



МОНІТОРУВАННЯ ПОТЕНЦІЙНИХ МУТАГЕНІВ ДОВКІЛЛЯ ЗА ДОПОМОГОЮ РОСЛИННИХ ТЕСТ- ОБ'ЄКТІВ

**Підготувала:
Лазуркевич Христина**



Актуальність теми

- В умовах зростаючого забруднення довкілля мутагенами актуальною проблемою є моніторування його інтенсивності
- Пріоритетне завдання екологічної генетики - пошук тест-систем, які б об'єктивно відображали небезпеку шкідливих чинників у воді та ґрунтах
- Застосування рослинних тест-об'єктів дозволяє прогнозувати віддалені негативні наслідки впливу мутагенів довкілля на живі організми



Мета дослідження:

підвищення ефективності тестування мутагенного забруднення довкілля за допомогою нових рослинних тест-об'єктів

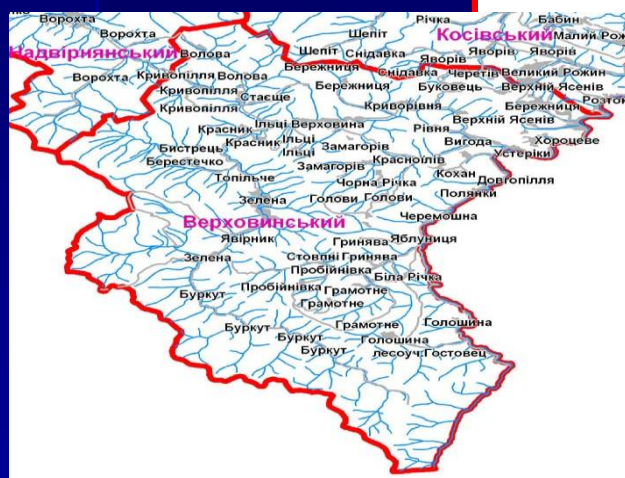
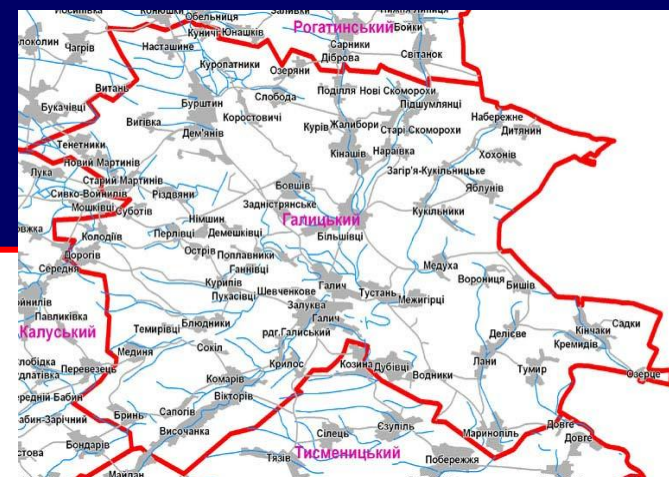
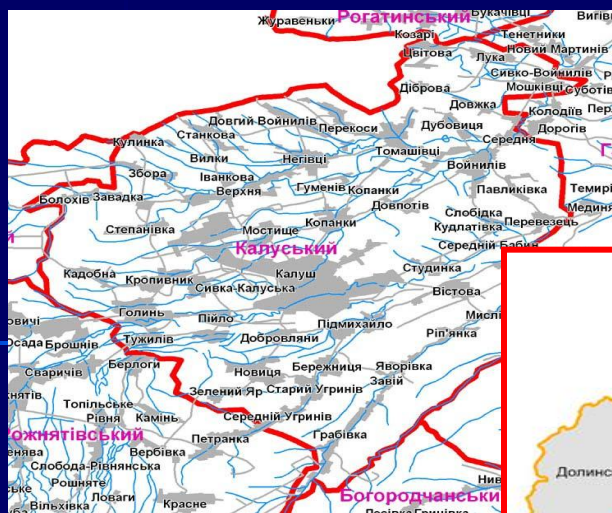


Об'єкт дослідження

Зразки води та однотипних дерново-підзолистих ґрунтів:

I – з Верховинського району (умовно екологічно чиста зона);

II, III, IV, V і VI – з хімічно забруднених територій міст Калуша, Бурштина, Івано-Франківська, Коломиї та Снятина.

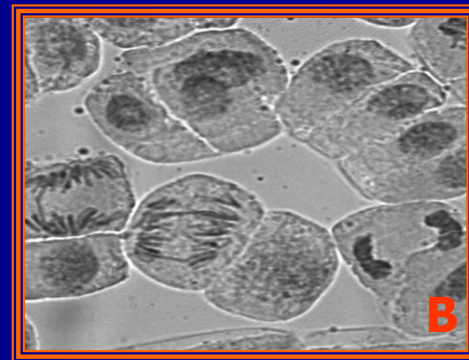
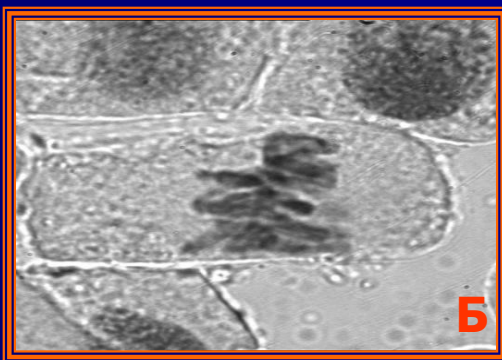
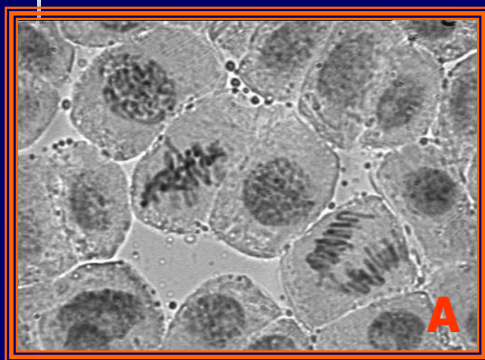


Досліджувані райони

Матеріали і методи

ТЕСТ - ОБ'ЄКТИ	ІНДИКАТОРИ
Рослини • <i>Allium cepa</i>	- мітотичний індекс - хромосомні аберації
Трансгенні рослини • <i>Arabidopsis thaliana</i>	- фенотипові показники
Гетерозиготна лінія • <i>Nicotiana tabacum</i>	темні або безбарвні (безхлорофільні) плями - мутація <i>Sulfur</i> гена

Визначення інтенсивності мутагенного фону за допомогою *Allium* *sepa* - тесту, рекомендованого групою експертів ВООЗ, ЮНЕСКО



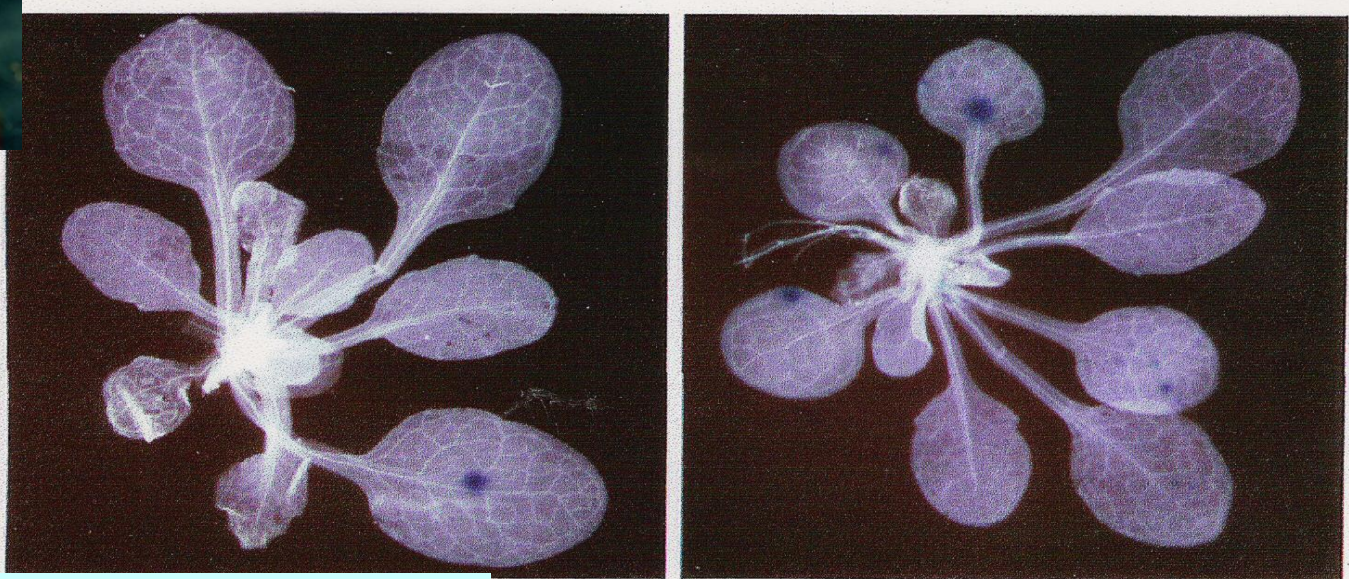
Ана-телофазний аналіз первинних корінців *Allium* *sepa*, пророщених на зразках ґрунтів та води Бурштина (А), Калуша (Б), Івано-Франківська (В)

➔ Ідентифіковано пошкодження на хромосомному рівні: фрагментація, злипання і відставання хромосом, утворення мостів.

➔ Доведено обернену залежність мітотичного індексу в первинній меристемі *Allium* *sepa* від ступеня забруднення зразків ґрунтів.

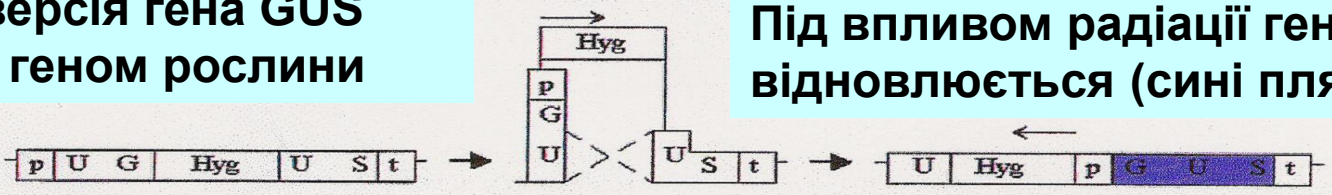


У попередніх дослідженнях разом із швейцарськими науковцями розроблено технологію використання трансгенних рослин *Arabidopsis thaliana* як маркерів забруднення довкілля радіонуклідами

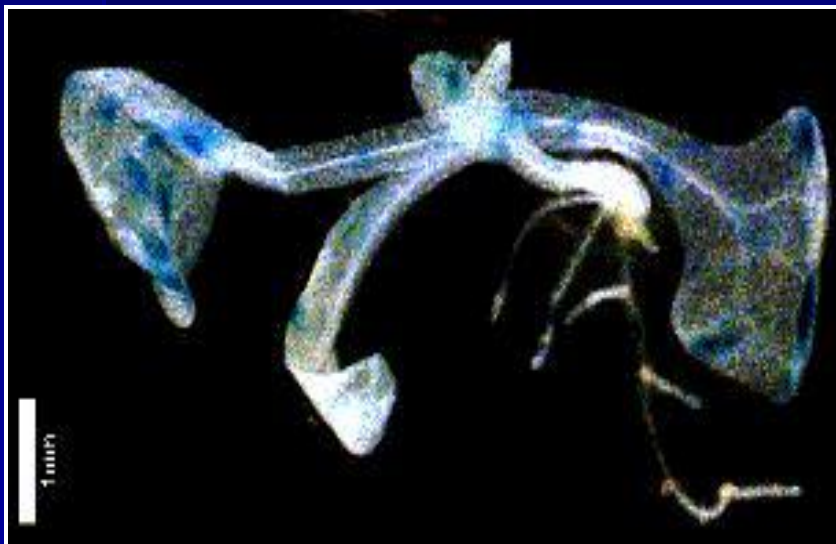
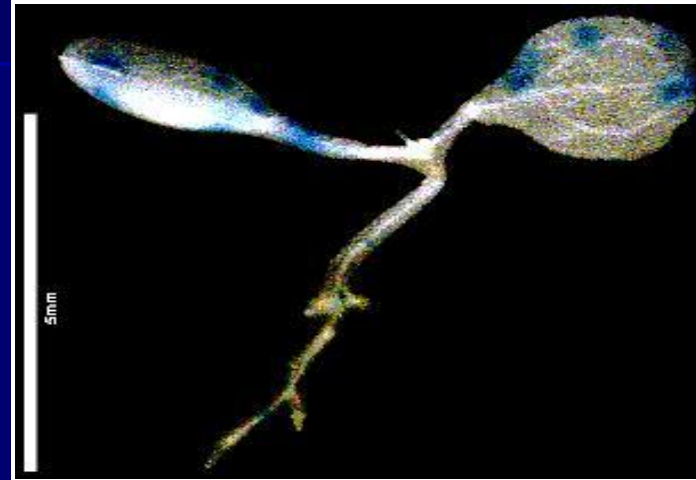
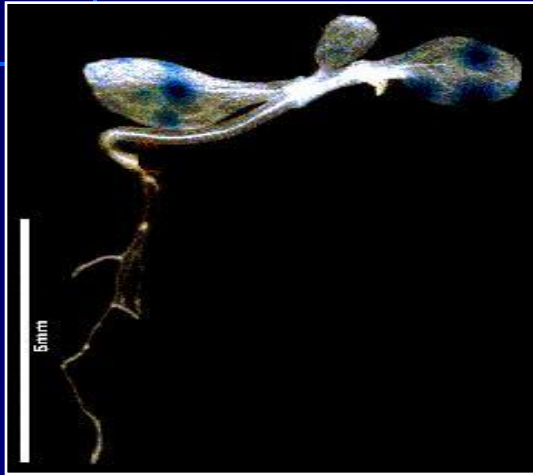


Перервана версія гена GUS вставлена в геном рослини

Під впливом радіації ген відновлюється (сині плями)



Метод виявлення синіх плям вимагає великої кількості вартісних реактивів, тому не може широко впроваджуватися



Нами вперше використано гетерозиготну лінію *Nicotiana tabacum* за геном *Sulfur* (*Su/+*) як тест-об'єкт

Порівняння фенотипових змін *Nicotiana tabacum* і трансгенних рослин

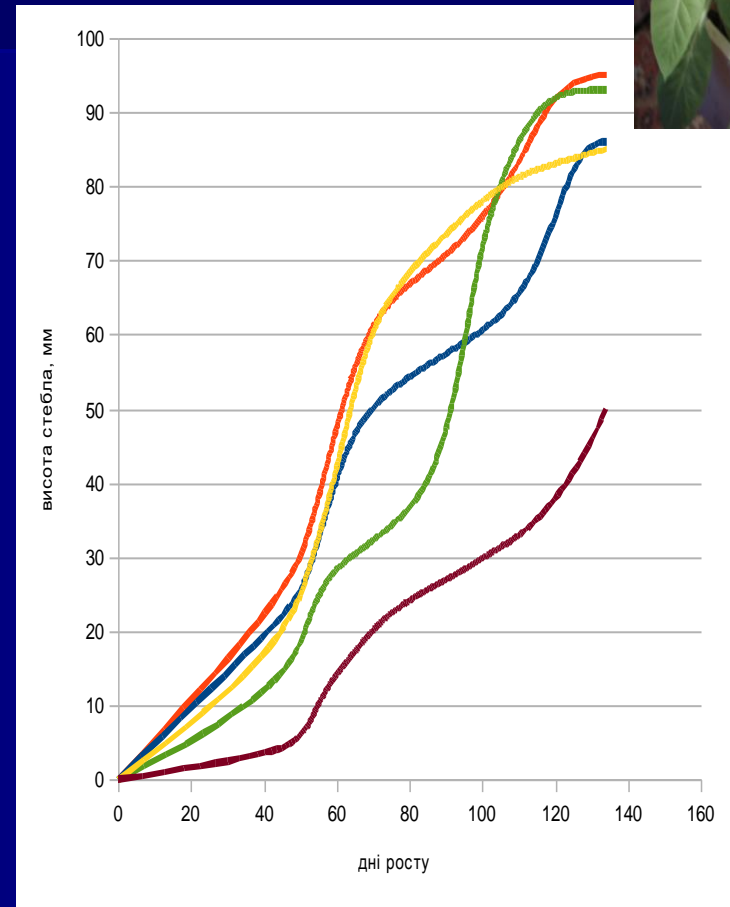
■ Встановлено зниження схожості:

Nicotiana tabacum на хімічно забруднених ґрунтах Калуша та Івано-Франківська: до $61,01 \pm 2,65$; $30,02 \pm 2,00\%$



• Затримка формування розетки на цих же ґрунтах в 1,1 – 1,3 рази

• Зменшення висоти (в 1,47 – 1,52 рази) та діаметру стебла (в середньому в 1,5 рази) *Nicotiana tabacum*



Визначення мутагенів у зразках ґрунтів



- A. *Nicotiana tabacum* рослина дикого типу Big Havana - темно-зелена.
B. Гетерозиготна за геном *Su/+* *Nicotiana tabacum* - світло-зелена.
C. Темні плями (+/+) - пряма мутація.
D. Подвійні плями - twin spot (*Su/Su* / +/+).
E. Світлі плями albino spot (*Su/Su*) обернена мутація.

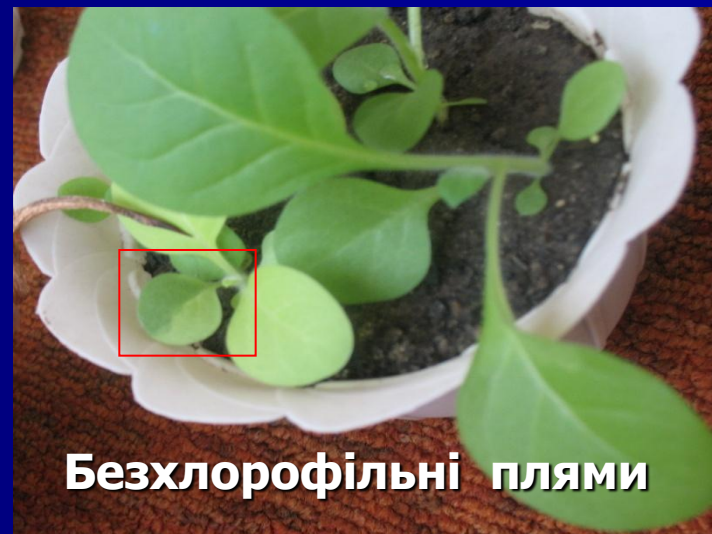
Визначення мутагенів у зразках ґрунтів



- У гетерозиготних рослин *Nicotiana tabacum* Su/+, пророщених на забруднених ґрунтах, під впливом мутагенів відбувається мутація, яка може виявлятися як темно-зелені (пряма мутація) або безбарвні (безхлорофільні) плями (обернена мутація) на світло-зелених гетерозиготних листках рослини.



Темно-зелена пляма



Безхлорофільні плями

- Кількість і площа плям залежить від ступеня забруднення ґрунтів радіоіметичними речовинами.

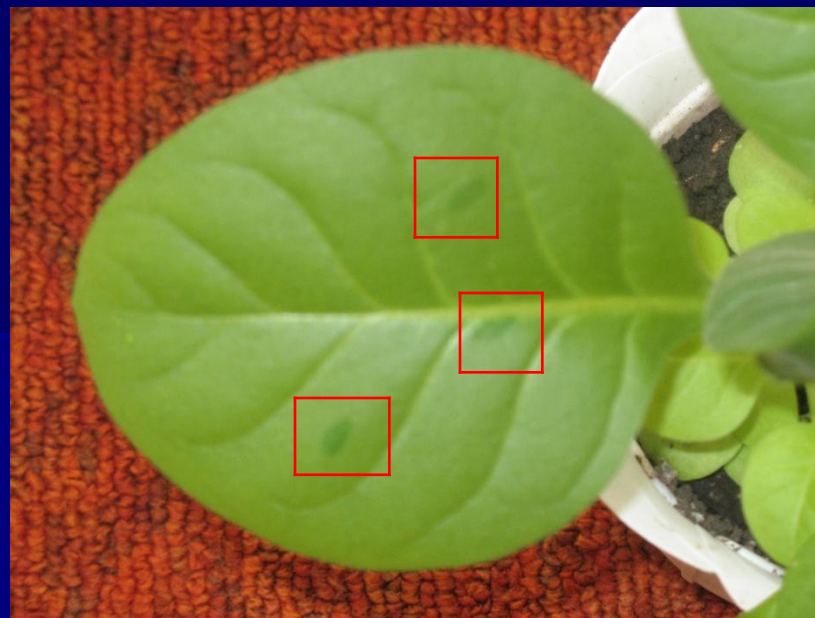
Характеристика плям, які візуалізують мутації на листках гетерозиготних рослин *Nicotiana tabacum* (Su/+), вирощених на зразках ґрунтів з різних районів Прикарпаття

Місце відбору ґрунтів	Роки	Індекс рослин з плямами, %	Кількість плям на рослину	Площа плям на рослину, мм ²	Індекс інтенсивності мутації, %
Контроль	2009	100	3,82±1,08	3,14±0,40	5,24±0,95
	2011	100	5,14±1,08	16,64±2,81	27,51±3,75
м. Калуш	2009	100	27,45±3,98	23,23±4,61	21,10±2,17
	2011	96,14	4,52±1,50	2,25±0,75	0,33±0,09
м. Бурштин	2009	100	2,93±0,51	39,63±3,30	12,66±1,49
	2011	100	43,81±3,35	421,51±96,00	17,10±3,23
м. Снятин	2009	100	4,33±1,12	5,73±2,01	5,84±0,91
	2011	93,33	5,83±1,68	18,33±3,21	4,96±1,62

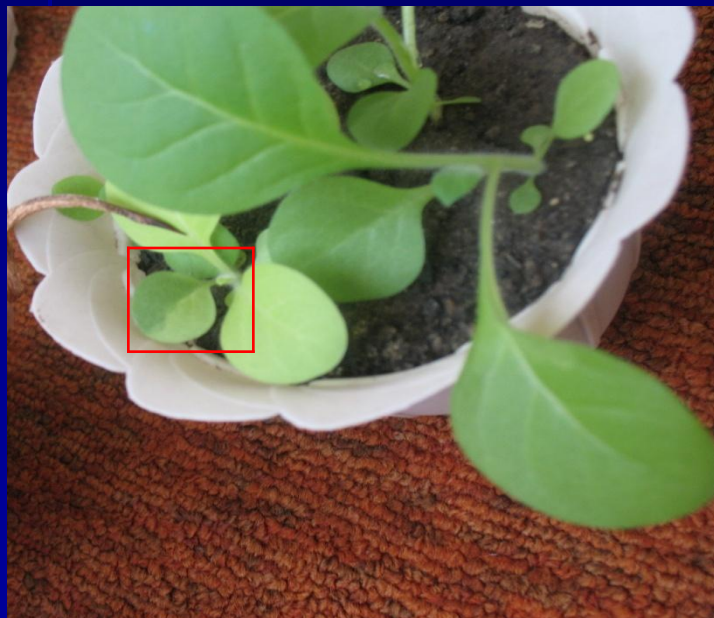
Однофакторний дисперсійний аналіз довів, що статистично значущим (P=1-α=0,95) маркером наявності потенційних мутагенів в ґрунтах є показник площі плям на рослину

**Плями на рослинах,
пророщених на
зразках ґрунтів
Бурштина (А),
Калуша (Б,В)**

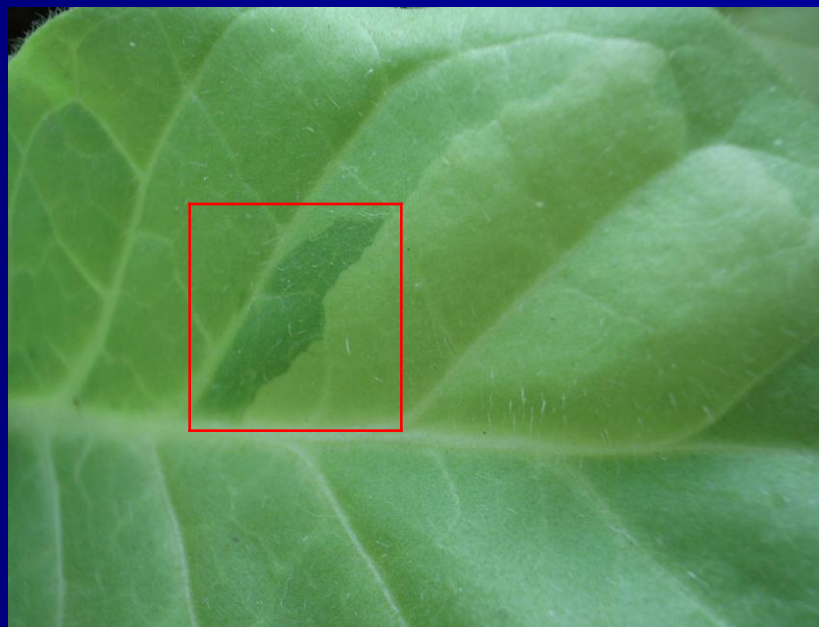
Б



А



В





Висновки



1. Комплексним застосуванням трьох рослинних тест-об'єктів (*Allium cepa*, *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum*) виявлено наявність мутагенів у воді та ґрунтах різних районів Прикарпаття.
2. Доведено залежність цито- і молекулярно-генетичних порушень у тест-об'єктах від інтенсивності забруднення довкілля.

3. За допомогою однофакторного дисперсійного аналізу доведено, що найінформативніші показники мутагенного процесу - кількість та площа плям на рослину.

4. Встановлено ефективність та економічну доцільність застосування гетерозиготних за мутацією *Sulfur(Su)* гена рослин *Nicotiana tabacum* для індикації потенційних мутагенів довкілля.



Дякую за увагу!

