem.*, *213*, 515–533. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.02.122> [in English].

Стаття надійшла до редакції журналу 07.05.2024