

Всеукраїнський інтерактивний конкурс «МАН-Юніор Дослідник»
Номінація “Еколог - Юніор”

Івано-Франківське обласне відділення МАНУ

Цитологічні тест-системи як інструмент біоіндикації екологічного стану деокупованих територій

Миленька Софія-Владислава Романівна

Учениця 9 класу

Ліцею N5 Івано-Франківської міської ради

Науковий керівник-Гайда Віра Володимирівна





Актуальність й об'єктивні передумови

Один із вимірів російської збройної агресії проти України — екологічна шкода, заподіяна природним і біотичним системам. Вплив військових дій на довкілля має системний, багаторівневий характер, тому методи його оцінки та документування потребують уточнення. Прямі наслідки, зокрема хімічне забруднення, нині здебільшого визначаються інструментальними (хіміко-аналітичними) методами, які фіксують перевищення гранично допустимих концентрацій. Однак вони не враховують біологічні ефекти — мутагенні, віддалені й акумулятивні, що є ключовими для оцінки впливу на живі організми.

Дослідні території

1 - селище Савинці; 2 - с. Морозівка;
3 - селище Веселе; 4 - с. Українка;
5 - селище Теплянка; 6 - с. Сдабунівка;
7 - с. Вишнева; 8 - с. Норцівка;
9 - с. Залиман; 10 - Пазіївка;
11 - с. Затишне. В якості фонові території брали до уваги населені пункти Галицького району Івано-Франківської області.

Рис. 1. Карта-схема розміщення дослідних ділянок у межах Савинської громади Харківської області:

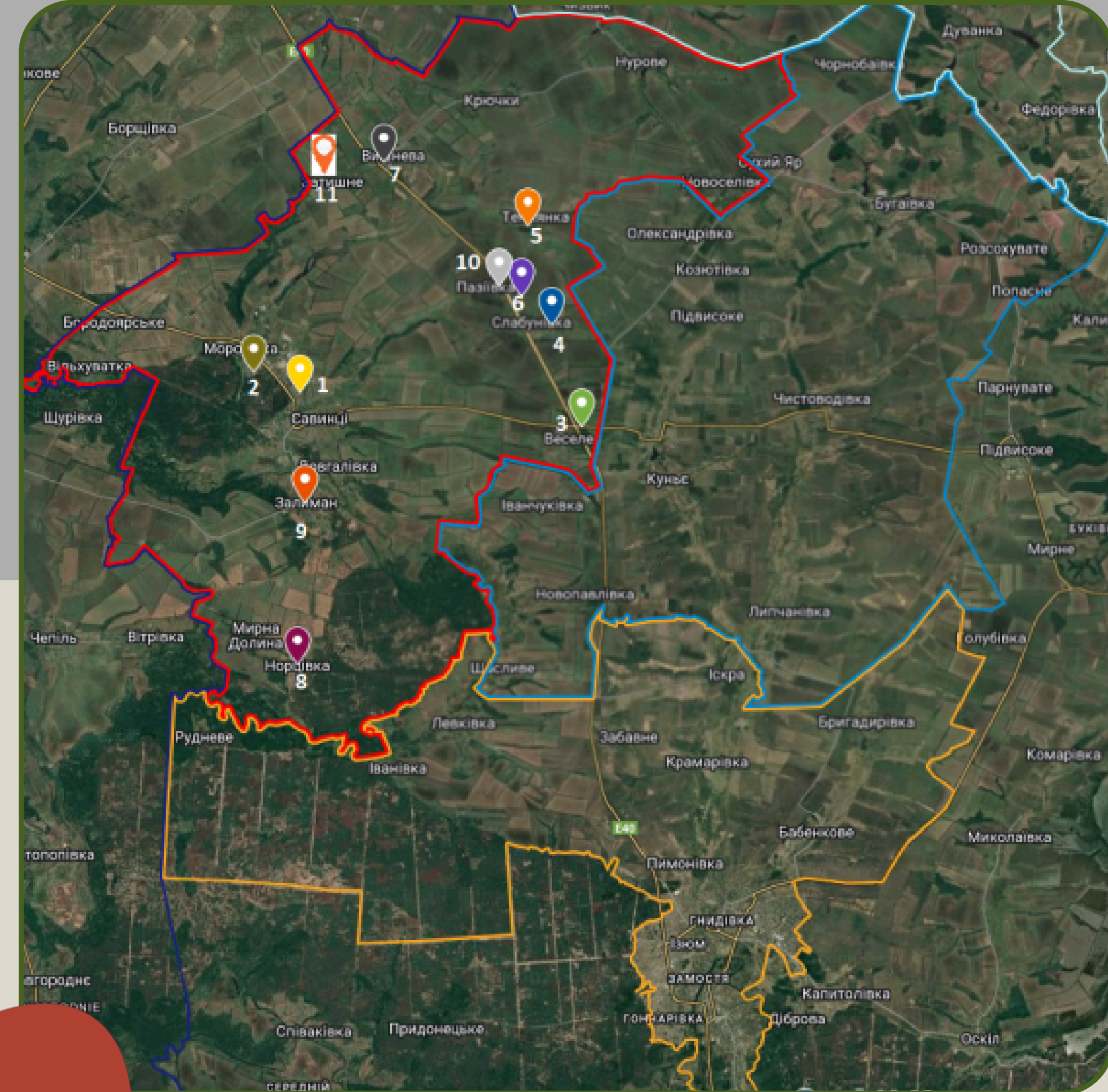




Рис. 2. Алгоритм оцінки токсико-мутагенного фону території

Оцінка гаметоцидного впливу факторів довкілля за показниками стерильності пилку

В якості індикаторів обрано види рослин, які в достатній кількості представлені на дослідних ділянках і належать до весняної хвилі палінації (рис.3 А-Д).



А



Б



В



Г



Д

Рис. 3. Види-індикатори: А - клен ясенелистий (*Acer negundo* L.); Б - береза повисла (*Betula pendula* Roth.); В - абрикос домашній (*Prunus armeniaca* Lam.); Г - слива розлога (*Prunus cerasifera* Ehrh.); Д - верба ламка (*Salix fragilis* L.).

Стерильні пилкові зерна ідентифікували йодним методом, який базується на якісній реакції на крохмаль фертильних пилкових зерен. Для порівняльної оцінки застосовували коефіцієнт стерильності пилку:

$$K_{\text{сп}} = C_{\text{зд}}/C_{\text{фт}}$$

де $K_{\text{сп}}$ – коефіцієнт стерильності пилку; $C_{\text{зд}}$ – частка стерильного пилку у пилковій культурі у зоні дослідження, %; $C_{\text{фт}}$ – стерильність пилку на фоновій території, %



ТОТОКСИЧНОСТІ енності (Allium сера-тест)



огічні показники:

с
них аберацій
ікроядрами

ристовували проростки цибулі
тої (Allium сера L.)

Аналіз цитологічних маркерів у клітинах людини

У межах дослідження проведено:

- аналіз готових препаратів букального епітелію
- підрахунок клітин з ядерними аномаліями
- визначення частоти мікроядер
- порівняльний аналіз показників для дослідних і фонової території

*Букальний епітелій – це багат шаровий плоский епітелій, що вистилає внутрішню поверхню щоки

За результатами досліджень були обчислені умовні показники ушкодженості (УПУ). Для цього використовували формули 1 і 2:

$$\text{УПУ}_i = (\text{Пкомф} - \text{Пн}) / (\text{Пкомф} - \text{Пкрит}), \quad (1),$$

де УПУ_i – умовний показник ушкодженості біотестора за аналізованим цитогенетичним показником, i – аналізований цитогенетичний показник, Пкомф – комфортне (контрольне) значення аналізованого параметра біотестора; Пкрит – критичне значення параметру; Пн – значення параметра в кожному дослідному варіанті.

$$\text{ІУПУ} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \text{УПУ}_i, \quad (2),$$

де ІУПУ – інтегральний умовний показник пошкодження біотестора.

Результати:

Пилкова діагностика атмосферного повітря

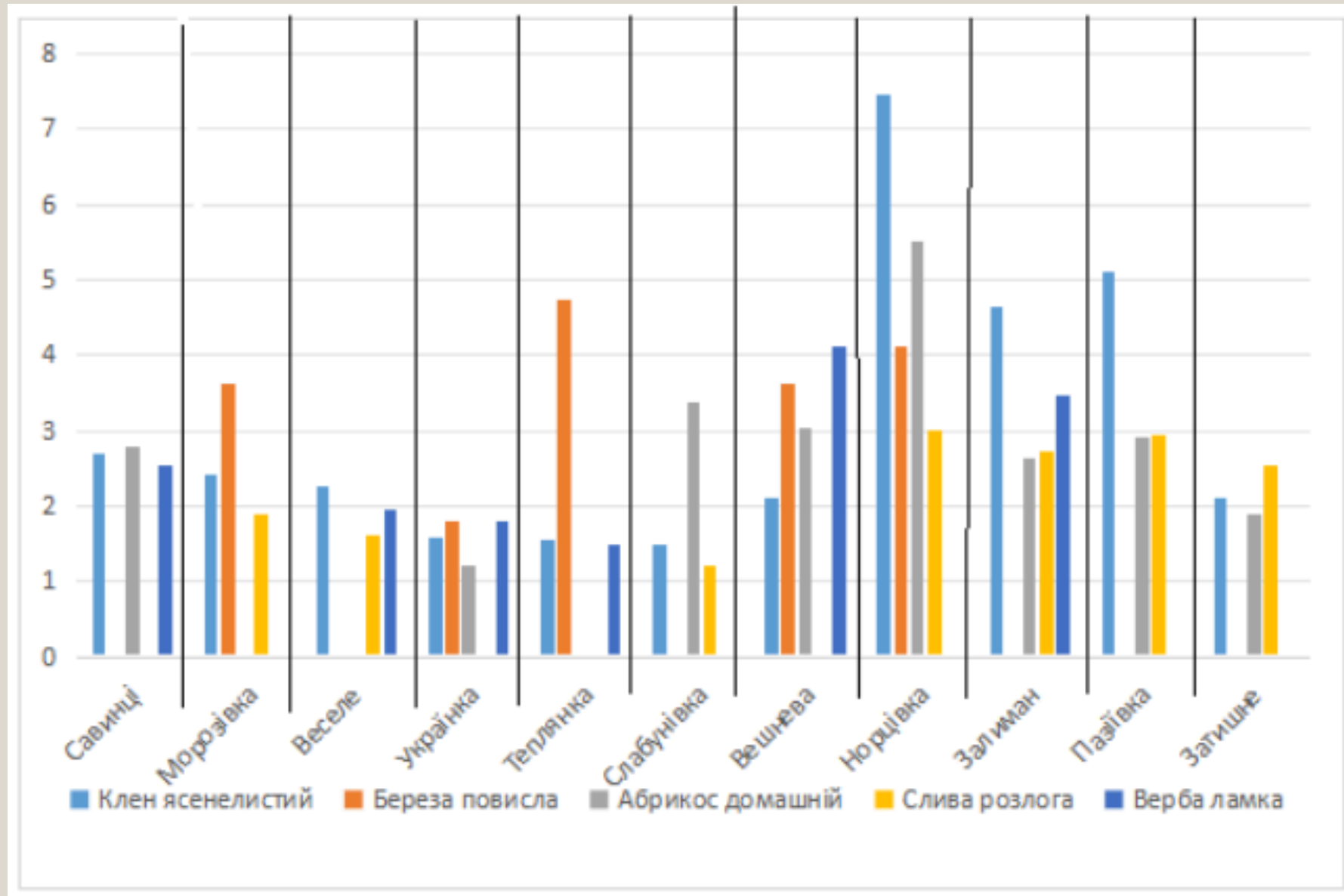


Рис. 4. Коефіцієнти стерильності пилку видів індикаторів у населених пунктах Савинської територіальної громади відносно фоновій території (Ксп).

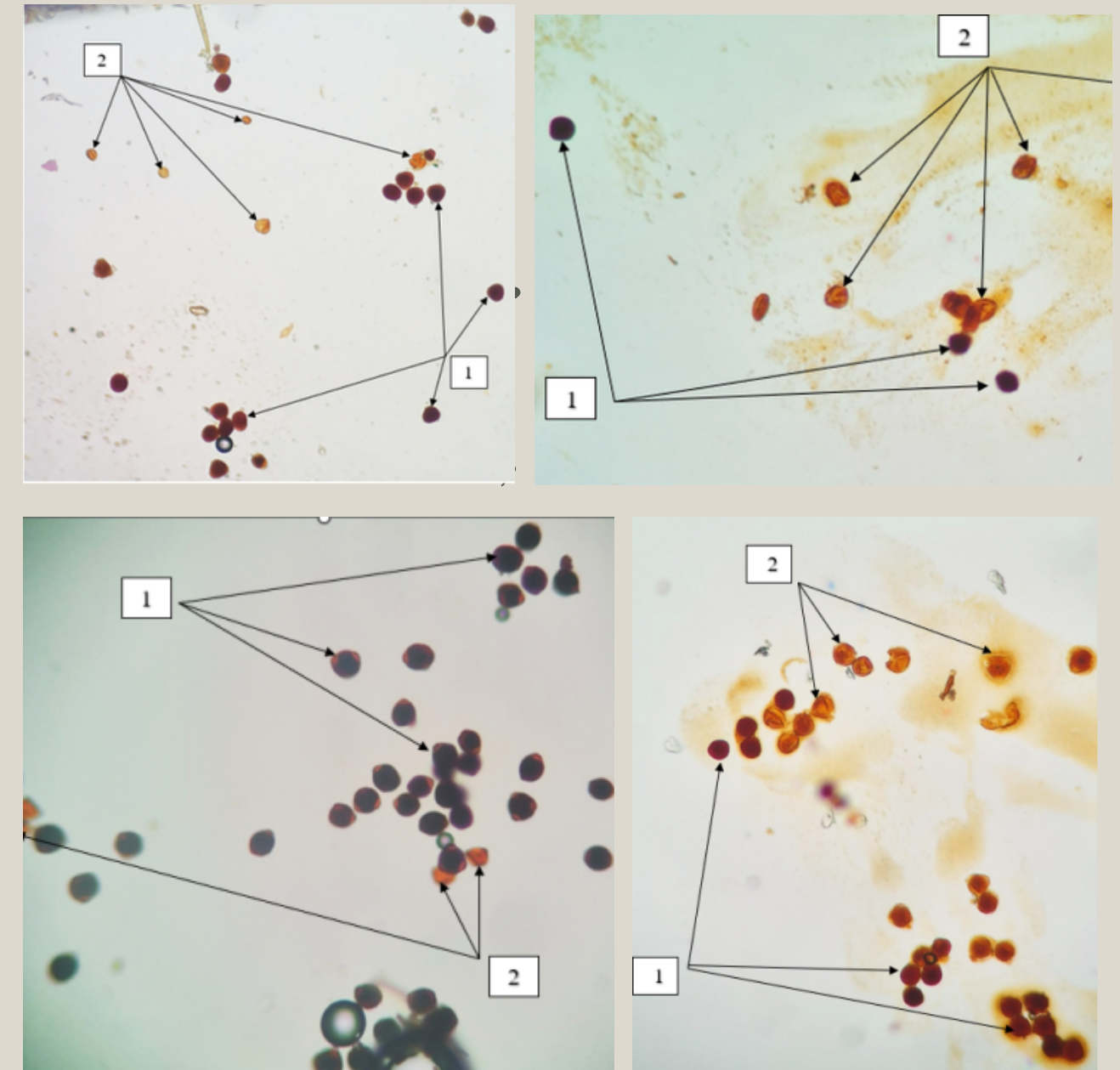


Рис. 5. Аномалії пилку рослин-індикаторів в умовах дослідних територій: Мікрофотографії. Калій йодид. Об.40х, Ок.10х. 1 – ферильні п.з., 2 – стерильні п.з.

Таблиця 2.

Мітотичний індекс (МІ) та проліферативна активність (відносний мітотичний індекс стосовно фонового значення – ВМІ) клітин апікальної меристеми первинних корінців *Allium cepa* L., експонованих на ґрунтах населених пунктів Савинської територіальної громади Харківської області

Дослідна ділянка	МІ, % (M±m)	ВМІ
селище Савинці	10,8±0,66*	2,42
с. Морозівка	7,4±0,54*	3,53
селище Веселе	11,2±0,74*	2,33
с. Слабунівка	12,0±0,68*	2,18
с. Залиман	8,9±0,50*	2,93
с. Українка	6,4±0,64*	4,08
селище Теплянка	10,1±0,71*	2,58
с. Вишнева	4,8±0,22*	5,44
с. Норцівка	5,6±0,36*	4,66
с. Пазіївка	7,6±0,45*	3,43
с. Затишне	11,0±0,75*	2,37
Фонова територія	26,1±1,23	-

Примітка. Вірогідні зміни досліджуваних показників порівняно з контролем та фоновим значенням * – P<0,05

Таблиця 4

Абсолютний (МЯІ) та відносний (ВМЯІ) мікроядерні індекси в клітинах апікальної меристеми первинних корінців *Allium cepa* L., експонованих на ґрунтах населених пунктів Савинської громади

№ п/п	Функціональна зона	МЯІ, %	ВМЯІ (відносно фонового значення)
1	селище Савинці	12,8±1,02	7,11
2	с. Морозівка	14,0±1,10	7,77
3	селище Веселе	9,00±0,82	5,00
4	с. Слабунівка	7,50±0,60	4,17
5	с. Залиман	6,80±0,61	3,78
6	с. Українка	15,8±1,12	8,78
7	селище Теплянка	6,4±0,62	3,55
8	с. Вишнева	24,3±0,15	13,5
9	с. Норцівка	21,0±1,52	11,67
10	с. Пазіївка	22,1±1,72	12,28
11	с. Затишне	5,6±0,62	3,11
	Фонова територія	1,80±0,07	-

Примітка. * - вірогідні зміни досліджуваних показників порівняно з контролем і фоновим значенням (P<0,05).

Рівень хромосомних аберацій (ХА) у клітинах апікальної меристеми первинних корінців *Allium cepa* L., експонованих на ґрунтах населених пунктів Савинської громади Харківської області

Функціональна зона	Частка абераційних ана-телофаз, (M±m), %	Кількість аберацій	
		На досліджену клітину (M±m)	На абераційну клітину (M±m)
селище Савинці	3,4±0,11*	0,015±0,002	1,084±0,10
с. Морозівка	6,0±0,17*	0,025±0,004*	1,130±0,08
селище Веселе	3,80±0,14*	0,072±0,008*	1,341±0,13*
с. Слабунівка	3,60±0,16*	0,076±0,005*	1,542±0,10*
с. Залиман	5,70±0,06	0,046±0,007*	1,226±0,23
с. Українка	6,40±0,15	0,021±0,004*	1,432±0,10*
селище Теплянка	4,00±0,11	0,014±0,002	1,184±0,22*
с. Вишнева	8,20±0,14	0,062±0,008*	1,241±0,21*
с. Норцівка	8,70±0,18	0,078±0,007*	1,616±0,42*
с. Пазіївка	7,40±0,21	0,072±0,005*	1,482±0,10*
с. Затишне	3,92±0,17	0,022±0,011	1,086±0,10
Фонова територія	1,20±0,06	0,011±0,002	1,066±0,12
Контроль (дистилят)	1,07±0,06	0,011±0,002	1,066±0,11

Примітка. Вірогідні зміни досліджуваних показників порівняно з контролем і фоновим значенням: * – P<0,05.

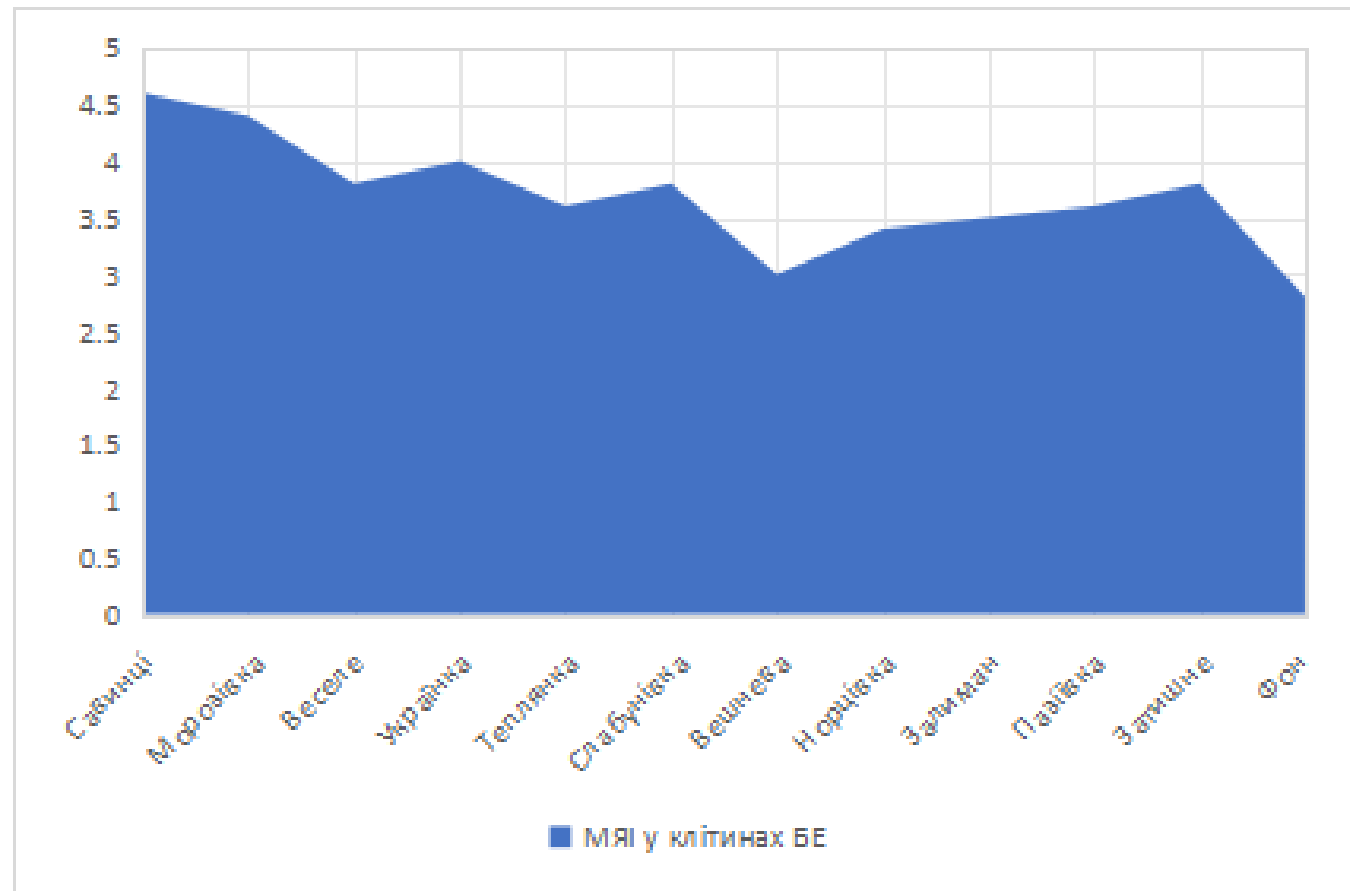


Рис. 6. Співвідношення показників МЯІ клітин букального епітелію дітей Савинської громади та фоновій території.

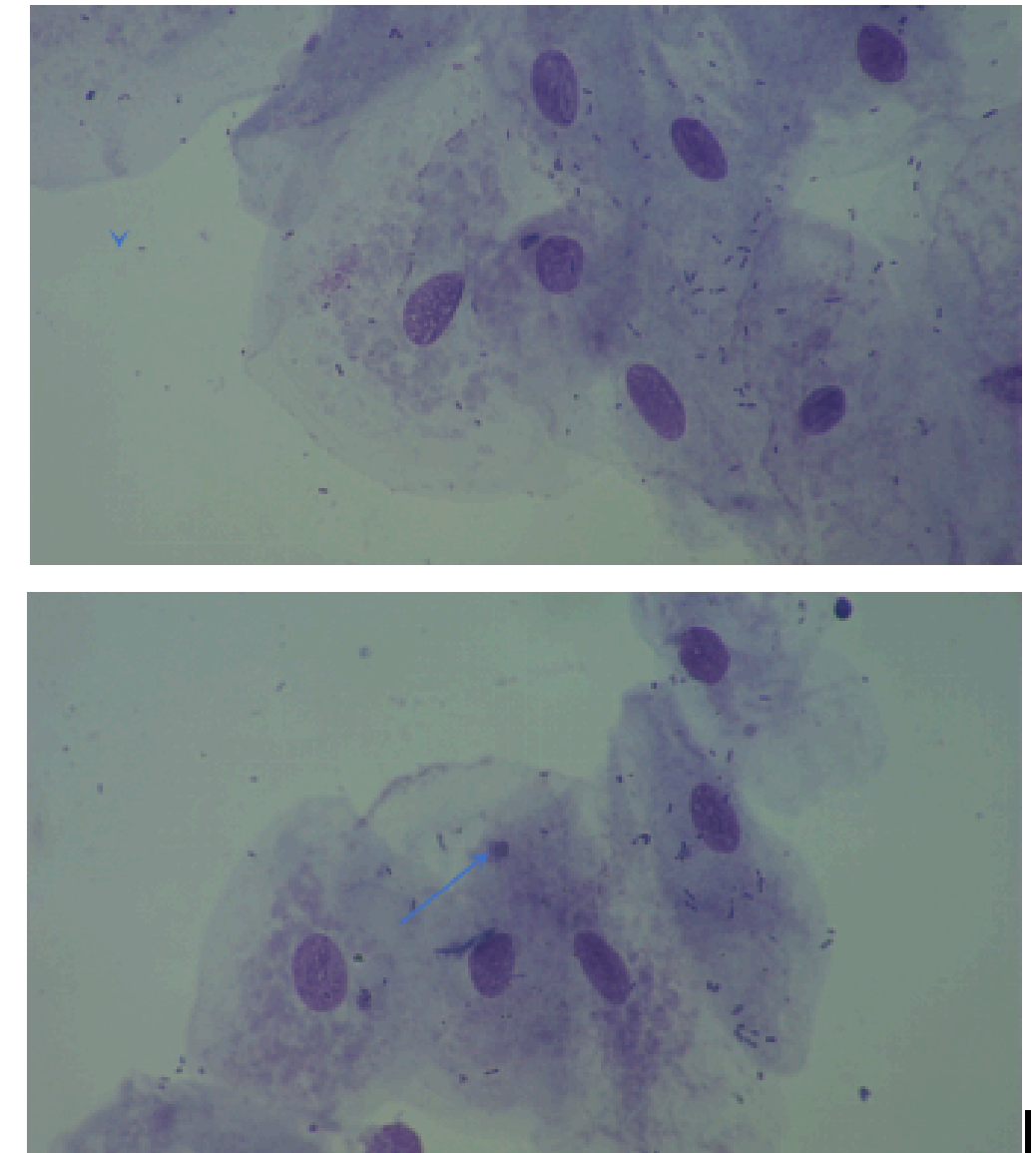


Рис.7. Мікроядра (→) в клітинах БЕ дітей Савинської громади.

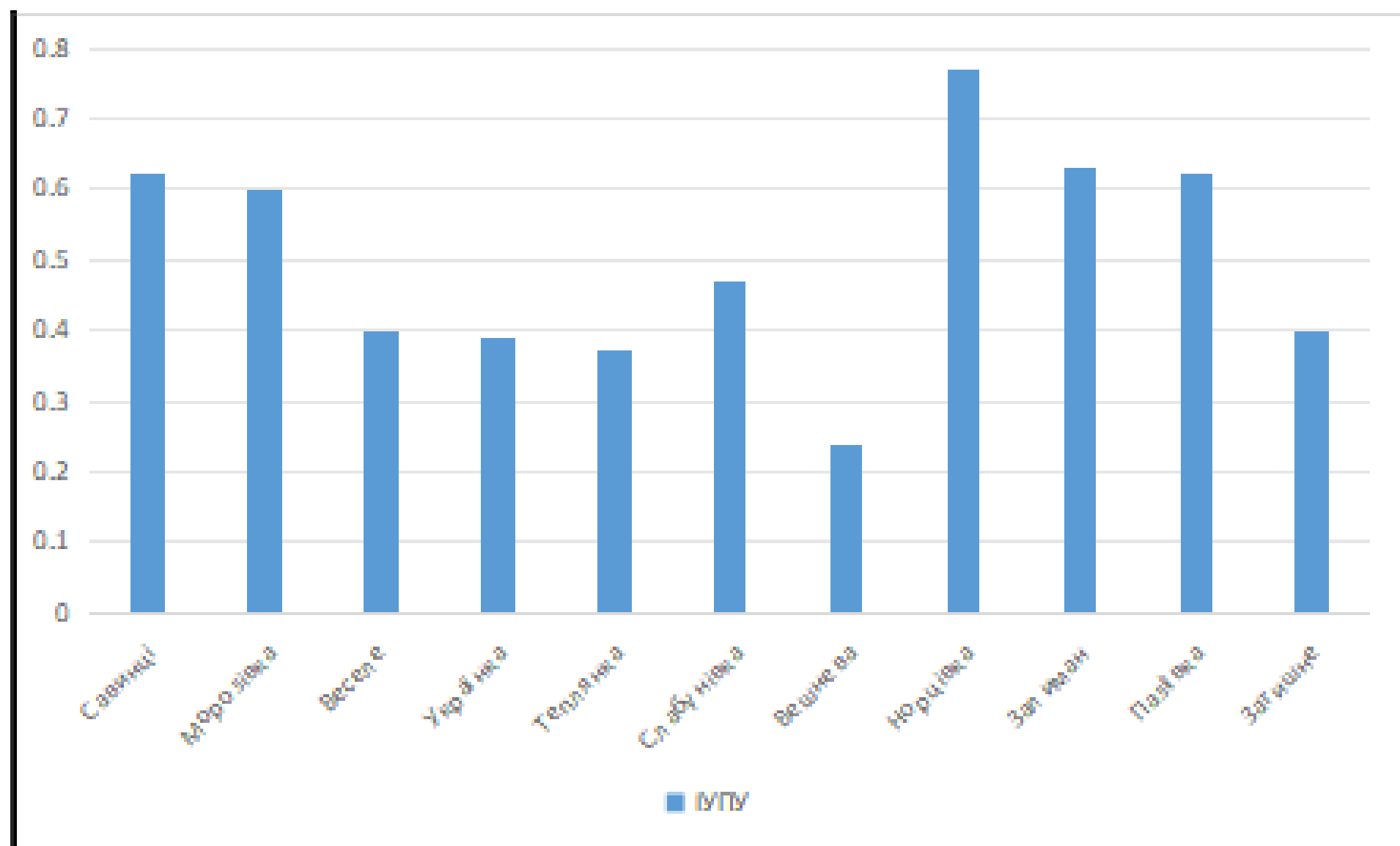
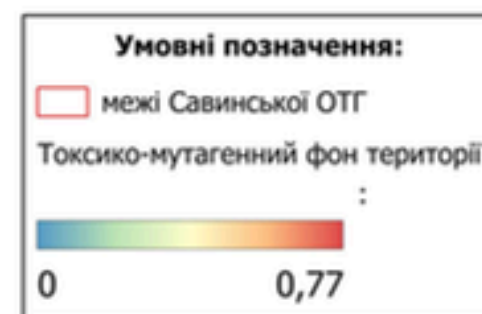
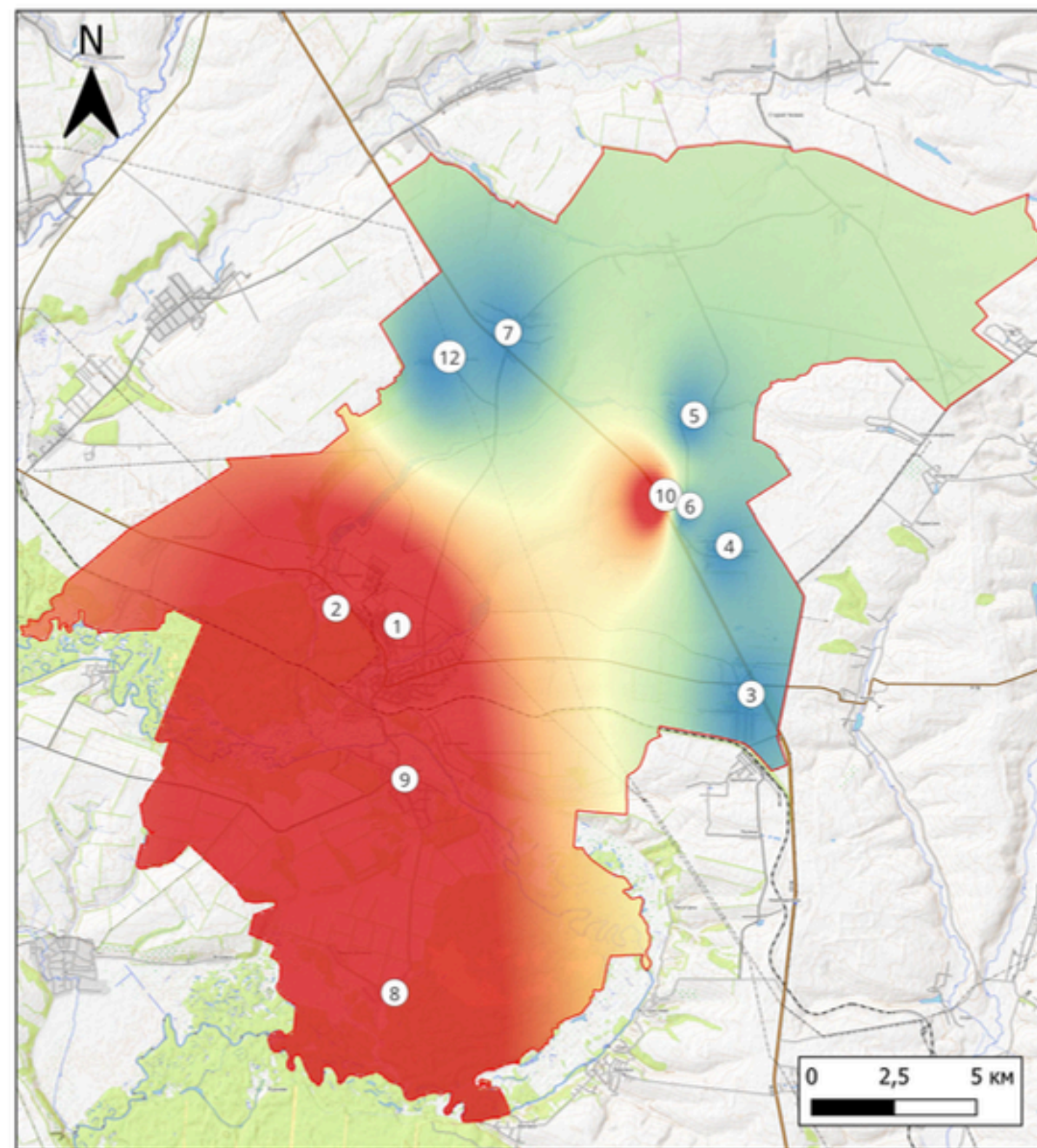


Рис. 5. Інтегральний умовний показник ушкодження біоти у населених пунктах Савинської громади.



ВИСНОВКИ

1. Одним із визначальних чинників, що спричинює трансформаційні зміни в екосистемах унаслідок ведення воєнних дій, є інтенсивне надходження до екотопів широкого спектра хімічних забруднювачів. Значна частина цих сполук володіє вираженою мутагенною та цитотоксичною активністю. Вони не лише чинять загальнотоксичний вплив на живі організми, але й здатні формувати довготривалий генетичний тягар у популяціях, впливаючи на стабільність генетичного апарату та знижуючи адаптивні можливості біоти.
2. Повноцінна та об'єктивна екологічна оцінка наслідків бойових дій має передбачати обов'язкове включення біомоніторингових досліджень мутагенного потенціалу середовища. Зокрема, слід проводити скринінг на наявність мутагенних чинників та оцінювати рівень токсико-мутагенного фону згідно з критеріями, визначеними у Наказі МОЗ України № 116 від 13.03.2007 р. Особлива увага має приділятися основним депонуючим середовищам — ґрунтам і атмосферному повітрю, як середовищам, що найбільше накопичують і передають токсичні навантаження.
3. Для виявлення мутагенного забруднення у ґрунтовому середовищі найбільш валідним є *Allium* сера-тест (на основі первинних корінців цибулі ріпчастої), який дозволяє визначати як цитогенетичні ефекти, так і загальну токсичність. Для оцінки мутагенних властивостей чинників атмосферного повітря доцільно застосовувати тести на гаметоцидність із використанням пилку аборигенних видів деревних рослин, що дає можливість фіксувати зміни в репродуктивній сфері під дією забруднювачів.
4. Серед усіх індикаторів кластогенного навантаження ґрунтового середовища найвищу інформативність демонструє показник мікроядерного індексу в клітинах апікальної меристеми первинних коренів *Allium* сера. Цей маркер дозволяє ефективно виявляти генотоксичні ефекти навіть за умов низьких концентрацій забруднювачів та є надзвичайно чутливим до широкого спектра забруднювачів.
5. Деревні види рослин демонструють видовоспецифічну чутливість до впливу комплексу екологічних факторів, включно з техногенним і бойовим забрудненням. У межах території Савинської громади найвищий біоіндикаційний потенціал було зафіксовано у трьох видів: клена ясенелистого (*Acer negundo*), абрикоса домашнього (*Prunus armeniaca*) та берези повислої (*Betula pendula*). Їх реакції можуть служити маркерами загального екологічного стану довкілля.
6. Запропоновані біологічні індикатори можуть бути інтегровані в загальний алгоритм моніторингу та оцінки екологічних наслідків військового впливу. Їхнє застосування забезпечить комплексний підхід до аналізу генотоксичності довкілля та дозволить формувати науково обґрунтовані стратегії екологічної реабілітації постраждалих територій.

Дяж**у**ю
за **у**в**а**г**у**