УДК 504.054+581.35

Л. С. Швець

БІОІНДИКАЦІЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ЗАБРУДНЕННЯ ДОВКІЛЛЯ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ФЕРТИЛЬНОСТІ ПИЛКОВИХ ЗЕРЕН РІЗНИХ РОСЛИН

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

Нині доведено, що для виявлення впливу шкідливих факторів довкілля на генетичний апарат людини необхідно встановлювати наявність потенційних мутагенів на всіх рівнях організації спадкового матеріалу. З цією метою проводяться моніторингові експерименти із застосуванням різних тест-систем [1]. У переважній більшості такі дослідження довготривалі, потребують великих фінансових витрат. Тому перспективними є скринінгові програми на основі рослинних тест-об'єктів, які дозволяють визначати різні типи мутацій, не потребують значних капіталовкладень, а експерименти *iv vivo* та *in vitro* можуть бути проведені у порівняно короткі терміни [2]. Позитивним є також здатність рослинних об'єктів-індикаторів реагувати навіть на відносно слабкі навантаження внаслідок ефекту кумуляції дози, фіксувати швидкість змін у довкіллі та розкривати тенденції розвитку середовища [3]. Відомі роботи з оцінювання інтенсивності мутагенного забруднення за частотою явищ інтрахромосомної гомологічної рекомбінації у трансгенних рослин *Arabidopsis thaliana* і *Nicotiana tabacum* [4; 5], за показниками порушення мітозу в клітинах первинної меристеми корінців *Allium cepa*, пророщених на різних зразках води і ґрунтів [6]. Важливою ланкою індикації мутагенної напруженості довкілля є дослідження репродуктивних структур рослин (насамперед, чоловічого гаметофіту), які чутливіші до шкідливих чинників, ніж рослини в цілому [7].

Мета дослідження — вивчення гонадотоксичних ефектів ґрунтів і води різних районів Івано-Франківської області за показниками фертильності пилкових зерен рослин.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження були квіткові суцвіття яблуні лісової *(Malus silvestris)*, кінського каштану звичайного *(Aesculus hippocastanum)*, чистотілу великого *(Chelidonium majus)* і грициків звичайних *(Capsella bursa-pastoris)*. Взяття матеріалу здійснено у різних містах Івано-Франківської області: умовно екологічно чистих — Рогатині, Косові, Яремчі, Долині; хімічно забруднених (за даними СЕС) — Калуші, Надвірній, Бурштині; зоні посиленого радіологічного контролю — с. Стецева Снятинського району.

Взяття зразків пилку проводили в період масового цвітіння з однорічних пагонів дерев (на висоті двох метрів) і трав'яних рослин. З цією метою з кожної рослини відбирали квіткові суцвіття. Фертильність і стерильність пилкових зерен визначали йодним методом виявлення крохмалю у зрілих пилкових зернах [8]. Фертильні пилкові зерна відрізнялися темно-фіолетовим забарвленням. Стерильні пилкові зерна залишалися незабарвленими, оскільки не містили крохмалю або мали його сліди. У кожної рослини з досліджуваного міста було переглянуто 2500–2900 пилкових зерен із 5 квіток. Визначали відсоток стерильних пилкових зерен від їх загальної кількості та коефіцієнт стерильності пилку за формулою:

$$К_{сп} = С_{рд} / С_к,$$

де $К_{сп}$ — коефіцієнт стерильності пилку;

$С_{рд}$ — стерильність пилку в районі дослідження;

$С_к$ — стерильність пилку на контрольній території.

Статистичну обробку здійснено за загальноприйнятими методами математичної статистики за програмою Microsoft Excel. Для аналізу груп порівняння застосовували t-критерій Стьюдента, який дозволяє відповісти на питання, чи є суттєвими відмінності між середніми показниками у цих групах.

Результати дослідження та їх обговорення

Оцінка інтенсивності забруднення довкілля у різних містах Івано-Франківської області за стерильністю пилкових зерен рослин дозволила встановити кількісні відмінності чоловічого гаметофіту залежно від екологічної ситуації досліджуваних територій і виду рослин.

Насамперед, з'ясовано величину показника стерильності пилкових зерен у деревних рослин (яблуні лісової та каштану кінського звичайного). Встановлено, що ці дві рослини відрізняються різною чутливістю до факторів довкілля незалежно від пункту спостереження (рис. 1).

Як видно з даних, представлених на рис. 1, у яблуні лісової показник стерильності пилку коливався від (4,03±0,09) % у місті Косові до (31,49±0,65) % у місті Калуші. Цей показник виявився відносно невисоким

для рослин з Рогатина — (12,13±±0,47) % та Яремчі — (4,22±±0,23) %. Середніми за величиною та майже ідентичними були значення фертильності пилкових зерен рослин із Долини — (20,05±0,81) % та Надвірної — (20,07±0,53) %. Порівняльною оцінкою стерильності генеративних клітин у досліджуваних рослин доведено, що високу індивідуальну чутливість має яблуня лісова на відміну від каштану кінського. Стерильність пилку останнього була значно вищою у рослин із Бурштина, ніж у рослин із Косова і становила відповідно (26,05±0,61) та (4,16±0,12) %. Водночас показник стерильності пилкових зерен цієї рослини не відрізнявся в екологічно чистих містах Яремча і Косів. Порівняно високим він виявився у рослин із хімічно забруднених населених пунктів: Калуша — (25,01±0,21) %, Надвірної — (20,72±0,41) %.

Нами також був вивчений коефіцієнт чутливості (відношення фертильних пилкових зерен до стерильних) органів чоловічої репродукції до техногенного забруднення — Ф/С. У контрольному регіоні коефіцієнт чутливості реєструвався на рівні 23,81. У хімічно забрудненому місті Калуш даний показник знизився в 11 разів порівняно з таким в екологічно чистому районі. Отриманий результат може свідчити про вибіркову чутливість генеративних органів яблуні лісової до рівня забруднення довкілля, що узгоджується з даними про різну чутливість плодових рослин до мутагенних чинників [7].

Наступним етапом досліджень було визначення показника стерильності пилкових зерен у трав'яних рослин, які характеризуються коротким життєвим циклом і більше піддаються впливу факторів довкілля (рис. 2). Серед цих рослин стійким до дії гонадотоксичних чинників виявився чистотіл великий, що засвідчили

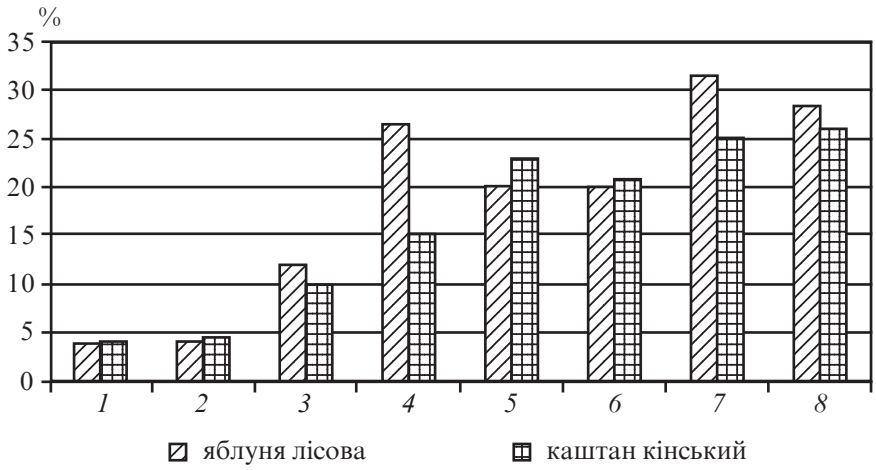

Рис. 1. Відсоток стерильності пилкових зерен у деревних рослин із різних пунктів дослідження в Івано-Франківській області. На рис. 1, 2: *1* — Косів; *2* — Яремча; *3* — Рогатин; *4* — Стецева; *5* — Долина; *6* — Надвірна; *7* — Калуш; *8* — Бурштин

невисокі показники стерильності генеративних клітин у рослин з усіх досліджуваних населених пунктів. За результатами фертильності, найсприятливіша екологічна ситуація склалася у Косові, найбільшу гонадотоксичність зареєстровано у Бурштині: коливання відповідного показника становили від (1,48±0,04) до (7,79±±0,21) %. Виявлено високу і майже ідентичну стерильність пилкових зерен рослини чистотілу великого з міст Калуша і Долини, відповідно (6,89±0,32) і (6,18±0,17) %. У рослин з міст Надвірної та Рогатина досліджуваний показник дорівнював (5,06±0,19) та (4,32±0,12) %, а із зони посиленого радіологічного контролю с. Стецева — (3,69±0,27) %.

У результаті досліджень другого тест-об'єкту — грициків звичайних — відмічено аналогічну тенденцію щодо інтенсивності мутагенного фону на досліджуваних територіях. Так, найнижчий відсоток стерильності генеративних клітин зареєстровано у рослин з Косова — (2,44±0,15) %, а вищий — у 11 та 9 разів відповідно — у рослин з міст Бурштина і Калуша. У рослин з Надвірної та Стецева він коливався в межах (12,05±0,08) і (14,08±0,11) %. Поряд зі збільшенням відсотка стерильних пилкових клітин спостерігалися різноманітні їх аномалії: утворення маленьких зморщень, відходження вмісту пилкового зерна від оболонки. Невисока гонадотоксичність виявлена в рослин з Яремчі —

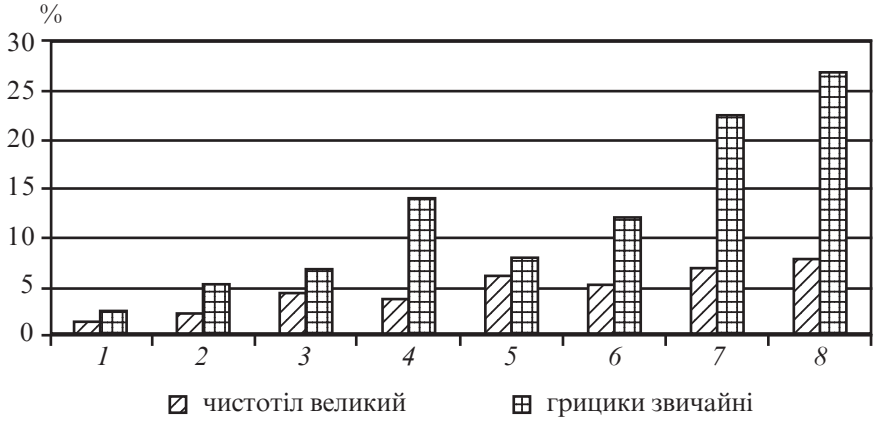

Рис. 2. Відсоток стерильності пилкових зерен у трав'яних рослин із різних пунктів дослідження в Івано-Франківській області

Таблиця 1

Коефіцієнт стерильності рослин у різних пунктах дослідження Івано-Франківської області, ум. од.

Вид рослини	Пункт дослідження							
	Косів	Яремча	Рогатин	Стецева	Долина	Надвірна	Калуш	Бурштин
Яблуня лісова	1	1,27	1,49	2,85	2,09	2,10	3,29	2,96
Каштан кінський	1	1,08	2,75	3,61	5,71	5,14	6,20	6,46
Чистотіл великий	1	1,88	2,91	2,49	4,17	3,42	4,65	5,26
Грицик звичайний	1	2,14	2,76	5,77	3,15	4,94	9,09	10,97

(5,23±0,13) %, Рогатина — (6,72±0,32) % та Долини — (7,68±0,20) %.

Зведений аналіз показників фертильності генеративних клітин усіх досліджуваних видів рослин засвідчив, що ґрунти і вода з Косова мали найнижчий гонадотоксичний ефект за відсотком стерильності пилкових зерен. Саме тому цей пункт дослідження було прийнято за контрольний при встановленні коефіцієнта стерильності серед тестованих рослин (табл. 1).

Із отриманих результатів видно, що коефіцієнт стерильності у рослин з Яремчі був невисоким порівняно з контрольним і коливався від 1,08 у каштана кінського до 2,14 у грициків звичайних. Величина цього показника у трьох рослин (каштану кінського, чистотілу великого і грициків звичайних) із Рогатина була майже однаковою, а за стерильністю пилкових зерен яблуні лісової (1,49) він істотно не відрізнявся від такого у Яремчі. Даний факт може свідчити про відносно сприятливу екологічну ситуацію, яка склалася у вищеописаних пунктах дослідження.

Найвищі показники коефіцієнта стерильності були характерні для рослин з міст Калуша та Бурштина. Зокрема, у грициків звичайних, які росли на ґрунтах цих міст, він дорівнював відповідно 9,09 та 10,07. Водночас у чистотілу великого коефіцієнт стерильності був удвічі нижчим порівняно з попередньо аналізованою рослиною. Майже ідентичними були досліджувані показники у каштану кінського з Калуша (6,20) та Бурштина (6,46).

Порівняльна оцінка коефіцієнта стерильності у досліджуваних рослин з різних територій області засвідчила високий рівень забруднення довкілля у Бурштині та Калуші, низький — у Яремчі.

Таким чином, для розробки та здійснення заходів із запобігання негативним генетичним наслідкам забруднення довкілля для майбутніх поколінь необхідна об'єктивна інформація не лише про стан генофонду населення, але й про гонадотоксичність мутагенного забруднення довкілля [7].

Висновки

1. Встановлено порушення функціонування репродуктивної системи деревних *(Malus silvestris*, *Aesculus hippocastanum)* і трав'яних рослин *(Chelidonium majus*, *Capsella bursa-pastoris)* під впливом техногенних навантажень у різних районах Івано-Франківської області.

2. Доведено зниження фертильності пилкових зерен рослин з хімічно забруднених міст Калуша та Бурштина, зони посиленого радіологічного контролю (с. Стецева Снятинського району). Близькими до контрольних можна вважати гонадотоксичні ефекти факторів довкілля у Косові та Яремчі.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку полягають у вивченні цито- і генотоксичних ефектів води, ґрунтів різних регіонів Прикарпаття за допомогою анателофазного аналізу клітин апікальної меристеми корінців *Allium cepa*.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Комплексна* рослинна тест-система визначення мутагенів у довкіллі та ризику для здоров'я населення / Л. Є. Ковальчук, В. М. Случик, Н. О. Орел [та ін.] // Enviroment and Health. – 2003. – № 2 (25). – С. 74.

2. *Ma T. H.* Genotoxic agents detected by plant bioassays / T. H. Ma, G. L. Cabrera, E. Wmens // Rev. Environ. Health. – 2005. – Vol. 20. – P. 1–13.

3. *Вишенська І. Г.* Біоіндикація територій методом аналізу стерильності пилку / І. Г. Вишенська, О. В. Сом // Наукові записки. Біологія та екологія. – 2001. – Т. 19. – С. 74–76.

4. *Орел Н. О.* Клонування конструкцій генів SIR2, RPD3 та отримання трансгенних ліній *Arabidopsis thaliana* для тестування хімічних мутагенів / Н. О. Орел, Л. Є. Ковальчук // Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2003. – № 34. – С. 128–134.

5. *Ilnytskyy Y.* Luciferase-based transgenic recombination assay is more sensitive than beta-glucoronidase-based / Y. Ilnytskyy, A. Boyko, I. Kovalchuk // Mutat. Res. – 2004. – Vol. 559. – P. 189–197.

6. *Kovalchuk O.* Novel Plant bioassays for monitoring of the genotoxicity of drinking water from the inhabited areas of Ukraine affected by the Chernobyl accidend / O. Kovalchuk, P. Telyuk, L. Kovalchuk // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. – 2003. – Vol. 70, N 5. – P. 847–853.

7. *Вивчення* наслідків техногенного навантаження на фертильність пилку деревних / Т. М. Пересипкіна, Т. В. Веселова, О. В. Самарська, О. В. Ушата // Сучасні проблеми біології, екології та хімії : матеріали міжнар. конф. Запоріжжя, 29 березня – 01 квітня 2007 р. – Запоріжжя, 2007. – С. 481–482.

8. *Паушева З. П.* Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева. – М. : Агропромиздат, 1988. – 211 с.

УДК 504.054+581.35
Л. С. Швець

БІОІНДИКАЦІЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ЗАБРУДНЕННЯ ДОВКІЛЛЯ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ФЕРТИЛЬНОСТІ ПИЛКОВИХ ЗЕРЕН РІЗНИХ РОСЛИН

Досліджено гонадотоксичні ефекти факторів довкілля різних районів Івано-Франківської області за показниками фертильності пилкових зерен чотирьох видів рослин. Встановлено зниження фертильності пилкових зерен рослин з хімічно забруднених міст Калуша та Бурштина і зони посиленого радіологічного контролю (села Стецева Снятинського району) порівняно з показником у рослин з відносно екологічно чистих міст Яремча та Косів. Тест на стерильність пилку може використовуватись як один з біоіндифікаційних показників забруднення довкілля.

Ключові слова: репродуктивна система рослин, стерильність пилку, техногенне навантаження довкілля.

UDC 504.054+581.35
L. S. Shvets

BIOINDICATION OF THE ENVIROMENTAL POLLUTION INTENSITY ACCORDING TO FORTILITY INDICES OF DIFFERENT POLLER PLANTS SEEDS

Gonadotoxic effects of the environmental factors in different districts of Ivano-Frankivsk region according to fertility indices of pollen plants of four kinds have been investigated. The reduction of the pollen plants seeds fertility from such chemically polluted towns as Kalush and Bershtyn and the region of a doubled radiologic control (Stetseva village, Snyatyn district) in comparison with the same plants from the eco-friendly towns of Yaremcha and Kosiv has been noticed. The pollen sterility test may be used as one of the bioindicative indices of the environmental pollution.

Key words: reproductive system of plants, pollen sterility, technological inloading of environment.

Передплачуйте і читайте журнал

ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ

У випусках журналу:

- Фундаментальні проблеми медицини та біології
- Нові медико-біологічні технології
- Оригінальні дослідження
- Огляди
- Інформація, хроніка, ювілеї

Передплата приймається у будь-якому передплатному пункті

Передплатний індекс 08205