

УДК: [575.247+581]:628.19 /477.86

Л.Є. Ковальчук, В.М. Случик, П.М. Телюк

ЦИТОГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА МУТАГЕННОЇ АКТИВНОСТІ ПИТНОЇ ВОДИ РІЗНИХ РЕГІОНІВ ПЕРЕДКАРПАТТЯ

У зв'язку із зростанням антропогенного забруднення навколишнього середовища актуальною проблемою є розробка підходів до оцінки впливу мутагенних факторів на живі організми [1, 9]. Враховуючи те, що останні знаходяться під впливом дії сукупності екологічних факторів, котрі можуть змінювати мутагенні ефекти, вивчення їх комплексної дії знаходиться в центрі уваги наукових досліджень екологів та генетиків [5, 10]. Пошук тест-систем, які реально відображали б geno- і цитотоксичність комплексу ксенобіотиків, що потрапили у довкілля, в сучасних екологічних умовах має пріоритетне значення [2, 3]. Для встановлення генетичної активності комплексу факторів навколишнього середовища пропонується застосовувати ґрунтові води автохтонного походження, як акумулятор сумарного забруднення біосфери [6]. При виборі тест-об'єкту (*Allium cepa*) керувались рекомендаціями групи експертів Міжнародної комісії із захисту від мутагенів і канцерогенів оточуючого середовища [8].

З метою встановлення генетичної активності комплексу факторів довкілля вивчені окремі регіони Передкарпаття, при виборі яких користувалися регіональною Європейською сіткою та даними обласної СЕС.

Матеріали і методи. Досліджувалась питна вода з м. Івано-Франківська, де виявлено комплекс мутагенних факторів антропогенного походження, а також із зон хімічного і радіологічного забруднення. У Калуському рні, де функціонує акціонерне товариство "Оріана" (АТО), вивчалась генетична активність води сіл Завій і Грабівка, як умовно чистих регіонів, і забруднених — с. Верхне і м. Калуш. За постановою Кабінету Міністрів України від 25 липня 1991 р. № 106 села Стецева і Русів Снятинського рну віднесені до зони посиленого радіоекологічного контролю. Забір проб питної води проводили за загальноприйнятими методами [6]. Всі експерименти виконували у весняні періоди 1995-97 рр., синхронно на всіх визначених територіях. У містах Івано-Франківську і Калуші досліджувалась вода центральної мережі водопостачання, а із сіл — колодязна.

Насіння цибулі *Allium cepa* висівали в чашки Петрі із дослідними та контрольними зразками води у кількості 200 насінин на пробу та пророщували в термостаті при температурі 21°C. Підрахунок активності проростання насіння проводили через 72 год., коли довжина первинного корінця досягала 0,5-1,0 см. Давлені препарати готували стандартним методом [4, 8]. При вивченні патологій мітозу застосовували класифікацію І.А. Алова [3].

Результати дослідження та їх обговорення. Враховуючи те, що ріст рослин визначається в першу чергу активністю клітин меристематичних тканин, важливо було встановити вплив комплексу факторів довкілля

© Л.Є. Ковальчук, В.М. Случик, П.М. Телюк, 1998

(іонізуючого випромінювання, хімічних чинників) на мітотичну активність. Останню оцінювали за інтенсивністю клітинного поділу і кількістю клітин в меристемах, здатних вступати в мітотичний цикл. Одночасно визначали патологію мітозу, хромосомні аберації.

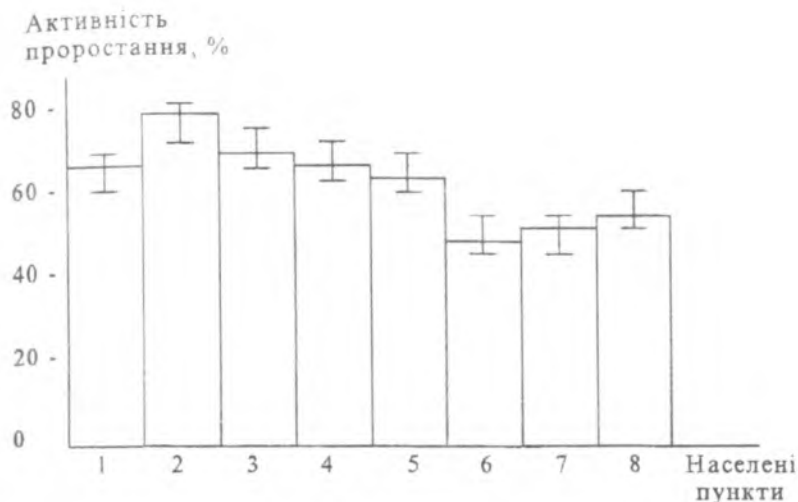
Встановлена залежність проростання насіння від рівня забруднення води ксенобіотиками (рис.). У пробах води центральної мережі водопостачання міст Івано-Франківська і Калуша, сіл Стецева і Русів відмічено пригнічення ростових процесів. Схожість насіння на воді з даних пунктів становила 50,0; 63,2; 53,3 і 56,6% проти 66,6% у контролі. Більша активність проростання насіння у воді екологічно чистих сіл Грабівка і Завій, в порівнянні з такою у дистильованій воді, зумовлена відсутністю у останній необхідних мінеральних та органічних речовин [7]. Мітотична активність кореневої меристеми даних проростків також була неоднаковою. Цитологічний аналіз препаратів довів зниження мітотичного індексу у корінцях, пророщених на воді міст Івано-Франківська і Калуша, сіл Верхне, Стецева і Русів у 2,08; 2,12; 1,98; 3,39; 3,32 разів відповідно, в порівнянні з контролем (табл. 1). Вивчення розподілу клітин, які діляться, в залежності від фаз мітозу показало, що радіаційний фактор знижує значення мітотичного індексу переважно за рахунок зменшення зустрічності клітин, які знаходяться у профазі. Мета-, ана- і телофазний індекси також знижуються, але менш істотно, ніж профазний. Ефекти чинників хімічної природи подібні до описаних вище. Встановлене відносне збільшення кількості клітин, які перебували у метафазі, та зниження зустрічності клітин в інших фазах мітозу свідчить про блокаду каріокінезу в метафазі. Отримані дані корелюють з результатами досліджень про фітотоксичну дію пестицидів [3].

Таблиця 1

Мітотична активність ($X \pm Sx$) меристематичної тканини паростків цибулі посівної (*Allium cepa*) у воді різних регіонів Передкарпаття

Досліджувані території	Мітотичний індекс, ‰				
	загальний	профазний	метафазний	анафазний	телофазний
Контроль — вода дистильована	228,3±13,2	168,5±14,6	22,8±1,7	14,7±0,6	22,3±1,4
м. Івано-Франківськ	109,3±6,4	75,6±9,8	16,9±2,6	9,9±1,2 ^a	6,9±0,8
с. Завій	189,2±16,4	120,2±11,2	33,7±2,2	15,2±1,3	20,1±1,3
с. Грабівка	191,7±14,2	133,7±12,7	28,5±2,5 ^a	15,5±1,7	14,0±1,2 ^b
с. Верхне	115,5±10,7 ^b	61,3±0,92 ^b	32,9±1,9	7,2±0,9 ^b	15,1±1,7 ^b
м. Калуш	107,4±12,3 ^b	53,9±1,03 ^b	27,2±1,4 ^a	10,1±1,1 ^b	16,2±1,6 ^a
с. Стецева	67,3±6,7 ^a	25,1±6,1	13,9±3,3 ^a	20,0±4,8 ^a	8,3±2,0
с. Русів	68,7±5,8 ^a	27,1±2,7	17,7±3,5	14,3±2,8 ^a	9,6±0,7

Примітка. Відмінності статистично достовірні при а — $P < 0,05$; б — $P < 0,01$.



Активність проростання насіння у питній воді різних регіонів Передкарпаття. Умовні позначення: 1 — дистильована вода; 2 — с. Завій; 3 — с. Грабівка; 4 — с. Верхне; 5 — м. Калуш; 6 — м. Івано-Франківськ; 7 — с. Стецева; 8 — с. Русів

Наступним етапом роботи було вивчення патології мітозу, які є результатом сумарного ефекту метаболічних порушень, що відбуваються в період підготовки клітини до мітозу. Збільшення числа патологічних мітозів пов'язане із зниженням мітотичної активності та з її наступним відновленням. Саме під час відновлення проліферації відбувається збільшення числа патологічних мітозів. Їх кількість та характер залежить від ступеня забруднення води. На всіх препаратах відмічались мітози, пов'язані переважно з пошкодженням хромосом: набухання, фрагментація, злипання і утворення мостів. Одночасно виникали порушення руху хромосом, про що свідчили затримка мітозу у метафазі, розсіювання хромосом, утворення гігантських поліплоїдних клітин. Ідентифіковані зміни процесів цитотомії (запізнення, передчасність або їх відсутність). У окремих корінцях відмічені багатополосні мітози, які зумовили утворення багатоядерних клітин. Крім пошкодження хромосом, порушення їх руху і багатополосних мітозів, виявлені асиметричні мітози. Дана патологія зумовила утворення клітин з гіпо- і гіперплоїдними ядрами.

Кількісна оцінка числа та типів хромосомних аберацій доводить залежність пошкоджень мітозу від ступеня забруднення води хімічними речовинами та радіонуклідами (табл. 2).

Таблиця 2

Цитогенетична активність ($\bar{x} \pm Sx$) питної води з різних екологічних зон Калузького р-ну при тестуванні на *Allium scera*

Досліджувані регіони	Об'єкт дослідження	Кількість клітин		Аберації		
		Разом	З аберациями		хромосомні, %	хроматидні, %
			абсолютна	%		
Контроль	Вода дистильована	172	3	1,71 \pm 0,50	53,12 \pm 1,51	461,9 \pm 2,12
с.Завій	Вода колодязна	508	15	1,730 \pm 0,28	33,33 \pm 10,19	38,89 \pm 10,21
с.Гравівка	Вода колодязна	622	21	1,920 \pm 0,30	22,75 \pm 7,75	39,39 \pm 9,07
с.Верхнє	Вода колодязна	732	32	2,790 \pm 0,31 ^a	21,77 \pm 8,72	45,21 \pm 9,68
м.Калуш	Вода питна	503	29	3,690 \pm 0,36 ^b	13,48 \pm 5,01	62,75 \pm 5,04 ^a
м. Івано-Франківськ	Вода питна	196	28	7,62 \pm 0,61	61,38 \pm 2,14	39,62 \pm 1,91
с. Стецева	Вода колодязна	116	12	10,32 \pm 1,21	50,34 \pm 2,25	49,66 \pm 1,38
с. Русів	Вода колодязна	180	16	8,81 \pm 1,31	61,48 \pm 5,43	38,52 \pm 3,49

Примітка. Відмінності статистично достовірні при : а — $P < 0,05$; б — $P < 0,01$

Встановлено, що цитогенетичні характеристики тест-об'єкта при визначенні генетичної активності питної води із сіл Завій і Грабівка достовірно не відрізнялися від спонтанних.

Питна вода із сіл Стецева, Русів і Верхнє достовірно підвищувала рівень аберантних клітин у *A. сера* відповідно в 6,1; 5,2 і 1,6 рази.

Виявлений факт значної генотоксичності води із вказаних населених пунктів не суперечить літературним даним [11, 12] про зростання її мутагенності в умовах локального забруднення навколишнього середовища.

Генетична активність води із центральної мережі водопостачання міст Івано-Франківська та Калуша також достовірно перевищувала контрольні цифри. Питома вага ана-телофаз з перебудовами переважала відповідно на 347 і 117% рівень спонтанного мутагенезу.

Подібні за змістом результати були отримані іншими авторами під час аналізу генотоксичності води в системі централізованого водопостачання м. Будапешту [13]. Ці дані можуть бути пояснені недосконалістю існуючих методів очистки води. На користь такої трактовки вказують результати тестування проб води (тест Еймса за відсутністю і наявністю метаболічної активації) з р. Огайо: необробленої, дезінфікованої шляхом озонування чи хлорування та відфільтрованої через активоване вугілля або подвійне середовище [14].

Аналіз спектру перебудов спадкового апарату тест-об'єкту показав, що на хімічно забруднених територіях вода індукує його зсув в бік хроматидних аберацій. Якщо у контрольних селах співвідношення між хроматидними і хромосомними пошкодженнями каріому становило близько 1,3:1, то у с. Верхнє — 2:1, а у м. Калуші — 3:1. Вода з радіаційно забрудненої зони с. Стецева спричинює незначне зростання аберантно хроматидного типу.

Встановлений рівень пошкодження генетичного апарату тест-об'єкта *A. сера* свідчить про реальну генетичну активність питної води, що відповідає існуючому рівню локального антропогенного забруднення довкілля ксенобіотиками та інтенсивності зумовленого ними мутагенного фону. Зростання генетичної активності питної води міст Івано-Франківська, Калуша, с. Верхнє зумовлене хімічними мутагенами, а у Снятинському р-ні — радіаційними.

1. *Барияк І.Р., Стемпурський Ю.М.* Медична генетика в Україні. Роздуми після з'їзду // Цитологія і генетика. — 1996. — Т. 30, №20. — С. 83.
2. *Генетические последствия загрязнения окружающей среды / И.Р. Барияк, Т.И. Бужеевская, А.И. Быкорез и др.* — К.: Наук. думка, 1989. — 232 с.
3. *Горовая А.И., Орлов Д.С., Щербенко О.В.* Гуминовые вещества. — К.: Наук. думка, 1995. — 304 с.
4. *Дарлингтон С., Ли Кур Л.* Хромосомы. Методы работы. — М.: Атомиздат, 1980. — 216 с.
5. *Ковальчук Л.С., Нейко Є.М., Братівник Л.І.* Комплексна оцінка мутагенних наслідків антропогенного забруднення довкілля і принципи їх профілактики // Цитологія і генетика. — 1996. — Т. 30, №5. — С. 60-65.

6. Медицинская экология / М.Ф. Савченко, Е.П. Лемешевская, А.М. Литвинов, Д.И. Стем. — Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та, 1989. — 212 с.
7. Рейвн П., Эверт Р., Айххорн. Современная ботаника: В 2-х т. — М.: Мир, 1990. — Т.1. — 348с.; Т.2. — 344с.
8. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ / Программа ООН по окружающей среде, Международная организация труда и ВОЗ. — М.: Медицина; Женева: ВОЗ, 1989 б. — 212 с.
9. Сердюк А.Н., Тимченко О.І. Тягар розладів репродуктивного здоров'я у населення України // Педіатрія, акушерство і гінекологія. — 1997. — № 1. — С.5-7.
10. Сердюк А.М. Доповідь міністра охорони здоров'я України, чл.-кор. АМН // Журн. Акад. медичн. наук. — 1997. — № 2. — С.5.
11. Ferrari G., Rizzoni M. A mutagenicity analysis of water and sludge of the Tiber river, using in micronucleus tests in *Vicia Faba* root tips // *Mutat. Res. Environ. Mutagenes. and Related Subj.* — 1991. — 252, № 2. — P. 215-216.
12. Guzzella L., Galassi S., Sora S. Potenziale mutageno dei microinquinanti organici in acque superficiali e potibili dell' Italia settentrionale // *Acqua aria.* — 1989. — № 2. — P. 169-175.
13. Laszlo S. A fovarosi viszlats genotoxikus potencialjanak vizsgalata vizminoségi Kovetkertetesek // *Korl.* — 1991. — 71, № 5. — P. 295-299.
14. Mutagenicity of drinking water samples following pre-desinfection and filtration / K. Schenck, R. Miller, H. Ring-hand, B. Lykines // *Environ. and Mol. Mutagenes.* — 1992. — 19, № 20. — P. 55-63.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ ПРЕДКАРПАТЬЯ

Методом ана-телофазного анализа клеток апикальной меристемы первичных корешков *A. cepa* проведено исследование генетической активности питьевой воды на территориях с различной экологической ситуацией. Установлено увеличение ее мутагенности в районах с повышенной степенью техногенного загрязнения. Выявлены изменения в соотношении фаз митоза и типов аберраций в зависимости от генетической активности проб воды.

CITOGENETIC ESTIMATION OF MUTAGENIC ACTIVITY OF DRINKING WATER OF VARIED REGIONS IN THE CISCARPATHIANS

The investigation of drinking water genetics activity from various ecologic zones by ana-thelophase test of root tips cells of *Allium cepa* has been carried out. An increase of it mutagenic activity in high level technogenic pollution regions has been determined. Changes in correlation of mitotic phases and types of aberrations due to genotoxicity of water samples has been detected.

Івано-Франківська державна медична академія