

## **РОЗДІД 4. ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИННИХ УГРУПОВАНЬ ЗАХІДНОГО ПОДІЛЛЯ**

### **4.1. Вивчення дії іонізуючого випромінювання на сільськогосподарські культури**

Проблема відповіді біологічних об'єктів на дію іонізуючого опромінення у малих дозах вивчається доволі давно. На сучасному етапі розвитку суспільства, при створенні новітніх технологій людина створює реальні небезпечні ситуації, які приводять до підвищення радіаційного фону оточуючого середовища. Природний радіаційний фон продовжує збільшуватись шляхом створення штучних джерел іонізуючого опромінення, подальшим розвитком атомної енергетики. Особливо під час атомних вибухів та радіаційних аваріях, у навколишнє середовище потрапляють природні та штучні радіоактивні речовини [14]. При радіоактивному забрудненні територій у першу чергу уражується сфера сільськогосподарської діяльності і саме продукція рослинництва, а разом з нею – кормовиробництва і, відповідно, тваринництва, стають основним джерелом формування дози опромінення населення у дальні після аварій періоди [2, 4, 22].

За рахунок споживання забруднених радіонуклідами продуктів харчування населення отримує додаткову дозу опромінення. У зв'язку з цим активно вивчаються наслідки впливу радіації, удосконалюються шляхи запобігання негативного впливу радіації на живі організми, а також здійснюється пошук механізмів захисту генетичного матеріалу всіх живих істот [8, 11, 13, 35].

Основним джерелом природніх змін організму є спонтанний мутагенез, частота якого незначна, а зміни часто залишаються непоміченими. Експериментальний мутагенез в сотні разів збільшує частоту мутацій, завдяки чому можна отримати широкий спектр різноманітних змін. З одного боку, мутації можуть привести до порушення нормального розвитку організму і спричинити появу різноманітних змін, вад, каліцтв, дефектів тощо. З іншого боку, мутації можуть розглядатися як рушійна сила еволюції, коли більш-менш

сприятливі мутації можуть накопичуватися і з часом стати постійними [6, 10, 29,]. Індуковані мутації збільшують потенціал генетичного різноманіття, та застосувати одержаних мутантів в якості вихідного матеріалу селекційного процесу [4, 31, 34].

**Мета дослідження** полягала у вивченні впливу різних доз іонізуючого опромінення на продуктивні якості окремих сільськогосподарських культур.

Дослідження проведені на території агробіологічної лабораторії Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Для дослідження відбирали по 200 насінин відповідних сільськогосподарських культур (кукурудза кремениста, горох посівний сорту Цетрис, пшениця м'яка яра сорту Печерянка). Відібране насіння замочувалося протягом 72 годин [16]. Вологе насіння розділяли на піддослідні групи, які відповідно до обраної культури та запланованих завдань, опромінювали різними дозами (1 – 20 Гр). Опромінення здійснювали на системі рентгенодіагностики HF – 51 у тубдиспансері м. Тернополя. Насіння контрольної групи опроміненню не підлягало.

В процесі дослідження проводили кількісний аналіз врожаю досліджених культур за такими характеристиками: довжина початку кукурудзи, довжина колосу пшениці та загальна кількість зерен у колосі, кількість бобів на рослині та кількість визрілих насінин гороху у бобі.

Середню довжину початку вимірювали лінійкою з точністю до 1 см. Довжина колоса у пшениці вимірювалась від основи нижнього колоска до основи верхнього колоска. Кількість зерен у колосі визначали після обмолоту шляхом підрахунку їх у розвинутій частині колоса. Середня кількість бобів на досліджуваних рослинах обчислюють шляхом підрахунку загальної кількості бобів на усіх рослинах поділивши на кількість рослин. Середню кількість насінин в бобі обчислюють шляхом ділення загальної кількості насінин з усієї рослини на кількість бобів. Визначення маси 1000 насінин здійснювали підрахунком двох проб по 500 насінин [15].

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням пакету аналізу даних *MS Excel*.

Результати наукових досліджень показали, що при вивченні дії піддослідних доз іонізуючого опромінення на довжину качана у кукурудзи кременистої спостерігалась тенденцію до її зменшення (табл. 4.1.1). Так, у Досліді 1 вона менша на 1,9 см (16,0%), в Досліді 2 на 1,75 см (14,4%), Досліді 3 на 4,05 см (33,3%), Дослід 4 на 7,9 см (65,0%).

Таблиця 4.1.1 – Середня довжина качана кукурудзи кременистої

| Показник      | Контроль       | Дослід 1<br>(5 Гр) | Дослід 2<br>(10 Гр) | Дослід 3<br>(15 Гр) | Дослід 4<br>(20 Гр) |
|---------------|----------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| $M \pm m_M$   | 12,1 $\pm$ 0,3 | 10,2 $\pm$ 0,2     | 10,7 $\pm$ 0,2      | 8,1 $\pm$ 0,4       | 4,2 $\pm$ 0,3       |
| $t_d$         | –              | 5,1                | 3,4                 | 8,1                 | 18,3                |
| P             | –              | >0,999             | >0,99               | >0,999              | >0,999              |
| % до контролю | –              | 16,04%             | 14,4%               | 33,3%               | 65,02%              |

Що свідчить про потужний вплив радіації дозою 15 та 20 Гр. Даний показник у всіх дослідних групах має високий рівень вірогідності прояву ознаки і підтвердження значенням критерію Стюдента.

Проводячи вимірювання довжини колоса у піддослідних рослин пшениці м'якої ярої, можна стверджувати, що дія іонізуючого викликала в основному позитивні зміни (табл.2).

Таблиця 4.1.2. – Середня довжина колосу пшениці

| Показник      | Контроль        | Д- 1<br>(5 Гр)   | Д- 2<br>(10 Гр) | Д- 3<br>(15 Гр)  |
|---------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| $M \pm m_M$   | 71,80 $\pm$ 0,9 | 74,53 $\pm$ 0,96 | 73,0 $\pm$ 1,73 | 66,93 $\pm$ 3,26 |
| $t_d$         | –               | 2,08             | 0,75            | 1,44             |
| P             | –               | > 0,95           | < 0,95          | < 0,95           |
| % до контролю | –               | +3,8             | +1,7            | -6,7             |

Так, опромінення насіння дозою 5Гр викликало збільшення довжини на 3,8% ( $P > 0,95$ ), доза 10Гр викликала приріст на 1,7% ( $P < 0,95$ ). Єдиний негативний вплив на даний показник було виявлено при дії опромінення дозою 15Гр, що викликала зміну довжини колоса на 4,8 мм і відповідало зменшенню

показника на 6,7%. Значення критерія Стьдента (1,44) не підтверджує достовірність ( $P < 0,95$ ) данного показника.

На кожному колосі досліджуваних рослин пшениці підраховували кількість колосків та зерен у колоску. Результати загальної кількості зерен у колосі подані у таблиці 4.1.3.

Таблиця 4.1.3. – Показники загальної кількості зерен у колосі пшениці

| Показник      | Контроль        | Д- 1<br>(5 Гр)   | Д- 2<br>(10 Гр) | Д- 3<br>(15 Гр) |
|---------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|
| $M \pm m_M$   | $35,2 \pm 7,44$ | $42,6 \pm 13,16$ | $37,6 \pm 8,08$ | $35,8 \pm 8,09$ |
| $t_d$         | –               | 0,49             | 0,67            | 0,05            |
| P             | –               | < 0,95           | < 0,95          | < 0,95          |
| % до контролю | –               | +21,0            | +6,8            | +1,7            |

Із отриманих результатів можна констатувати, що у рослин всіх дослідних групах під радіації спостерігалось збільшення кількості зерен у колосі. У рослин контрольної групи у середньому було 35,2 зернини у колосі. Іонізуюче опромінення дозою 5Гр збільшило кількість зерна на 21% і склало 42,6 шт. у групі Д-1. Збільшення дози опромінення до 10Гр виявило збільшення кількості зерна на 6,8% (37,6 зернин по групі Д-2). Доза 15Гр привела до незначного збільшення лише на 1,7%, при середній кількості зерна по групі Д-3 35,8 штук.

При вивченні врожайної характеристики гороху посівного сухі боби зривали з дослідних рослин і підраховувались. Результати подано у таблиці 4.1.4/

Таблиця 4.1.4. – Середня кількість бобів на рослині

| Показники     | Групи            |                |                 |                  |                 |                  |
|---------------|------------------|----------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
|               | К                | ДГ-1<br>(1 Гр) | ДГ-2<br>(3 Гр)  | ДГ-3<br>(5 Гр)   | ДГ-4<br>(7 Гр)  | ДГ-5<br>(10 Гр)  |
| $M \pm m_M$   | $13,95 \pm 0,99$ | $14 \pm 0,55$  | $17,4 \pm 0,97$ | $17,35 \pm 1,11$ | $17,4 \pm 1,06$ | $13,55 \pm 0,93$ |
| $t_d$         | –                | 0,04           | 2,5             | 2,29             | 2,46            | 0,28             |
| P             | –                | <0,95          | >0,95           | >0,95            | >0,95           | <0,95            |
| % до контролю | –                | +0,35          | +24,7           | +24,3            | +24,7           | -2,86            |

Аналіз одержаних даних свідчить про те, що опромінення ДГ-1 в дозі 1Гр не викликає зміни середньої кількості бобів на рослині. Критерії достовірності для даної групи ( $P < 0,95$ ) не підтверджує вірогідність прояву ознаки. Середня кількість бобів на рослинах з ДГ-2 становила 17,4 шт., ДГ-3 – 17,35 шт., ДГ-4 – 17,4 шт., що у відсотковому співвідношенні до контрольної групи перевищує на 24,7%, 24,3%, 24,7% відповідно. Значення критерію Стюдента підтверджує вірогідність впливу іонізуючого опромінення у дозах 3 Гр, 5 Гр, 7 Гр на ДГ-2, ДГ-3 та ДГ-4 ( $P > 0,95$ ). Методом підрахунку було виявлено, що найбільша кількість бобів з однієї рослини спостерігалась у ДГ-2, ДГ-3 і складала 32 боби, проти контрольної групи (22). За критерієм достовірності для ДГ-5 вірогідність прояву не підтверджується.

Підсумовуючи одержані результати наукових досліджень можна констатувати, що індуковані фізичні мутагени, впливаючи на живий організм, можуть викликати як пригнічення розвитку і негативний прояв біологічних ознак, так і стимулювати фізіолого-біохімічні процеси, що забезпечують покращення основних продуктивних характеристик. Окремі мутантні нащадки можуть залучатися у подальші експериментальні дослідження для генетичного закріплення змінної ознаки.

#### **4.2. Вивчення генотоксичної дії хімічних мутагенів ароматизованих заправок електронних сигарет**

В реальних умовах живі організми зазнають комплексного впливу чинників оточуючого середовища фізичної та хімічної природи, які можуть призводити до нових неочікуваних біологічних ефектів.

Одним із визначальних факторів, що впливають на здоров'я людини, є фактор харчування, оскільки серед компонентів їжі представлені не тільки пластичні й енергетичні матеріали, але й компоненти антропогенного походження, зокрема харчові добавки. Більшість харчових ароматизаторів є чужорідними для організму, шляхи їх метаболізму здебільшого невідомі, а отже, не виключено, що вони можуть бути небезпечними для нормального функціонування організму, в тому числі й чинити додаткове мутагенне

навантаження [1, 12, 35]. Натуральні ароматизатори безпечні для здоров'я людини. Однак в останні роки застосування цих ароматизаторів практично не можливо, у зв'язку з їх високою вартістю та недостатньою стійкістю компонентів. На заміну натуральним ароматизаторам харчова промисловість широко використовує ідентичні до натуральних та штучні ароматизатори, які за своєю будовою є синтетичними речовинами отримані шляхом хімічного синтезу [25]. Актуальним постає питання вивчити можливість використання синтетичних ароматизаторів у дозах безпечних для фізіологічного стану організму.

Всім добре відомо, що куріння є шкідливим для людського здоров'я, а наслідки такої звички можуть бути незворотними та навіть смертельними. Ось чому на початку нового тисячоліття набула популярності електронна сигарета, яка повільно, але впевнено стає заміником класичної [27]. Принцип дії е-сигарети дозволяє курцеві вдихати випаровувану рідину синтетичної заправки. Тобто людина замість диму вдихає пар, який нібито є більш безпечним та немає канцерогенних речовин, яких багато в тютюновому димі [20]. Таким чином саме від контейнеру з рідиною залежить аромат заправки і так звана «міцність» сигарети. Хоч е-сигарети набувають все більшої популярності, досліджень та вичерпних статистичних даних щодо впливу синтетичних ароматизованих заправок електронних сигарет налічується зовсім незначна кількість. А нові дослідження демонструють можливість виникнення у курців мутацій в структурі ДНК, що в свою чергу може спровокувати утворення ракових клітин [5, 17, 20, 24]. Ось чому актуальним постає питання вивчення генотоксичного впливу дії синтетичних ароматизованих заправок електронних сигарет на живі організми, які з кожним днем набувають все більшої популярності у молоді.

**Мета дослідження** полягала у виявленні наслідків генотоксичного впливу синтетичних ароматизованих заправок «Tabacco» та «Strawberry» у меристемних клітинах *Allium cepa* L.

*A. сера* в якості тест об'єкта широко застосовується для оцінки генетичного потенціалу хімічних сполук, природних і стічних вод [19, 23]. Для вивчення генотоксичного впливу ароматичних рідин електронних сигарет нами були використані синтетичні заправки фірми «Vape Line», яка широко представлена у більшості спеціалізованих точок продажу, торгових лавках та інтернет магазинах нашої країни. Бренд має широкий асортимент рідин для випаровування різноманітних ароматів та нікотинового вмісту. Для дослідження нами були обрані аромати «Табассо» та «Strawberry», які є досить популярними серед покупців та відрізняються за вмістом нікотину. До складу обраних нами синтетичних заправок входять: пропіленгліколь, рослинний гліцерин, дистильована вода, відповідні ароматизатори, нікотин (крім нульової міцності) [1, 27]. Ці рідини підходять для усіх типів електронних сигарет. Їх бленд становить 40VG/60PG.

Для вивчення генотоксичної дії синтетичних заправок електронних сигарет виготовлялись піддослідні розчини шляхом розведення ароматизованих заправок у наступних співвідношеннях: 1 мл ароматизатора на 100 мл дистильованої води (*TP1* і *SP1*), 1 мл ароматизатора на 50 мл дистильованої води (*TP2* і *SP2*), 1 мл ароматизатора на 25 мл дистильованої води (*TP3* і *SP3*). У мірний стаканчик з відповідним об'ємом дистильованої води додавали по 1 мл досліджуваної рідини. Скляною паличкою ретельно перемішували одержані розчини. Готові розчини зберігалися у скляних бюксах у холодильнику.

Насіння цибулі пророщували у чашках Петрі на фільтрувальному папері з 3 мл досліджуваного розчину. Проросле насіння (довжина корінців 5-9 мм) фіксували свіжим фіксатором (метанол-остова кислота у співвідношенні 1:3) на протязі 2 діб. Промивали у 96% спирті і зберігали у 70% спиртовому розчині в холодильнику. Фарбували корінці ацетоорсеїном і виготовляли тимчасові препарати [16].

Показник мітотичного індексу у клітинах *Allium cepa* L. проводили в декількох полях зору і визначали за загально прийнятою методикою [16].

Для визначення цитотоксичної дії піддослідних синтетичних ароматичних заправок «Табаско» та «Strawberry» обчислювали мітотичний індекс, які подані у таблицях 4.2.1 і 4.2.2.

Таблиця 4.2.1. – Облік МІ у меристемних клітинах А. сера під впливом синтетичної ароматизованої заправки «Тобаско»

| Показник                  | Контроль      | 1:100<br>(TP1) | 1:50<br>(TP2) | 1:25<br>(TP3) |
|---------------------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
| Загальна кількість клітин | 3261          | 3010           | 2368          | 2581          |
| ПК                        | 77,6 ± 10,8   | 118,0 ± 32,99  | 167,6 ± 22,16 | 185,0 ± 19,40 |
| МК                        | 46,0 ± 8,29   | 81,2 ± 7,00    | 67,2 ± 10,45  | 80,8 ± 10,66  |
| АК                        | 223,2 ± 20,04 | 163,8 ± 22,11  | 120,4 ± 17,91 | 122,8 ± 7,45  |
| ТК                        | 26,8 ± 6,98   | 25,8 ± 2,28    | 60,8 ± 7,08   | 28,2 ± 1,52   |
| МІ, ‰                     | 114,57 ± 5,58 | 162,39 ± 6,72  | 175,68 ± 7,82 | 161,49 ± 7,24 |
| % до контролю             |               | + 41,74        | + 53,34       | + 40,95       |
| t                         | -             | 5,47           | 6,36          | 5,13          |
| P                         | -             | > 0,95         | > 0,99        | > 0,95        |

Вивчення мітотичної активності в меристемних клітинах цибулі городньої показало, що із загальної кількості клітин проаналізованих у контрольній групі на стадії профазі було виявлено 78 клітин, на стадії метафазі 46, на стадії анафазі 223 клітини та на стадії телофазі 27 клітин. Величина МІ контрольної групи становила 114,57‰.

Одержані результати свідчать, що у TP1 кількість профазних клітин була 118, метафазних 81 клітин, анафазних 164 клітин і телофазних 26 клітин. Величина МІ становила 162,39‰, що перевищував контроль на 41,74% (P > 0,95). За використання TP2 кількість клітин у профазі становила 168 шт., у метафазі 67 шт., у анафазі 120 шт. та у телофазі 61 шт.

МІ дорівнював 175,68‰ і був на 53,34% (P > 0,99) вищим за контрольну групу. Під час аналізу TP3 на стадії профазі було виявлено 185,0 клітин, на стадії метафазі 81, на стадії анафазі 123 клітини та на стадії телофазі 28 клітин. Показник МІ збільшився на 40,95% (P > 0,95) та складав 161,49‰.



Таблиця 4.2.2 – Облік МІ у меристемних клітинах *A. сера* під впливом синтетичної ароматизованої заправки «Strawberry»

| Показник                  | Контроль      | 1:100<br>(SP1) | 1:50<br>(SP2) | 1:25<br>(SP3) |
|---------------------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
| Загальна кількість клітин | 3261          | 2778           | 3208          | 2466          |
| ПК                        | 77,6 ± 10,8   | 63,4 ± 7,21    | 107,0 ± 21,12 | 63,4 ± 11,89  |
| МК                        | 46,0 ± 8,29   | 48,8 ± 3,25    | 68,6 ± 19,52  | 59,0 ± 8,97   |
| АК                        | 223,2 ± 20,04 | 178,2 ± 16,85  | 131,2 ± 15,27 | 106,2 ± 8,26  |
| ТК                        | 26,8 ± 6,98   | 26,0 ± 2,48    | 56,0 ± 6,71   | 23,4 ± 3,40   |
| МІ, ‰                     | 114,57 ± 5,58 | 113,89 ± 6,03  | 113,09 ± 5,59 | 102,19 ± 6,10 |
| % до контролю             |               | - 0,59         | - 1,25        | - 10,81       |
| t                         | -             | 0,09           | 0,19          | 1,50          |
| P                         | -             | < 0,95         | < 0,95        | < 0,95        |

Відповідно до отриманих даних можна стверджувати, що при використанні SP1 кількість профаз складала 63 клітин, метафаз 49 клітин, анафаз 178 клітин та телофаз 26 клітин. МІ складав 113,89‰, що менше від контролю на 0,59% ( $P < 0,95$ ). Застосовуючи SP2 одержали 107,69,131 та 56 клітин на стадіях профаз, анафаз, метафаз та телофаз відповідно. Показник МІ був на 1,25% ( $P < 0,95$ ) менший за контроль та становив 113,09‰. Досліджуючи SP3 було виявлено профазних клітин 63, метафазних клітин 59, анафазних клітин 106 та телофазних 23 клітини. Також слід зазначити, що відбулось досить різке зниження МІ на 10,81% ( $P < 0,95$ ) відносно контролю, а саме 102,19‰.

Для визначення генотоксичної дії досліджуваного розчину аналізували хромосомні перебудови в клітинах, що знаходились на стадіях анафаз та телофаз. Підраховували окремо по корінцям кількість клітин з нормальними анафазами і телофазами та кількість клітин з порушеннями.

Клітини з абераціями класифікували за типами: клітини з одинарними фрагментами ( - ), з парними фрагментами (=), з одинарними мостами ( [ ), з

подвійними мостами ( [ ] ). Клітини в яких не вдалось визначити тип аберації, відносили до класу клітин з невизначеними абераціями (інші).

Визначення частоти аберацій (ЧА) проводили за відповідними методиками [16].

Під час ана-телофазного аналізу на тест-об'єкті *A. сера*. виявлено різні типи порушень у правильному розходженні хромосом до полюсів веретина поділу – відставання хромосом, утворення одинарних і парних фрагментів та мостів, що може бути викликано делеціями і транслокаціями хромосом (табл. 4.2.3 та табл. 4.2.4)

Визначаючи рівень хромосомних аберацій у контрольній групі нами було проаналізовано 225 ана-телофаз, з яких аномальними виявились 10 (2 з одинарними фрагментами, 2 з парними фрагментами та 6 інших аномалій). Відсоток аномальних ана-телофаз складав 7,55%.

Таблиця 4.2.3 – Рівень хромосомних аберацій, індукованих розчинами синтетичної ароматизованої заправки «Табассо»

| Розчин | Всього ана-телофаз | Кількість аномальних ана-телофаз |   |   |   |    |      | Відсоток аномальних ана-телофаз, % | % до контролю | t    | P      |
|--------|--------------------|----------------------------------|---|---|---|----|------|------------------------------------|---------------|------|--------|
|        |                    | Загальна кількість ана-телофаз   | - | = | [ | [] | інші |                                    |               |      |        |
| Вода   | 225                | 10                               | 2 | 2 | - | -  | 6    | 7,55 ± 1,30                        | -             | -    | -      |
| TP1    | 102                | 8                                | 3 | 2 | - | -  | 3    | 7,84 ± 1,86                        | + 3,8         | 3,05 | < 0,95 |
| TP2    | 131                | 12                               | 4 | 4 | 2 | 2  | -    | 9,16 ± 2,75                        | + 21,3        | 3,68 | < 0,95 |
| TP3    | 106                | 9                                | 4 | 2 | - | -  | 3    | 8,49 ± 2,69                        | + 12,5        | 5,01 | < 0,95 |

При дії TP1 з 102 проаналізованих ана-телофаз було виявлено 8 порушень (3 з одинарними фрагментами, 2 з парними фрагментами та 3 інших аномалій). Відсоток аномальних ана-телофаз складав 7,84% та мав незначне перевищення контролю на 3,8% (P < 0,95). За TP2 виявили 12 аномальних ана-телофаз (4 з одинарними фрагментами, 4 з парними фрагментами, 2 з одинарними мостами та 2 з подвійними мостами) з 131 проаналізованої. Відсоток аномальних ана-телофаз виявився 9,16%, тобто зріс на 21,3% (P < 0,95) відносно контролю.

Досліджуючи ТРЗ з 106 проаналізованих ана-телофаз 9 виявились з абераціями (4 з одинарними фрагментами, 2 з парними фрагментами та 3 інших аномалій). Також спостерігалось підвищення відсотку ана-телофаз, які містили порушення, та становив 8,49%, що на 12,5% ( $P < 0,95$ ) вище контролю.

Таблиця 4.2.4 – Рівень хромосомних аберацій, індукованих розчинами синтетичної ароматизованої заправки «Strawberry»

| Розчин | Всього ана-телофаз | Кількість аномальних ана-телофаз |   |   |   |   |      | Відсоток аномальних ана-телофаз, % | % до контролю | t    | P        |
|--------|--------------------|----------------------------------|---|---|---|---|------|------------------------------------|---------------|------|----------|
|        |                    | Загальна кількість ана-телофаз   | - | = | [ | ] | інші |                                    |               |      |          |
| Вода   | 225                | 10                               | 2 | 2 | - | - | 6    | $7,55 \pm 1,30$                    | -             | -    | -        |
| SP1    | 163                | 8                                | 4 | - | 1 | - | 3    | $4,91 \pm 1,28$                    | - 35,0        | 2,78 | $< 0,95$ |
| SP2    | 120                | 16                               | 4 | 3 | 1 | 5 | 3    | $13,33 \pm 2,66$                   | + 76,6        | 3,66 | $< 0,95$ |
| SP3    | 120                | 20                               | 8 | 1 | 2 | 6 | 3    | $16,67 \pm 3,05$                   | + 120,8       | 3,34 | $< 0,95$ |

Під впливом SP1 проаналізовано 163 ана-телофази та виявлено 8 порушень (4 з одинарним фрагментом, 1 з одинарним мостом та 3 не визначені аберації). Відсоток аномальних ана-телофаз складав 4,91% та був нижчим за контроль на 35,0% ( $P < 0,95$ ). За дії SP2 з 120 ана-телофаз 16 були з аномаліями (4 з одинарними фрагментами, 3 з парними фрагментами, 1 з одинарним мостом, 5 з подвійними мостами та 3 інших порушення). Відсоток аномальних ана-телофаз складав 13,33% і на 77,6% ( $P < 0,95$ ) перевищував контроль. Аналіз впливу SP3 показав, що з 120 ана-телофаз виявлено 20 фаз з абераціями (8 з одинарними фрагментами, 1 з парним фрагментом, 2 з одинарними мостами, 6 з подвійними мостами та 3 інших аномалій). Відсоток аномальних ана-телофаз складав 16,67%, що вище за показник контролю на 120,8% ( $P < 0,95$ ).

Підсумовуючи одержані результати варто зазначити, що синтетична проматична заправка «Табассо» у досліджуваних розчинах незначно провокує підвищення кількості хромосомних аберацій меристемних клітин цибулі городньої. Найчастіше спостерігається виникнення одинарних фрагментів та незначна кількість подвійних мостів. Аналізуюючи результати отримані під час застосування ароматизатора «Strawberry» при SP1 відбулось зменшення

кількості хромосомних порушень. Натомість SP2 та SP3 сприяли збільшенню хромосомних перебудов у вигляді поодиноких фрагментів, подвійних фрагментів та подвійних мостів. Таким чином, можна зробити висновок, що застосування синтетичних ароматичних заправок спричиняють підвищення генотоксичного впливу на живі організми до 120%.

#### **4.3. Вивчення внутрішньовидового поліморфізму в популяціях конюшини повзучої (*Trifolium repens* L.)**

Генетична структура популяції визначається мінливістю і різноманітністю генотипів, частотами варіацій окремих генів - алелей, а також поділом популяції на групи генетично близьких особин. Популяцію складають особини одного виду, які мають однаковий набір генів (генетична однорідність), але будь-який ген може бути представлений різними алелями, кількість яких буває значною (генетична різноманітність). Проявом генетичної гетерогенності і однією з важливих особливостей генетичної структури природних популяцій є внутрішньопопуляційний поліморфізм, тобто тривале співіснування в популяції двох або більше генетично різних форм [16, 32]. Механізм підтримки поліморфізму обумавлений адаптивним ефектом наддомінування, коли різні алелі зберігаються у популяції завдяки балансуєчому добору який надає перевагу гетерозиготним особинам [30].

Одним із прикладів спадкового поліморфізму моногенного успадкування є наявність-відсутність «сивого» малюнка на листочках конюшини повзучої.

Конюшина біла, або повзуча (*Trifolium repens* L.) - багаторічна трав'яниста рослина, що належить до родини бобові. Даний вид поширений на луках і полях, а також зустрічається у водойм і вздовж доріг, на пасовищах, поруч з житловими будівлями. Вважається бур'яном, так як засмічує посіви культурних рослин. Конюшина добре розвивається на різних ґрунтах, не вимоглива до їх складу. Є світлолюбною, вологолюбною і морозостійкою рослиною [28].

Зображення «сивого» малюнка (плями) у *T. repens* на листовій пластинці може відрізнитися розташуванням, інтенсивністю прояву, розміром. Доведено, що наявність сивої плями на листку та її різноманітність – ознака домінантна і

визначається серією множинних алелей гена *V*. Члени серії знаходяться в різних відносинах один з одним по мірі домінування. Алель *v* (відсутність плями) рецесивна по відношенню до всіх інших алелей: *V*, *V<sup>H</sup>*, *V<sup>B</sup>*, *V<sup>Bh</sup>*, *V<sup>P</sup>*, *V<sup>F</sup>* і *V<sup>S</sup>*. Всі без виключення алелі гена *V* порушують нормальний розвиток хлорофілу в палісадних клітинах світлої зони листка, призводять до скорочення в них кількості хлоропластів аж до їх повної відсутності, сприяють скорочення обсягів палісадних клітин і збільшення простору між ними, більш ранньої загибелі клітин [16]. Спадковий характер такого порушення для конюшини був доведений на молекулярно-генетичному рівні із застосуванням методів полімеразно-ланцюгової реакції [33].

Зміни, які відбуваються у навколишньому природному середовищі найбільш гостро відображаються на біотичних компонентах, в першу чергу на рослинному світі [7, 9]. Типова для середовища існування, пов'язаних з діяльністю людини, *T. repens*. використовується в якості біоіндикатора забруднення повітря і ґрунтів, що дозволяє оцінити ступінь антропогенного навантаження. Доведено, що в більш сприятливих умовах середовища відзначається переважання генотипів *vv* і *VV*, а в місцях, які зазнали значного антропогенного навантаження, спостерігається велика різноманітність [3, 18, 26].

**Мета дослідження** полягала у вивченні внутрішньовидового поліморфізму в популяціях конюшини повзучої (*Trifolium repens* L.), що росте в різних умовах навколишнього середовища м. Тернопіль та м. Ланівці.

На території міста Тернополя зразки рослин конюшини білої збиралися в популяціях, які зростають у житловому масиві мікрорайону Канада м. Тернопіль, у зоні пляжу «Циганка» та на узбіччі вздовж автодороги поблизу Тернопільського озера.

На території міста Ланівці Лановецького району Тернопільської області зразки рослин конюшини білої збиралися в популяціях, які зростають на пасовищі, у центральній частині міста та на ділянці поблизу автодороги Ланівці - Тернопіль.

Листочки конюшини збирались у період масового цвітіння (липень-серпень). Всього було опрацьовано 2400 екземплярів рослинного матеріалу. Для ідентифікації малюнків «сивої» плями використовували методику П. Я. Шварцмана, для встановлення генотипу порівнювали малюнки плям на зібраних листках із малюнками, зображеними у табл. Дж. Л. Брюбейкера [16]. Найважливішим показником біорізноманітності є фенотипічна різноманітність популяцій, яка вивчалась за допомогою показників запропонованих Л.А. Животовським [16].

Зростання антропогенного навантаження призводить до негативних змін генетичної структури популяції. Під дією антропогенних факторів частота зустрічі специфічних фенотипів збільшується, що призводить до зростання індексу співвідношення фенів (ІСФ). На чистих територіях величина ІСФ не перевищує 45%, а на забруднених може сягати 70-80% [7].

В ході збору матеріалу на досліджених територіях з різним рівнем антропогенного навантаження було виявлено наступні фенотипічні класи: пляма відсутня – О, повна пляма – А, повна висока пляма – А<sup>Н</sup>, пляма з розривом – В, висока пляма з розривом – В<sup>Н</sup>, пляма в центрі – С, суцільно забарвлена велика трикутна пляма в основі – D, суцільно забарвлена невелика трикутна пляма в основі – Е. Встановленим фенотипічним класам відповідають генотипи: пляма відсутня –  $vv$ , повна пляма –  $VV$ , повна висока пляма –  $V^H V^H$ , пляма з розривом –  $V^B V^B$ , висока пляма з розривом –  $V^{Bh} V^{Bh}$ , пляма в центрі –  $V^P V^P$ , суцільно забарвлена велика трикутна пляма в основі –  $V^F V^F$ , суцільно забарвлена невелика трикутна пляма в основі –  $V^S V^S$ . Також були виявлені гетерозиготи:  $Vv$ ,  $V^P V^{Bh}$ ,  $V^P V^H$ ,  $V^H V^B$ .

Вивчення внутрішньовидового поліморфізму у популяціях конюшини повзучої м. Ланівці та його околицях показало, що на пасовищній ділянці було виявлено 4 фенотипа, серед яких переважали рецесивні гомозиготні ( $vv$ ) - рослини без «сивої» плями з високою частотою зустрічі (51-57%). Рослини з генотипом  $VV$  коливались в межах 17-35%,  $V^H V^H$  – 9-21%. Дана популяція характеризується однорідним генетичним складом. На ділянці центральної

частини м. Ланівці виявлено 9 генотипів, серед яких спостерігалось значне зменшення рецесивних гомозигот – 2-22%. Найбільш представленими є генотипи  $VV$  – 31-47%,  $V^H V^H$  – 17-49%. На долю інших генотипів ( $V^B V^B$ ;  $V^P V^P$ ,  $V^S V^S$ ,  $V^P V^{Bh}$ ,  $V^P V^H$ ,  $Vv$ ) припадало 1-16%. Одержані результати вказують на підвищення ступеня генетичного різноманіття. Ділянка поблизу автодороги Тернопіль – Ланівці продемонструвала наявність 6 генотипів, з яких рецесивних гомозигот було – 35-43%. Інші генотипи зустрічалися з наступною частотою:  $VV$  – 28-34%;  $V^H V^H$  – 16-21%;  $V^P V^P$  – 3-10%;  $V^F V^F$  – 1%;  $V^S V^S$  – 1-2%. Збільшення внутрішньопопуляційного різноманіття досягається за рахунок збільшення рівня забруднення навколишнього середовища.

Житловий масив мікрорайону Канада м. Тернопіль нараховує 6 генотипів і характеризується високою частотою рослин з генотипом  $vv$  – 29-50% та  $VV$  – 15-60%. На долю  $V^H V^H$  припадало 10-22%, на  $V^B V^B$  – 5-8%, на  $V^{Bh} V^{Bh}$  – 3-5%, на  $V^H V^B$  – 1%. У популяції конюшини повзучої, що росли на ділянці зони пляжу «Циганка» виявлено 6 генотипів, серед яких 44-51% припадав на рецесивні гомозиготи. Генотипи  $VV$ ,  $V^H V^H$  зустрічалися з частотою 19-24%, 22-32% відповідно. Решта генотипів коливалися в межах  $V^B V^B$  – 3-6%;  $V^{Bh} V^{Bh}$  – 1-5%;  $V^P V^P$  – 2%. Ділянка узбіччя вздовж автодороги поблизу Тернопільського озера нараховувала 7 фенотипів, яким відповідає 6 гомозиготних фенотипів, частка яких коливається у межах:  $vv$  – 22-27%,  $VV$  – 34-42%;  $V^H V^H$  – 20-35%;  $V^P V^P$  – 4-9%;  $V^F V^F$  – 2%;  $V^S V^S$  – 1-4%, і одна гетерозиготна рослина з частотою генотипу  $V^H V^B$  – 2%.

У таблиці 4.3.1 представлені дані, що характеризують фенотипічну різноманітність популяцій конюшини повзучої м. Ланівці та м. Тернопіль.

Дослідженням з'ясовано, що показник внутрішньопопуляційної різноманітності на дослідних ділянках м. Ланівці був найвищим у центральній частині міста і становив – 5,87, а частка рідкісних – 0,16. На ділянці пасовища і поблизу автодороги Тернопіль – Ланівці він складав 3,38 і 4,57, а частка рідкісних фенів – 0,15 та 0,24 відповідно. На досліджених територіях м. Тернопіль показник внутрішньопопуляційної різноманітності становив: у

житловому масиві мікрорайону Канада 2,96, у зоні пляжу «Циганка» – 3,56, ділянці узбіччя вздовж автодороги поблизу озера – 4,43, а частка рідкісних фенів коливалася в межах 0,11-0,26.

Таблиця 4.3.1 – Характеристика різноманітності фенотипів *Trifolium repens* L. на досліджуваних ділянках м. Ланівці та м. Тернопіль

| Територія популяції                              | Показник внутрішньо-популяційної різноманітності, $\mu$ | Частка рідкісних фенотипів, h | Найбільше число фенотипів у популяції, m |
|--|---|-------------------------------|--|
| м. Ланівці                                       |   |                               |  |
| Пасовище   | $3,38 \pm 0,14$   | $0,15 \pm 0,036$              | 4  |
| Ділянка поблизу автодороги Ланівці - Тернопіль   | $4,57 \pm 0,25$   | $0,24 \pm 0,042$              | 6  |
| Центральна частина м. Ланівці                    | $5,87 \pm 0,25$   | $0,16 \pm 0,036$              | 7  |
| м. Тернопіль                                     |   |                               |  |
| Житловий масив мікрорайону Канада                | $2,96 \pm 0,17$   | $0,25 \pm 0,043$              | 4  |
| Зона пляжу «Циганка»                             | $3,56 \pm 0,12$   | $0,11 \pm 0,031$              | 4  |
| Узбіччя автодороги поблизу Тернопільського озера | $4,43 \pm 0,26$   | $0,26 \pm 0,043$              | 6  |

Проводячи узагальнюючий характер досліджуваних територій необхідно зазначити, що найменшою стійкою морфогенетичною структурою (4 фенотипу) володіють популяції: пасовища, житлового масиву мікрорайону Канада, зона пляжу «Циганка» (рис. 4.3.1), де найбільший відсоток займали рослини, на листочках яких сива пляма відсутня, а гетерозиготи Vv не перевищували 3%.

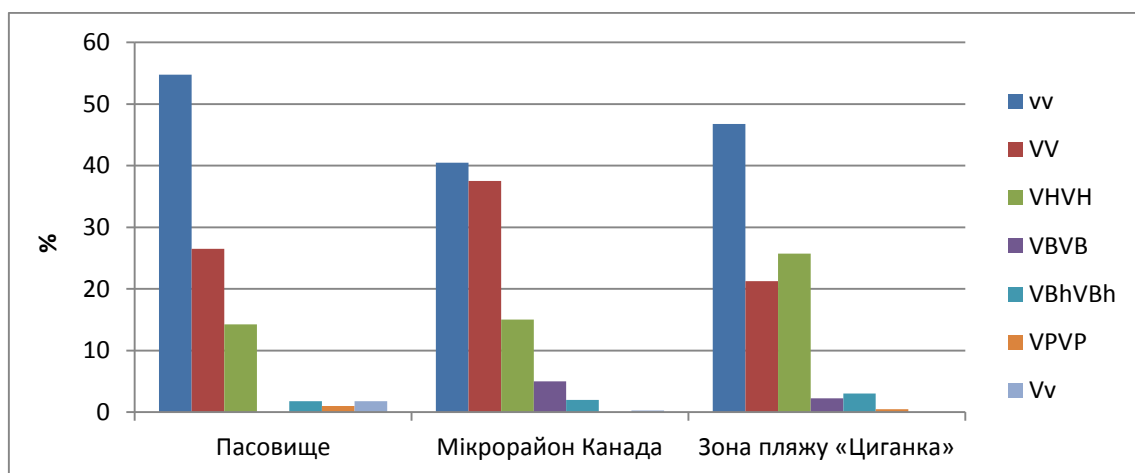


Рис. 4.3.1 – Середня частота зустрічі генотипів в популяціях *Trifolium repens* на дослідних ділянках м. Тернопіль та м. Ланівці



Інші досліджувані популяції (Рис. 4.3.2.) характеризуються збільшенням фенотипічної мінливості (до 6-7 класів), що досягається за рахунок наявності у генетичній структурі популяції гетерозиготних генотипів, а саме  $Vv$  (0-4%),  $V^P V^H$  (0-3%) (лише у центральній частині м. Ланівці),  $V^P V^{Bh}$  (0-5%) (лише у центральній частині м. Ланівці),  $V^H V^B$  (0-2%) (на узбіччі вздовж автодороги поблизу Тернопільського озера).

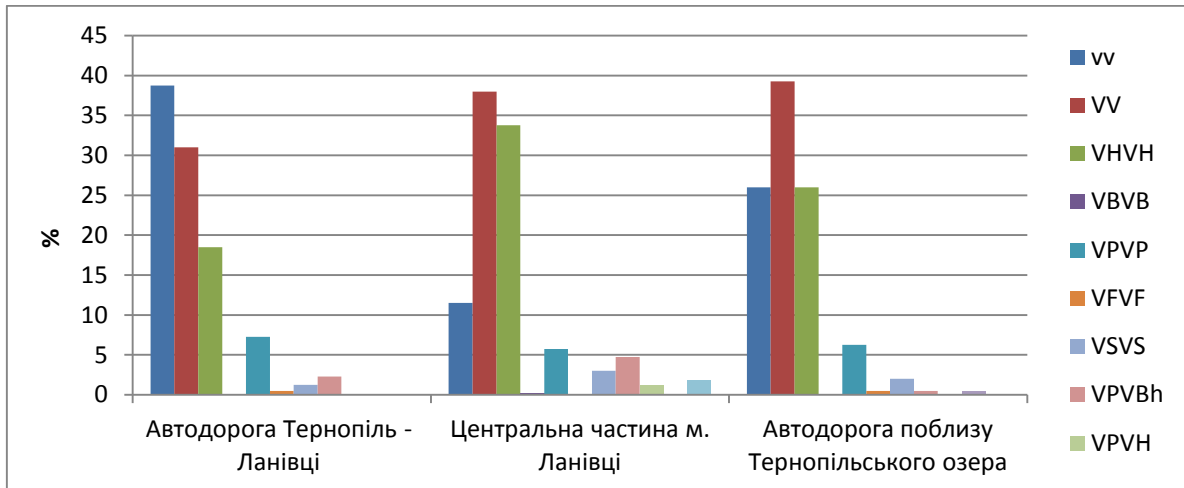


Рис. 4.3.2. Середня частота зустрічі генотипів в популяціях *Trifolium repens* на дослідних ділянках м. Тернопіль та м. Ланівці

У результаті дослідження встановлено: ІСФ в зоні пасовища околиць м. Ланівці становить 45% (чиста територія); на ділянці поблизу автодороги Тернопіль – Ланівці – 61,25% (забруднена територія); в центральній частині м. Ланівці – 88,5% (територія є дуже забрудненою); у житловому масиві мікрорайону Канада м. Тернопіль – 59,75% (забруднена територія), у зоні пляжу «Циганка» м. Тернопіль – 52,75% (забруднена територія), на узбіччі вздовж автодороги поблизу Тернопільського озера – 74,25% (дуже забруднена територія) (рис.4.3.3). Найбільше антропогенне навантаження відчувають центральна частина м. Ланівці та узбіччя вздовж автодороги поблизу Тернопільського озера. Тільки одна дослідна територія виявилась чистою - зона пасовища околиць м. Ланівці, інші – забруднені.

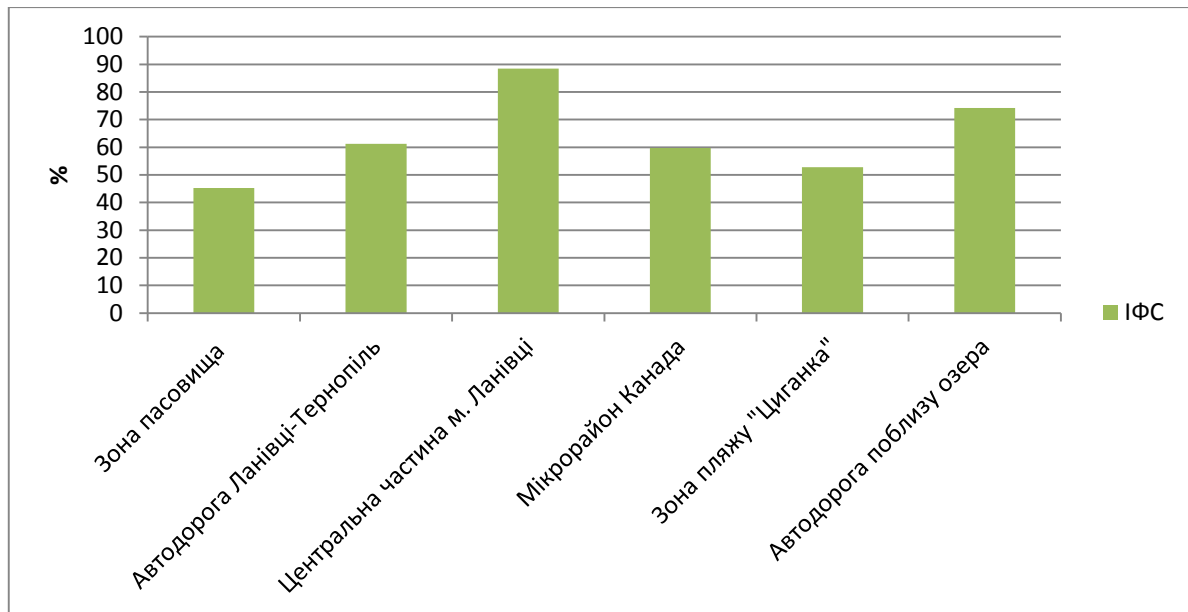


Рис. 4.3.3 – Індекс співвідношення фенів (ІФ) на дослідних територіях м. Тернопіль та м. Ланівці (2019 - 2020 рр.)

Таким чином, популяції конюшини повзучої у природних біоценозах характеризуються більшою морфогенетичною однорідністю, а в міських екосистемах – більшим фенетичним поліморфізмом який досягається за рахунок появи рідко зустрічаючихся генотипів. Найбільше антропогенне навантаження відчувають центральна частина м. Ланівці та узбіччя вздовж автодороги поблизу Тернопільського озера. І лише одна дослідна територія - зона пасовища околиць м. Ланівці виявилась чистою.

#### ЛІТЕРАТУРА ДО РОЗДІЛУ 4

1. Бабюк А. В. Використання харчових добавок в Україні *Безпека життєдіяльності*. 2015. № 1. С. 28–30.
2. Басенко А. Радіація і сільське господарство *Сільський час*. 2004. № 10 (489). С. 4-6.
3. Біда Т. М., Торяник В. М. Особливості фенотипічного поліморфізму *Trifolium repens* L. за рисунком сивої плями на листку у фітоценозах пасовищ з різним екологічним режимом *Актуальні проблеми дослідження довкілля: матеріали ІХ міжнар. наук.-конф., м. Суми, 25–27 трав. 2021 р. Суми, 2021. С. 207–209.*
4. Бутенко Р.О. Вплив різних доз і концентрацій мутагенів на частоту мутацій озимої пшениці *Физиология и биохимия культ. растений*. 2007. Т.39, №4. С. 326–333.
5. Бучковська О.І., Крижановська М. А. Вплив ароматизованих нікотиновмісних рідин електронних сигарет на виникнення домінантних летальних мутацій у *Drosophila melanogaster*. Тернопільські біологічні

- читання – Ternopil Bioscience – 2022 : матеріали міжнародної конференції (Тернопіль, 4–5 листопада 2022 р.). Тернопіль : Вектор, 2022. С. 30–34
6. Васько Л. М., Почерняєва В. Ф., Баштан В. П. Засоби захисту організму від дії іонізуючого випромінювання : навч. посіб. К. : ВСВ "Медицина". 2019. 112 с.
  7. Глухов О.З., Сафонов, Н. А. Фітоіндикація металопресингу в антропогенно трансформованому середовищі. Донецьк : Норд-Пресс, 2006. 360 с.
  8. Григор'єва Л.І., Томілі Ю.А., Рожков І.М. Іонізуюче випромінювання та його вплив на людину: навч. посіб. Миколаїв : МДГУ ім. Петра Могили, 2008. 208 с.
  9. Грицак Л., Барна І., Кодлюк І., Сельська І., Сплавінська Ю., Сукар Х., Барна С. Біоіндикаційні методи для потреб системного аналізу якості довкілля Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія : Географія. № 2. 2017. С. 153–165.
  10. Гродзинський Д.М., Шиліна Ю.В., Куцокінь Н.К. Застосування рослинних тест-систем для оцінки комбінованої дії факторів різної природи (метод. рек. по. оцінці допустимих рівнів радіонуклідного та хімічного забруднення за їх комбінованої дії) К.: Фітосоціоцентр, 2006. 60 с.
  11. Дружина М. Радіаційні ураження і радіопротектори. *Вісник НАН України*. 2005.-№4. С.17-24
  12. Катаєва С. Е. Безпечність застосування синтетичних добавок у харчових продуктах для дітей. *Безпека життєдіяльності*. 2012. № 8. С. 35–40.
  13. Ковальський, О. В., Мечев Д. С., Данилевич В. П. Радіологія. Променева терапія. Променева діагностика : навч. посіб. Вінниця : Нова Книга, 2017. 512 с.
  14. Козаченко М. Р. Експериментальний мутагенез в селекції ячменю: монографія. Харків, 2010. 296 с.
  15. Конончук О.Б. Практикум з агрохімії та основ землеробства для студентів біологічного напрямку підготовки: навчальний посібник. Тернопіль: ТНПУ імені Володимира Гнатюка, 2013. 73 с.
  16. Крижановська М. А. Генетика. Навчальна практика : навчальний посібник. Тернопіль : ФОП Осадца Ю.В., 2021. 71 с.
  17. Крижановська М. А. Вивчення дії ароматизованих заправок електронних сигарет на порушення ембріонального розвитку у *Drosophila melanogaster*. *Біологічні дослідження – 2019* : зб. наук. праць X Всеукр. наук.-практ. конф. (Житомир, 16–18 берез. 2019 р.). Житомир : «Полісся», 2019. С. 52–52.
  18. Крижановська М.А., Голуб Н.Я., Прокоп'як М.З., Голіней Г.М. Вивчення внутрішньопопуляційного поліморфізму *Trifolium repens* L. м. Ланівці в умовах антропогенного навантаження різної інтенсивності. Фактори експериментальної еволюції організмів: Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. Київ : Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова, 2021. Т. 29. С. 185–190.

19. Куцоконь Н. Рослинні тест-системи для визначення генотоксичності *Вісник НАН України*. 2010. № 4. С. 48-52.
20. Реальність чи вигадка – побічні ефекти від електронної сигарети URL: <https://octolab.com.ua/blog/realnist-chi-vigadka-pobichni-efekti-vid-elektronnoi-sigareti>
21. Проніна О.В., Рушковський С.Р., Александрова О.І., Лазаренко Л.М., Козерецька І.А. Методичні вказівки до спецпрактикуму «Експериментальний мутагенез» для студентів біологічного факультету. Київ: «Фітосоціоцентр», 2002. 24с.
22. Свидерська С.М. Екологічні основи землеробства та сільськогосподарська радіоекологія: конспект лекцій. Одеса, 2013. 216 с.
23. Сидорович М.М., Кундельчук О.П., Баканча М.П. Активна біоіндикація біотичних чинників довкілля за допомогою *Allium test* *Актуальні питання природничих наук та методика їх викладання*: зб. тез доп. всеукр. конф., м.Ніжин, 22-23 лютого 2012р. Ніжин: Видавництво НДУ імені Миколи Гоголя, 2012. С.113-114.
24. Смоляр В.І. Токсичні ефекти харчових добавок *Проблеми харчування*. 2005. №1. С. 5–15.
25. Солов'янчик І. Натуральні добавки, ароматизатори. *Харчова і переробна промисловість*. 2002. №8. С.22-23.
26. Торяник В.М., Міронець Л.П. Морфогенетичний поліморфізм *Trifolium repens* за малюнком на різних територіях м. Суми з різним антропогенним навантаженням Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. Київ : Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова, 2019. Т. 25. С. 92–96.
27. Шкідливість електронних сигарет та вейпінгу: що потрібно знати URL: <https://novoarhangelska-gromada.gov.ua/news/1682336814/>
28. Якубенко Б.Є., Григора І.М. Польовий практикум з ботаніки. Київ: Арістей, 2008. – 260 с
29. Banks G. R., Mutagenesis: a review of some molecular aspects, «Science Progress», 1971, v. 59, № 236/ pp. 475-503 URL: <https://www.jstor.org/stable/43420107>
30. Dobzhansky Th. Genetics of the evolutionary process. Colum. Univ. Press. N.J. 1970.
31. Griffiths A. J. F., Doebley J., Peichel C., Wassarman D. A. Introduction to genetic analysis N.Y. : W. H. Freeman and Company, 2020. 819 p.
32. Hall J. L., Williams L. E. Transition metal transporters in plants. *Ibid*, 2003, vol. 54, no 393, pp. 26101-26113
33. Hamilton R.S., Cresswel IA. *Iger Innovations*, 1999.C.12-15.
34. Hardy Serge, Legagneux Vincent, Audic Yann, Paillard Luc Reverse genetics in eukaryotes *Biology of the Cell* . 2010. V.10. 539-580 p. DOI: <https://doi.org/10.1042/BC20100038>.
35. Strachan T. Human molecular genetics. Read - Boca Raton : CRC Press, 2019. 785 p.