

ЗВІТ
за результатами виконання проєкту
“Апробація системи оцінки впливу воєнних дій на довкілля і здоров’я
людини на прикладі Савинської громади Харківської області”

Частина I
Проведення аналізу токсико-мутагенного фону Савинської громади
Харківської області

Матеріал підготовлено за підтримки Міжнародного фонду «Відродження».
Матеріал представляє позицію авторів і не обов’язково відображає позицію
Міжнародного фонду «Відродження».

Червень, 2025

ЗМІСТ

Вступ

1. Аналітичний огляд існуючих методик оцінки біологічних наслідків впливу військових дій на довкілля, їх апробація та адаптація до завдань проєкту.

1.1. Чинники екологічного впливу у зонах ведення бойових дій.

1.2. Методи біологічної діагностики стану довкілля.

2. Матеріали і методи досліджень.

2.1. Дослідні ділянки і відбір зразків для дослідження.

2.1.1. Відбір зразків ґрунту та його доаналітична підготовка.

2.1.2. Відбір пилку рослин-індикаторів і проведення тесту на стерильність.

2.1.3. Відбір зразків букального епітелію дитячого населення.

2.2. Закладання і проведення експерименту з вивчення цитогенетичної активності і кластогенності ґрунтів.

3. Результати та їх обговорення.

3.1. Гаметоцидність середовища у населених пунктах Савинської громади Харківської області.

3.2. Цитотоксичність та кластогенність ґрунтового середовища за результатами *Allium* сера-тесту.

3.3. Індукція клітин з мікроядрами в оцінці рівня токсикомутагенного фону Савинської громади Харківської області.

Висновки.

Список використаної літератури.

Додатки.

Вступ.

24 лютого 2022 року росія розпочала активну фазу загарбницької війни проти України. Активних бойових дій зазнали території низки областей України, серед яких і Савинська громада Харківської області.

Савинська громада - об'єднана територіальна громада в Ізюмському районі Харківської області. Адміністративний центр - селище Савинці. Площа громади становить 425,2 км². Утворена 12 червня 2020 року шляхом об'єднання Савинської селищної ради та Веселівської, Вишнівської, Залиманської і Морозівської сільських рад Балаклійського району Харківської області. У результаті адміністративно-територіальної реформи та ліквідації Балаклійського району, громада увійшла до складу новоутвореного Ізюмського району. Громада налічує 6 селищ і 12 сіл.

З початком повномасштабної війни громада опинилася у зоні впливу бойових дій, зазнавши масштабний руйнувань та еколого-деструкційних впливів. Найбільш вагомих наслідків завдано громаді в період її окупації: з 2 березня по 10 вересня 2022 року.

Одним із наслідків, які часто не дооцінюють під час війни через дефіцит методик ідентифікація і фіксації, є довгостроковий вплив бойових дій на навколишнє середовище, біоту і здоров'я людей.

Вплив війни на природні комплекси має системний і багатогранний характер. Окрім прямих наслідків, таких як інтоксикація природних середовищ через привнесення широкого спектру токсичних сполук, цей вплив становить пролонговану і віддалену небезпеку, може мати виражені мутагенні і тератогенні ефекти тощо.

В силу природних процесів аеро- та гідродинаміки забруднювачів, такі непрямі екологічні впливи можуть поширюватися за межі територій ведення активних бойових дій і спричинювати генетичний тягар природних популяцій живих організмів.

Оцінка глибини і масштабу таких впливів, а також заподіяних ними збитків довкіллю, ускладнена відсутністю апробованих методологічних підходів. Тому

для фіксації повного спектру екологічних наслідків збройної агресії необхідними є розроблення, затвердження і впровадження уніфікованого алгоритму оцінки біоекологічних і екотоксикологічних наслідків. Основою для його побудови можуть слугувати кращі практики біологічної оцінки антропогенної трансформації довкілля: починаючи від обґрунтування підходів до закладання дослідних ділянок і фонових територій і закінчуючи інтерпретацією та екстраполяцією отриманих даних.

РОЗДІЛ 1

Аналітичного огляд існуючих методик оцінки біологічних наслідків впливу військових дій на довкілля, їх апробація та адаптація до завдань проєкту.

Одним із аспектів російської збройної агресії проти України є шкода, заподіяна довкіллю і біотичним системам - екоцид. Одними з найважчих довгострокових наслідків для екосистем є хімічне забруднення місць масового застосування боєприпасів, розміщення важкої військової техніки, ракетного палива тощо. Інтوكсикація природних середовищ через привнесення широкого спектру токсичних сполук чи знищення біосферних еколого-стабілізуючих об'єктів спричинює також пролонговану і віддалену небезпеку і може мати виражені мутагенні і тератогенні ефекти.

Батокомпонентний характер реальних потоків забруднювачів не дозволяє об'єктивно оцінити екологічний стан територій, які зазнали впливу бойових дій, лише на основі визначення концентрацій окремих інгредієнтів. За такого підходу не врахованими залишаються прямий кумулятивний вплив, синергічні взаємозв'язки між забруднювачами тощо. Об'єктивна оцінка можлива лише за умови використання біологічних, зокрема, цитогенетичних методів екодіагностики. Організми-біоіндикатори та біотестори інтегрують біологічно значимі ефекти забруднення, дозволяють визначити шляхи надходження та місця накопичення в екосистемах різних токсикантів. Вибір методик і об'єктів для біоіндикаційних досліджень потребує диференційного підходу та залежить від фізико-географічних особливостей досліджуваної території; локалізації потенційних джерел впливу та їх потужностей. Слід також додати, що не існує апробованих методик оцінки біологічно і медично значимих наслідків впливу бойових дій з доведеною ефективністю, а тому це дослідження є пілотним проєктом з вираженою новизною та актуальністю.

1.1. Чинники екологічного впливу у зонах ведення бойових дій.

При виборі методик важливо врахувати природу й імовірний механізм джерела впливу на потенційного біологічного реципієнта, в нашому випадку – хімічний склад й особливості застосування боєприпасів.

У сучасних бронебійних підкаліберних снарядах бронебійна частина (сердечник) найчастіше виготовляється зі збідненого урану. Застосування цього металу пов'язано з його фізичними властивостями – здатністю до самозаймання та горіння в результаті зіткнення з бронею та її пробиття. Водночас дрібні уламки уранового сердечника снаряда розповсюджуються та сприяють випалюванню горючих матеріалів або детонації боєприпасів всередині об'єкта, який уражується. Практично до 70% усієї маси збідненого урану, що міститься в снаряді, вигорає і перетворюється під час вибуху на аерозоль радіотоксичних оксидів урану (U_3O_8 , UO_2) із частками від 0,5 до 5 мкм. Значна кількість диспергаційних аерозолів тривалий час знаходиться в повітрі, поступово осідає на поверхні та згодом мігрує в ґрунти та ґрунтові води. Застосування боєприпасів зі збідненим ураном досі не вивчено досконало з точки зору довгострокових наслідків для біоти.

Значний вплив на навколишнє середовище має і токсичний вміст капсулів боєприпасів – пристроїв, призначених для запалювання порохового заряду у вогнепальній зброї, або для детонації зарядів вибухових речовин (наприклад – запал гранати). Вмістом цих капсулів є ініціюючі вибухові речовини.

Зазвичай вміст капсулів представляє собою ударно-запалювальну суміш речовин. Найчастіше компонентами ударно-запалювальної суміші є гримуча ртуть $Hg(ONC)_2$; антимоній Sb_2S_3 (сурма трьохсірчаниста); бертолетова сіль $KClO_3$ (калій хлорат).

Суміш для гвинтівочних патронів містить компоненти в пропорціях: гримуча ртуть : антимоній : бертолетова сіль = 6,7 : 27,8 : 55,5 % мас; для револьверних і пістолетних патронів, відповідно, 25,0 : 37,5 : 37,5 % мас⁶. У запалах до гранат капсуль-детонатор з алюмінієвим корпусом складається з ударної суміші, азиду свинцю ($Pb(N_3)_2$) – 0,2 г і ТНРС (тринітрорезорцинат

свинцю $\text{C}_6\text{H}(\text{NO}_2)_3\text{O}_2\text{Pb}$ – 0,1 г; капсуль-детонатор із мідним корпусом складається з ударної суміші: гримуча ртуть – 0,5 г (0,41 г ртуті).

У запалі типу УЗРГ (уніфікований запал ручної гранати) застосовується азидний капсуль-детонатор. З урахуванням молекулярної маси речовин можна обчислити, що в одному капсулі-детонаторі запала типу УЗРГ міститься орієнтовно 200 мг свинцю. Також варто враховувати, що в боєприпасах застосовується значна кількість додаткових стабілізуючих та ініціюючих речовин, серед яких олово та його сполуки, бісмут та його сполуки (оксид бісмуту, карбонат бісмуту, нітрат бісмуту та ін.), нітрат стронцію ($\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$), магнієвий порошок та багато інших. Завдяки розумінню складових частин та вмісту боєприпасів, можна передбачити значні викиди різноманітних забруднюючих речовин, які утворюються внаслідок їхнього застосування.

Серед озброєння, яке активно застосовується росією по всій території України, є ракети різного типу. Наприклад, ракети, що випускаються реактивними системами залпового вогню (РСЗВ), та великі крилаті ракети дальніх дистанцій (Х-22, Х-101, Х-555, «Калібр», «Іскандер» та ін). Це сотні й тисячі кілограмів хімічних речовин, які і при повному згорянні і при потраплянні решток у навколишнє середовище несуть значне забруднення та є токсичними для всього живого. Саме тому до решток ракет небезпечно наближатися. Одним із факторів небезпеки є залишки ракетного палива від збитих ракет, що залишаються в місці падіння.

Спалювання або утилізація баліститних ракетних палив, що використовуються у РСЗВ (типу «Ураган», «Град» та ін), супроводжується утворенням низки токсичних компонентів: CO , HCN , NO , NO_2 та ін. Сvineць у продуктах горіння або вибуху твердого ракетного палива присутній у вигляді аерозолів свинцю та його оксиду PbO . Загалом спалювання або утилізація твердого ракетного палива призводить до утворення: CO до 416,2 г/кг, C до 86,4 г/кг, Pb до 6,7 г/кг, PbO до 1,8 г/кг, NO до 161,6 г/кг, NO_2 до 2,9 г/кг, CH_4 до 55,0 мг/кг, NH_3 до 0,3 г/кг, HNO_2 до 0,4 г/кг, HCN до 5,2 г/кг. До цієї суміші додається суміш продуктів підризу ініціюючих вибухових речовин (які застосовуються для підризу основної вибухової речовини у ракеті) та самої

вибухової речовини бойової частини ракети. Також токсичними є продукти горіння електроніки, якою обладнані ракети.

Варто відзначити постійне застосування російськими військами боєприпасів з білим фосфором. У військовій справі білий фосфор використовується у мінометних та артилерійських снарядах, авіабомбах та гранатах. Під час горіння білого фосфору в повітрі утворюються білий дим, який складається переважно з триоксиду (P_4O_6) та пентаоксиду (P_4O_{10}) фосфору. Утворені оксиди фосфору є надзвичайно гігроскопічними і швидко поглинають навіть незначні сліди вологи, утворюючи фосфоровмісні кислоти, такі як ортофосфорна (H_3PO_4), пірофосфорна ($H_4P_2O_7$), ортофосфориста (H_3PO_3), гіпофосфорна (H_3PO_2), поліфосфорні кислоти загальної формули $H_n+2P_nO_{3n+1}$ (де $n = 2 - 8$) та ряд інших лінійних і циклічних поліфосфатів P6-P16. Композиція диму білого фосфору змінюється із часом. В умовах недостатньої кількості кисню під час горіння білого фосфору може утворюватися фосфін (PH_3).

Крім забруднення «коктейлем» хімічних сполук, що містяться у боєприпасах, величезну шкоду несуть і непрямі наслідки їх застосування: руйнація та вигорання будівель, підприємств, об'єктів критичної інфраструктури. Аналіз техногенних катастроф, які виникають на території України внаслідок обстрілів чи не щодня з початку російського вторгнення, показує, що переважними цілями для російської федерації є нафтобази, електростанції, інфраструктура зв'язку та великі промислові підприємства, які забезпечують економіку та обороноздатність нашої країни. Пожежі та вибухи у таких локаціях – це кожного разу окрема екологічна катастрофа. Наприклад, вигорання електрообладнання призводить до важких забруднень навколишнього середовища поліхлорованими біфенілами (ПХБ) та діоксинами. Діоксини утворюються при термічному впливі на поліхлоровані біфеніли (при температурах нижче $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Значний, хоч і непрямий, вплив на формування екологічної кризи, є фізичне знищення природних екосистем і природно-заповідних територій, які виконують у тому числі еколого-стабілізуючу функцію для цілих регіонів. Пряме потрапляння снарядів на територію природних екосистем призводить до

фізичного знищення екосистем або окремих їх компонентів, внаслідок чого гине рослинний покрив, тваринний світ та їх оселища в зоні ураження. Також змінюється мікрорельєф місцевості, вносяться забруднювальні речовини, відбувається температурний вплив внаслідок пожеж тощо. Механічного та хімічного забруднення зазнають земельні ресурси, які є середовищем існування ґрунтових організмів. В результаті кожного обстрілу, окрім впливу самого снаряду, відбувається засмічення земельних ресурсів уламками будівель та обладнання, компонентами або частинами продукції та її пакування, розливу рідких компонентів, в тому числі токсичних.

Враховуючи вище наведене, можна з впевненістю констатувати необхідність застосування методів біотестування для об'єктивної оцінки впливу бойових дій на довкілля. Оскільки більшість чинників впливу мають потенційну мутагенну і цитотоксичну дію, оцінка генетичного тягаря популяцій має стати обов'язковою складовою комплексно алгоритму фіксації наслідків воєнних дій.

1.2. Методи біологічної діагностики стану довкілля

Поряд із інструментальними методами оцінки забруднення природного середовища доцільно використовувати біологічні методи діагностики, які базуються на адекватному відображенні живими організмами умов середовища, в яких вони розвиваються і на зміну яких відповідним чином реагують (біотестування і біоіндикація). Методи біотестування дозволяють діагностувати стан екосистеми за реакціями-відгуками живих організмів на стресові впливи. Екологічна діагностика на рівні біотестування дає інтегральну адекватну оцінку якості середовища існування будь-якої популяції, включаючи людину.

Біотести звично використовують для неперервного експрес-контролю стану оточуючого середовища промислових районів і природно-господарських комплексів, контролю залпових і хронічних викидів підприємств, для оцінки ефективності методів детоксикації оточуючого середовища та роботи очисних споруд, для екологічної паспортизації підприємств і окремих районів тощо.

Разом з тим саме ці методи можуть бути ефективно впровадженні в алгоритм оцінки впливу військових дій на довкілля з метою оцінки біологічно і медично значимих ефектів, спричиненого ними забруднення.

Біотестування розглядається більшістю авторами як методичний прийом, що базується на оцінці чинників впливу на живі організми чи їх окремі функції; процедура встановлення токсичності окремих хімічних сполук, зразків води, ґрунту та повітря для біологічних об'єктів, яка ґрунтується на кількісній оцінці зміни життєво важливих функцій, виявленні летальної дії та мутацій у біооб'єктів (тест-об'єктів або тест-культур), що проводиться лабораторно або в умовах *in situ*. Важливими характеристиками тест-систем є чутливість до дії стресорів, відтворюваність результатів, можливість роботи на рівні малих доз факторів, економічність скринінгу тощо. Цей метод є пріоритетним при здійсненні оцінки екологічного стану територій.

Окремі автори розглядають біотестування як метод моделювання наслідків впливу деякого фактора, що володіє загально біологічною дією. Головне завдання, яке вирішує біотестування - дати швидку відповідь на запитання: присутня чи відсутня токсичність.

Біотестування трактують як методичний прийом, при якому про якість середовища судять по виживанню, стану і поведінці спеціально поміщених в це середовище організмів – тест-об'єктів. Використання біологічних тест-систем дозволяє визначати зміни в тест-системах на дуже ранній стадії, коли вони ще не проявляються у вигляді морфологічних чи структурних змін, і їх неможливо виявити іншими методами. Це дозволяє вчасно вживати попереджувальних заходів щодо порушення екосистем. Крім того, стан біоіндикаторів можна використовувати як додаткову інформацію при оцінці здоров'я населення. Кумулятивний ефект різноманіття впливів можна оцінити виключно методами біотестування.

При проведенні біологічного тестування на рівні організмів вибір біологічних змінних передбачає, що відгук повинен корелювати зі змінами на екосистемному рівні. Виявити таку закономірність на практиці доволі складно. Проте такі особливості організмів, як ріст особин чи окремих органів, їх

продуктивність, виживання тощо вдало використовуються в практиці біологічного контролю якості середовища.

Особливе місце займають досліджені, присвячені вивченню біологічного ефекту забруднення середовища важкими металами. Так, при оцінці токсичності міських ґрунтів, що містять підвищені концентрації кадмію, свинцю, цинку, нікелю, хрому, кобальту тощо проведено ряд дослідів по біотестуванню методом проростків тест-рослин. В якості чутливих до перелічених токсикантів організмів автори використовували крес-салат, пшеницю та овес. Виявилось, що крес-салат проявляє максимальну чутливість до забруднення свинцем, а пшениця – кадмієм та цинком.

Окрім дослідів із пророщення насіння на ґрунтах, що тестуються проводять і ростові досліді, що полягають у вирощуванні стандартизованих видів чи основних едіфікаторів фітоценозів у досліджуваному середовищі існування.

Характерною особливістю сумарного впливу хімічних забруднювачів є зростання генетичної напруги середовища. З огляду на це, значної актуальності набули зараз дослідження цитотоксичності та кластогенності ґрунтів. Тому розробка та вдосконалення тест-систем для виявлення мутагенності середовища, які мали б універсальний характер є важливими завданнями сучасної екології, зокрема з огляду на оцінку впливу чинників, пов'язаних з війною.

З метою скринінгу на мутагенність речовин проводиться велика кількість досліджень в умовах лабораторій. Описано більше сотні тест-методів для виявлення генотоксичності, що проводяться на біооб'єктах різних таксономічних рангів – від бактеріофагів до ссавців. Регулярно застосовується менше 20 з них, а деякі доступні лише спеціалізованим лабораторіям. Всі ці методи базуються на ідентифікації певних типів генетичних пошкоджень. Вони відрізняються за чутливістю й екстраполятивністю отриманих даних з одних тест-об'єктів на інші та на людину. Останнє пов'язане з відмінностями в організації спадкового апарату і особливостями метаболізму ксенобіотиків у різних біологічних видів.

Для комплексної оцінки генетичної небезпеки найбільш розповсюджених та широковживаних сполук розроблені 2-ох і 3-ох ступеневі схеми, де використовують цілі батареї тест-систем, близькі до ідеальних.

В практичній роботі добре зарекомендували себе рослинні тест-системи. Рослини дають змогу дослідити цито- і генотоксичність ґрунту, поєднати швидку зміну поколінь з великою кількістю нащадків та універсальністю генетичного коду. Окрім того, вони мають економічні переваги: матеріально доступні і не потребують спеціальних умов у використанні та рекомендовані в еколого-генетичних дослідженнях.

Групою експертів Міжнародної комісії із захисту від мутагенів оточуючого середовища при проведенні еколого-генетичних досліджень рекомендується *Allium* сера – тест, як валідний, адекватний та достатньо прогностичний для проведення досліджень на генотоксичність в різних умовах (*in vivo*, *in situ*, *in vitro*). Перевагою цього методу цитогенетичного моніторингу є відносна швидкість та інформативність, добра кореляція його результатів з отриманими в інших тест-системах. *Allium*– тест дає можливість вивчити цитогенотоксичність та документувати результати мікроскопічними дослідженнями хромосомних аберацій і ядерних аномалій.

В літературних даних вказується, що при встановленні кластогенності та цитотоксичності середовища доцільно використовувати таку тест-ознаку, як мікроядерний тест. Він дозволяє виявити ацентричні хроматиди і хромосомні фрагменти, які зберігаються у дочірних клітинах у вигляді мікроядер. На відміну від інших цитогенетичних методів, мікроядерний тест дозволяє проводити оцінку рівня хромосомних порушень за аналізом інтефазного ядра, тобто не вимагає наявності клітин в мітозі.

У літературі зазначається, що для адекватної та інтегральної оцінки цито- та генотоксичності факторів середовища потрібно також звернути увагу на посилення або пригнічення мітотичної активності, затримку клітин на стадії профазі або метафазі мітозу, заміну мітозу на амітоз, зміну співвідношення кількості клітин у фазах мітозу.

Крім цибулі, як об'єкти для виявлення хромосомних порушень використовувалися *Pisum sativum* L., *Zea mays* L., *Vicia faba* L. тощо.

Ефективним маркером процесів, пов'язаних з індукцією пошкодження ДНК, є мікроядерний тест букального епітелію. Переваги мікроядерного методу полягають у тому, що він дає можливість обліку не тільки цитогенетичних ефектів впливу факторів, але й інших каріологічних змін, що характеризують проліферативну активність тканини та процес загибелі клітин [4]. Частота виникнення мікроядер є мірою руйнування хромосом в ранніх клітинних поділах. Тест може одночасно виявляти мітотичну затримку, апоптоз, поломку хромосом і їх втрату [6]. Мікроядерний тест є ефективним методом біомоніторингу для виявлення підвищеного мутагенного ризику. Клітини слизової оболонки щоби є першою лінією контакту з багатьма небезпечними сполуками, вони мігрують до поверхні протягом 5-14 днів і можуть проявляти ядерне пошкодження в цей час. Більш імовірно, що саме ці клітини постраждають від пошкодження, перш ніж відобразити системний стан. Букальні клітини мають обмежену здатність до відновлення ДНК в порівнянні з лімфоцитами периферичної крові, тому можуть більш точно відображати геномну стабільність в епітеліальній тканині [9].

Для просторової характеристики сукупного впливу мутагенів різної етіології використовується поняття «мутагенний фон» і розробляються основні критерії регіонального картування за цим показником. Головна увага звертається на розповсюдженість мутагенного впливу, його тривалість і вираженість мутагенних ефектів. На основі останнього критерію стан території може бути охарактеризований як сприятливий, конфліктний, критичний чи небезпечний.

Розвиток цієї ідеї має місце в працях А.І. Горової і співавторів, які пропонують свій методологічний підхід щодо оцінки мутагенного фону й генетичного ризику для біоти при дії мутагенних екологічних факторів. Вони вважають, що ідеальною системою еколого-генетичного моніторингу могла би стати практика виявлення всіх типів мутацій в організмів на різних рівнях організації. Пошук і застосування різнорівневих біомоніторів із наступною екстраполяцією отриманих результатів на популяційні процеси визначається як

найбільш перспективний напрям у системі біомоніторингу. Мутагенний фон згаданими авторами встановлюється за значенням інтегрального показника ушкодженості біоіндикаторів, який враховує часткові показники генних, хромосомних і функціональних порушень. Виходячи із цього параметра за спеціальною шкалою можна оцінити мутагенний фон і стан генофонду як сприятливий, насторожуючий, конфліктний, загрозливий, критичний чи небезпечний. Запропонований метод покладений в основу уніфікованої оціночної шкали, що характеризує стан об'єктів довкілля за токсико-мутагенним фоном.

У довкілля внаслідок ведення військових дій здатні спричинювати також віддалені наслідки, зокрема, проявляти гаметоцидну дію. Особливо цінні дослідження гаметоцидних властивостей полютантів виконані в умовах *in situ*, оскільки фактичний мутагенний потенціал полютантів у довкіллі може істотно відрізнятись від виявленого за допомогою лабораторного скринінгу. Тому перспективним підходом в індикації мутагенної напруженості навколишнього середовища є дослідження репродуктивних структур вищих судинних рослин, насамперед чоловічого гаметофіту. Більшість індукованих полютантами мутацій є рецесивними й проявляються в гаплоїдних пилкових клітинах чи зародках при ембріональному розвитку насіння. Мейоз виконує роль своєрідного бар'єру у передачі потомству деяких типів таких мутацій, у результаті чого утворюється стерильний пилочок і нежиттєздатне насіння.

Таким чином, найвагомішими критеріями в оцінці дії забруднювачів є кількість аномальних мейотичних клітин і стерильність пилкових зерен. Найпоширенішим методом визначення стерильності пилку є виявлення безкрохмальних пилкових зерен. Проте наявність крохмалю не гарантує життєздатності, оскільки процес інгібування проростання пилкової трубки може бути зумовлений порушенням синтезу будь-якої іншої біологічно активної речовини. З іншого боку, пилкові зерна, які несуть спермії, не завжди фертильні, навіть якщо вони містять крохмаль. Для об'єктивної оцінки гаметоцидності комплексу урботехногенних факторів, доцільним є виявлення інгібіції процесів проростання пилку та росту пилкової трубки.

Підхід, за яким оцінка токсико-мутагенного фону проводиться за поєднанням пилкової індикації та Allium-тесту покладена в основу методики, рекомендованої МОЗ України (Наказ МОЗ України № 116 від 13.03.07) щодо оцінки і градації територій за рівнем генетичної напруги середовища (токсико-мутагенного фону). Мутагенний фон при цьому установлюється за значенням інтегрального показника ушкодженості біоіндикаторів, який враховує часткові показники генних, хромосомних і функціональних порушень і визначає рівні екологічної небезпеки для людини та біоти.

Отже, для характеристики екологічного стану урбоекосистем за токсико-мутагенним фоном можна запропонувати логічну схему її здійснення:

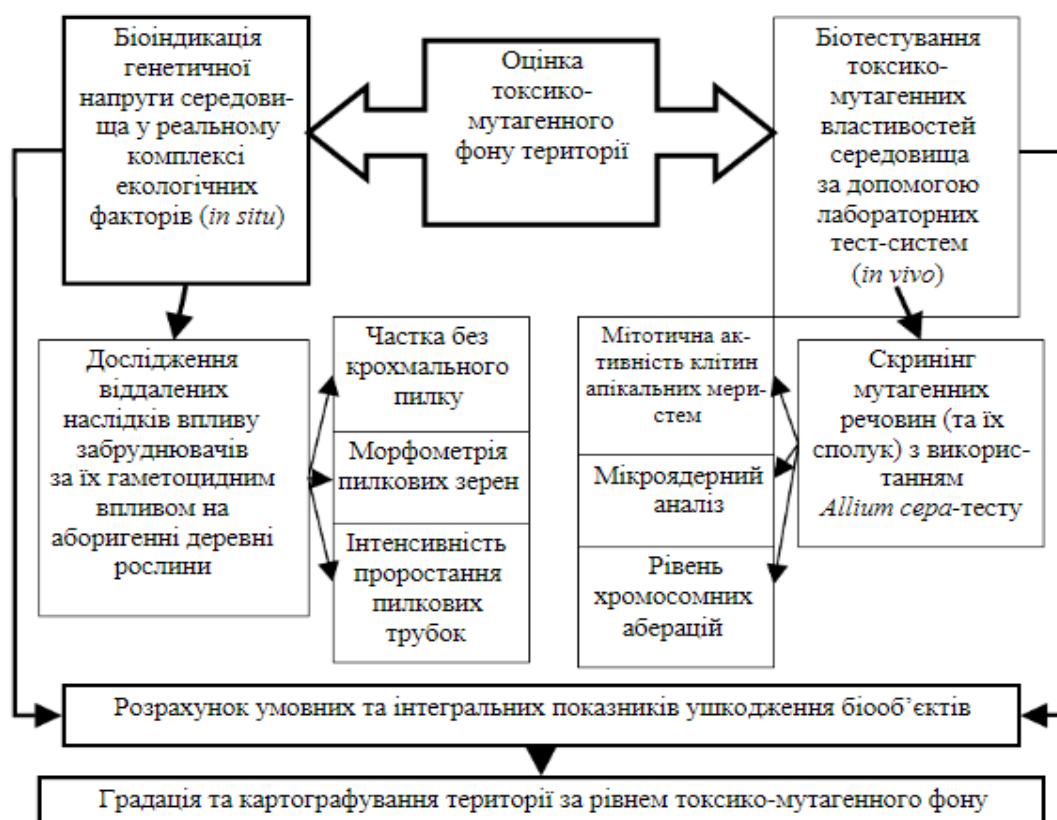


Рис. 1. Алгоритм оцінки токсико-мутагенного фону територій

Отже, оцінка токсико-мутагенного фону територій повинна включати лабораторний скринінг із використанням рослинних тест-систем і біоіндикацію генетичної напруги в умовах *in situ* шляхом установлення гаметоцидного впливу на деревні рослини.

РОЗДІЛ 2

Матеріали і методи досліджень

2.1. Дослідні ділянки і відбір зразків для дослідження.

З урахуванням поточної безпекової ситуації, фізико-географічних умов території, функціонального зонування закладено 12 дослідних ділянок:

- 11 - на території Савинської громади (рис. 2);
- 1 - (в якості фонової) - на території Галицького НПП (Галицький район, Івано-Франківської області).

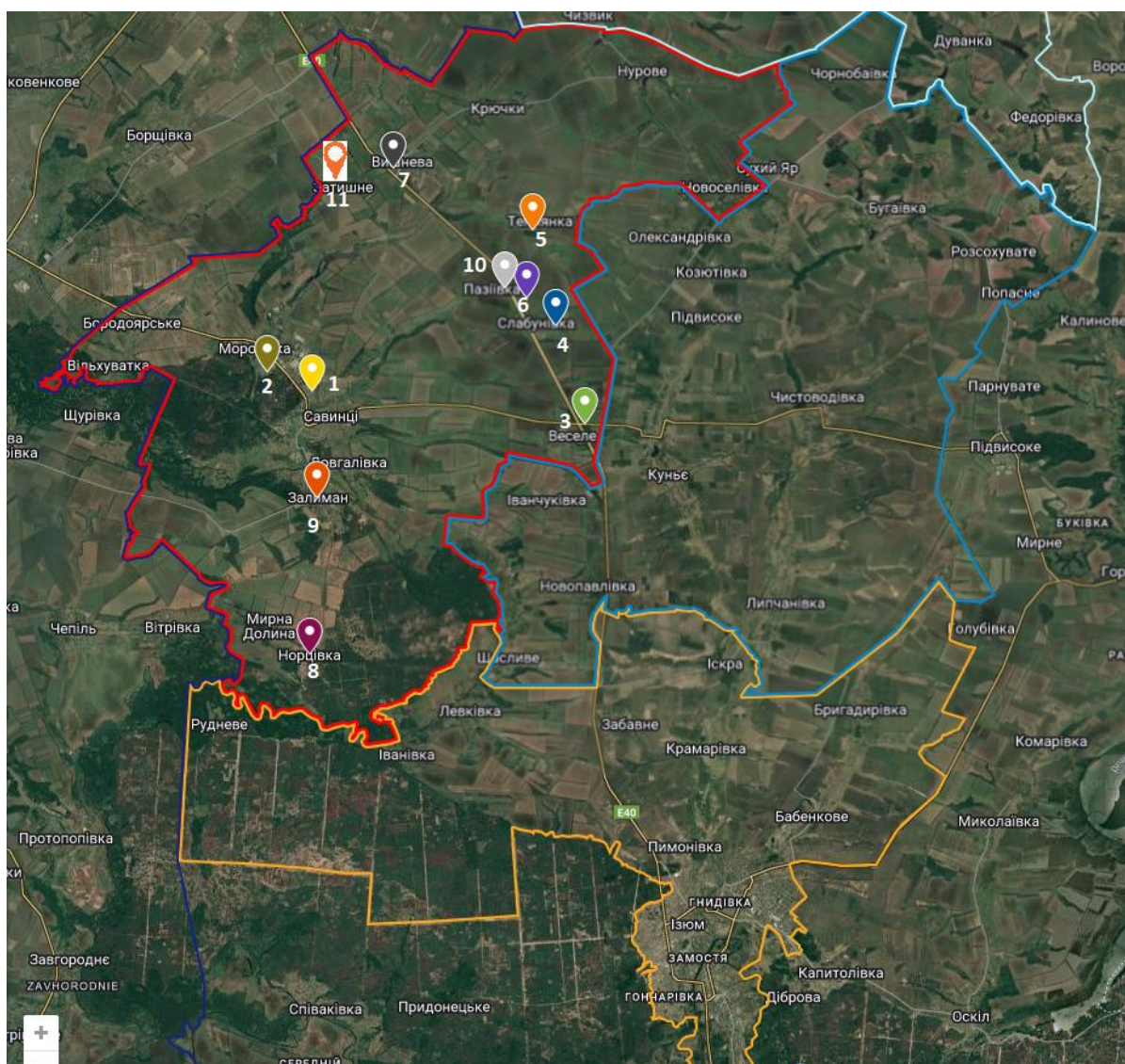


Рис. 2. Карта-схема розміщення дослідних ділянок у межах Савинської громади Харківської області: 1 - селище Савинці; 2 - с. Морозівка; 3 - селище

Веселе; 4 - с. Українка; 5 - селище Теплянка; 6 - с. Сдабунівка; 7 - с. Вишнева; 8 - с. Норцівка; 9 - с. Залиман; 10 - Пазіївка; 11 - с. Затишне.

Місця закладання дослідних ділянок ґрунтувалися на попередньому оцінюванні територій, включаючи вивчення впливу воєнно-техногенних чинників, рекогносцирувальні візити, функціональне призначення територій у довоєнний період і на поточний момент часу, наявність деформацій ґрунтового покриву і засмічення тощо. Враховували також дистанційних зондувань місцевості. Притримувалися трьохкратної повторності відбору проб у межах ділянок.

2.1.1. Відбір зразків ґрунту та його доаналітична підготовка.

Відбір зразків ґрунту експериментальних досліджень здійснювали впродовж ранньовесняного періоду 2025 року на визначених дослідних ділянках у зонах комплексного озеленення.

Змішані ґрунтові проби відбирали методом «конверта» 5×5 м за існуючими методиками відповідно до вимог державного стандарту № 17.04.3.01.83 та № 17.4.4.02.84 з урахуванням ґрунтових, ландшафтних й геоморфологічних особливостей території.

Кампанія з відбору проб проводилася, виходячи з ключової мети дослідження: оцінки токсико-мутагенного фону території та установлення перспективності застосування цього показника як додаткового критерію оцінки екологічних наслідків військових дій. Відповідно, при відборі первинних проб уникали локальних імпактних джерел потенційного впливу, а розташування дослідних ділянок мало рівномірний характер. Через внутрішню мінливість ґрунтів такий підхід має високу статистичну точність. Кожна аналізована у подальшому проба ґрунту була змішаного типу і відбиралася методом “ящика” або “конверту” відповідно до вимог державного стандарту № 17.04.3.01.83 та № 17.4.4.02.84 та з урахуванням досвіду арії США (згідно літературних джерел відкритого доступу).

Змішані проби ґрунту відбирали у пакети з пергаменту методом конверта (у 5-ти точках у межах кожної дослідної ділянки (кути і центр квадрата з стороною близько 10 м) (рис.3) викопується поверхневий шар ґрунту розміром $15 \times 15 \text{ см}^2$ на глибину до 10 см.

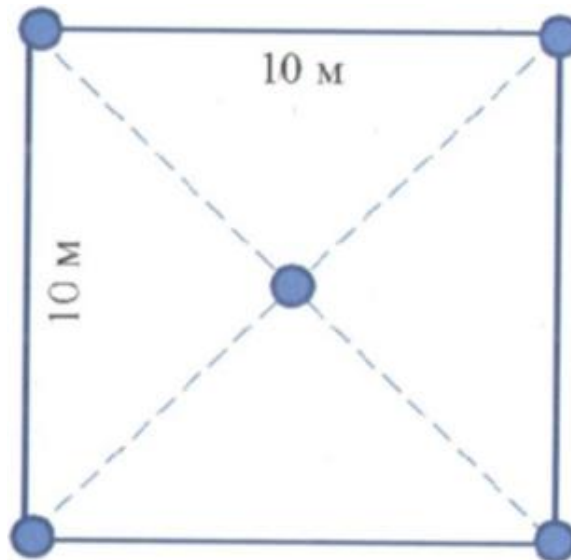


Рис. 3. Ілюстрація схеми відбору проб ґрунту для подальшого тестування на цитотоксичність і кластогенність

На доаналітичному етапі роботи з ґрунтами згідно стандартів з ґрунту першочергово видаляли наземні та кореневі частини рослин, уламки порід і сторонніх включень. Далі готували середню пробу у лабораторних умовах шляхом висушування первинної проби і доведення її до повітряно-сухого стану. Для цього первинну пробу добре змішували і проводили квадратування.

Далі проводили гомогенізацію ґрунтової середньої проби у фарфорових ступках до досягнення ступеня подріблення до досягнення часток менше 1 мм (рис. 4).



Рис.4. Приготування ґрунтових зразків до подальшого аналізу на гено- та цитотоксичність.

2.1.2. Вибір пилку рослин-індикаторів і проведення тесту на стерильність.

В якості індикаторів обрано види рослин, які в достатній кількості наявні на обраних у результаті рекогносцирувального обстеження дослідних ділянках і які належать до весняної хвилі палінації:

- Клен ясенелистий (*Acer negundo* L.);
- Пшінка весняна (*Ficaria verna*);
- Береза повисла (*Betula pendula* Roth.);
- Абрикос звичайний (*Prunus armeniaca* Lam.);
- Слива розлога (*Prunus cerasifera* Ehrh.);
- Верба ламка (*Salix fragilis* L.)
- Терен колючий

Рослини зазначених видів були представлені у зелених посадках на дослідних і фоновій території у репрезентативній кількості і в задовільному санітарному стані.

Ідентифікацію фертильних і стерильних пилових зерен проводили йодним методом, що ґрунтується на якісній реакції на крохмаль. Відомо що фертильні і стерильні пилові зерна значно відрізняються за вмістом цієї сполуки у своєму складі. Даний показник характеризується значною мінливістю в неоднорідних екологічних умовах, що визначає його значну біоіндикаційну інформативність.

Йодний розчин готували за рецептом Грама. Стерильність встановлювали на тимчасових давлених препаратах, приготовлених за стандартною цитологічною методикою. Переглядали по 100 – 500 зерен від однієї особини кожного виду.

Для зручності аналізу в кожному варіанті обчислювали коефіцієнт стерильності ($K_{сп}$) за формулою (1):

$$K_{сп} = \frac{C_{зд}}{N_{\delta}} \cdot C_{фг} \quad (1),$$

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

Цитологічний аналіз проводили під мікроскопом Olympus CX-300 з використанням програмного продукту Quick PHOTO MICRO 2,3 for Windows. Мікрофотографування здійснювали за допомогою інтегрованої в мікроскоп фотонасадки Olympus SP – 500 UZ при збільшенні мікроскопа 1000x та програмного забезпечення Quick PHOTO MICRO 2,3 for Windows (Olympus).

2.1.3. Вибір зразків букального епітелію дитячого населення.

У дослідженні порівнювали зустрічальність аномалій ядер епітеліоцитів у дітей молодшого шкільного віку, які постійно проживають на досліджуваній і фоновій територіях. До вибірки включали дітей без хронічних і гострих захворювань.

Зіскоб слизової щоки проводили одночасно, готували мазок і забарвлювали ацетоорсеїном. На основі проаналізованих літературних джерел методик виготовлення препаратів, що використовуються різними авторами, можна привести до єдиного зразка:

- 1) перед приготуванням препаратів досліджувані особи прополіскують рот водою;
- 2) стерильним одноразовим шпателем проводять зіскоб слизової оболонки щоки вище лінії змикання зубів;
- 3) взятий матеріал наносять на скло та висушують на повітрі з подальшим фарбуванням для мікроскопічного дослідження.

2.2. Закладання і проведення експерименту з вивчення цитогенетичної активності і кластогенності ґрунтів.

Для встановлення цитогенетичної активності та цитотоксичності комплексу ґрунтових факторів як тест-систему використовували 3 – 4 - денні проростки *Allium cepa* L. У модельному експерименті насіння цибулі пророщували в стандартизованих умовах на ґрунтовій суміші (1 г), зволоженій дистильованою водою (5 – 7 мл). Паралельно, згідно вимог виконували негативний контрольний експеримент (на дистильованій воді).

Первинні корінці зрізали на стадії найвищої мітотичної активності (8 – 10 год ранку) та фіксували в суміші Кларка: етанол : льодяна оцтова кислота (3:1) протягом 24 годин і переносили в 70% етиловий спирт для зберігання. Фарбування проводили ацетокарміновим методом. З корінців готували давлені препарати загальноприйнятим методом.

Наступним кроком було оцінювання цитотоксичного впливу за наступними критеріями:

- зміна мітотичної активності клітин досліджуваних тканин;
- відносна тривалість кожної з фаз мітозу;
- кількість хромосомних порушень у піддослідних модельних системах відносно контролю;
- мітотичний індекс.

Оцінку зазначених цитологічних параметрів здійснювали наступним чином:

1. Мітотичну активність, тобто відношення числа мітотичних клітин до загального числа досліджуваних клітин у тканині ми визначали через мітотичний індекс (МІ), виражений у відсотках – число мітозів на 100 розглянутих клітин (не менше 1000 для одного ґрунтового зразка).

Таким чином, мітотичний індекс вираховували, користуючись формулою:

$$MI = \frac{(I + \Pi + M + A + T)}{I + \Pi + M + A + T} \times 100\% \quad (1),$$

де, Π – число клітин у профазі; M - число клітин у метафазі; A - число клітин у анафазі; T - число клітин у телофазі; I - число клітин у інтерфазі.

2. Відносну тривалість кожної фази мітозу визначали у відсотках за формулою, яка, наприклад, для профазі має наступний вигляд:

$$\Pi = \frac{\Pi \times 100\%}{\Pi + M + A + T} ; \quad (2)$$

3. Підрахунок аберацій хромосом проводили ана-телофазним методом. На кожному препараті переглядали всі наявні ана-телофази, але не менше, ніж 300 ана-телофаз для одного ґрунтового зразка. Індекс хромосомних порушень (аберацій) визначали як відсоток аберантних анафаз до загального числа клітин на стадії анафази за формулою:

$$\eta = \frac{A \times 100\%}{B} ; \quad (3)$$

де, A – число аберантних анафаз;

B – загальна кількість клітин на стадії анафази.

4. Паралельно проводили мікроядерний аналіз меристематичних клітин тест-об'єкта. При цьому переглядали по 100 клітин на кожному препараті (не менше 1000 для одного ґрунтового зразка). Мікроядерний індекс визначали за формулою:

$$МЯІ = \frac{K_{лмя} \times 100\%}{Kл} ; \quad (3.5)$$

Де, $K_{лмя}$ – кількість клітин із мікроядрами;

$Kл$ – загальна кількість клітин на стадії профазі.

Цитологічний аналіз проводили під мікроскопом Olympus CX-300 (збільшення 400х); мікрофотографування здійснювали за допомогою інтегрованої в мікроскоп фотонасадки Olympus SP – 500 UZ при збільшенні

мікроскопа 1000x та програмного забезпечення Quick PHOTO MICRO 2,3 for Windows (Olympus).

РОЗДІЛ 3.

Результати та їх обговорення.

3.1. Гаметоцидність середовища у населених пунктах Савинської громади Харківської області.

Проведені дослідження вказують на значну відмінність чутливості чоловічого гаметофіту видів-індикаторів до комплексу аерогенних чинників досліджуваної території.

Для оцінки гаметоцидності сукупності факторів аналізували пилок семи видів рослин ранньо-весняної хвилі палінації. При цьому, достатньою репрезентативністю у межах громади відзначаються такі види: клен ясенелистий (*Acer negundo*), береза повисла (*Betula pendula*), абрикос домашній (*Prunus armeniaca*), слива розлога (*Prunus cerasifera*) та верба ламка (*Salix fragilis*). Літературні дані засвідчують інформативність цих видів у практиці біоіндикаційних досліджень у зонах підвищеного антропогенного пресингу.

Частка стерильного пилку пшінки весняної на усіх дослідних ділянках та на фоновій території не перевищувала 5%, що відповідає спонтанній частоті виникнення порушень у природних популяціях і не становить біоіндикаційної перспективності.

Для решти досліджених видів притаманні високі абсолютні значення стерильності пилку, що є опосередкованим свідченням вагомого недиференційованого мутагенного тиску на території громади (табл 1.).

Видову чутливість і ступінь гаметоцидного тиску відображають коефіцієнти стерильності пилку (рис. 5)

Таблиця 1.

Частка пилових зерен у пиловій культурі рослин-індикаторів у межах дослідних ділянок Савинської громади Харківської області ($M \pm m$, %)

№ п/ п	Вид-індикатор					
	Дослідна ділянка	<i>Acer negundo</i>	<i>Betula pendula</i>	<i>Prunus armeniaca</i>	<i>Prunus cerasifera</i>	<i>Salix fragilis</i>
1	селище Савинці	14,2±0,71*		18,0±0,91*		8,1±0,56*
2	с. Морозівка	12,8±0,77*	13,8±0,77*		7,8±0,36*	
3	селище Веселе	11,9±0,47*			6,4±0,42	6,2±0,62*
4	с. Українка	8,4±0,42*	6,9±0,56*	7,9±0,86*		5,8±0,55*
5	селище Теплянка	8,2±0,39*	18,0±2,4*			4,8±0,64*
6	с. Слабунівка	7,9±0,36*		22,0±0,12*	5,0±0,12	
7	с. Вишнева	11,0±0,36*	13,8±0,82	19,7±0,90*		13,2±1,03*
8	с. Норцівка	39,5±2,37*	15,7±0,72	35,9±1,89*	12,3±0,54*	
9	с. Залиман	24,7±1,24*		17,0±0,85*	11,2±0,57*	11,1±0,52*
10	с. Пазіївка	27,0±1,37*		19,0±1,10	12,0±0,25	
11	с. Затишне	10,9±0,61*		12,3±0,62	10,4±0,58	
12	Фонова територія	5,3±0,21	3,8±0,23	6,5±0,30	4,1±0,21	3,2±0,13

 - вид відсутній на дослідній ділянці.

* - різниця достовірна, порівняно з фоновим значенням ($P \leq 5\%$)

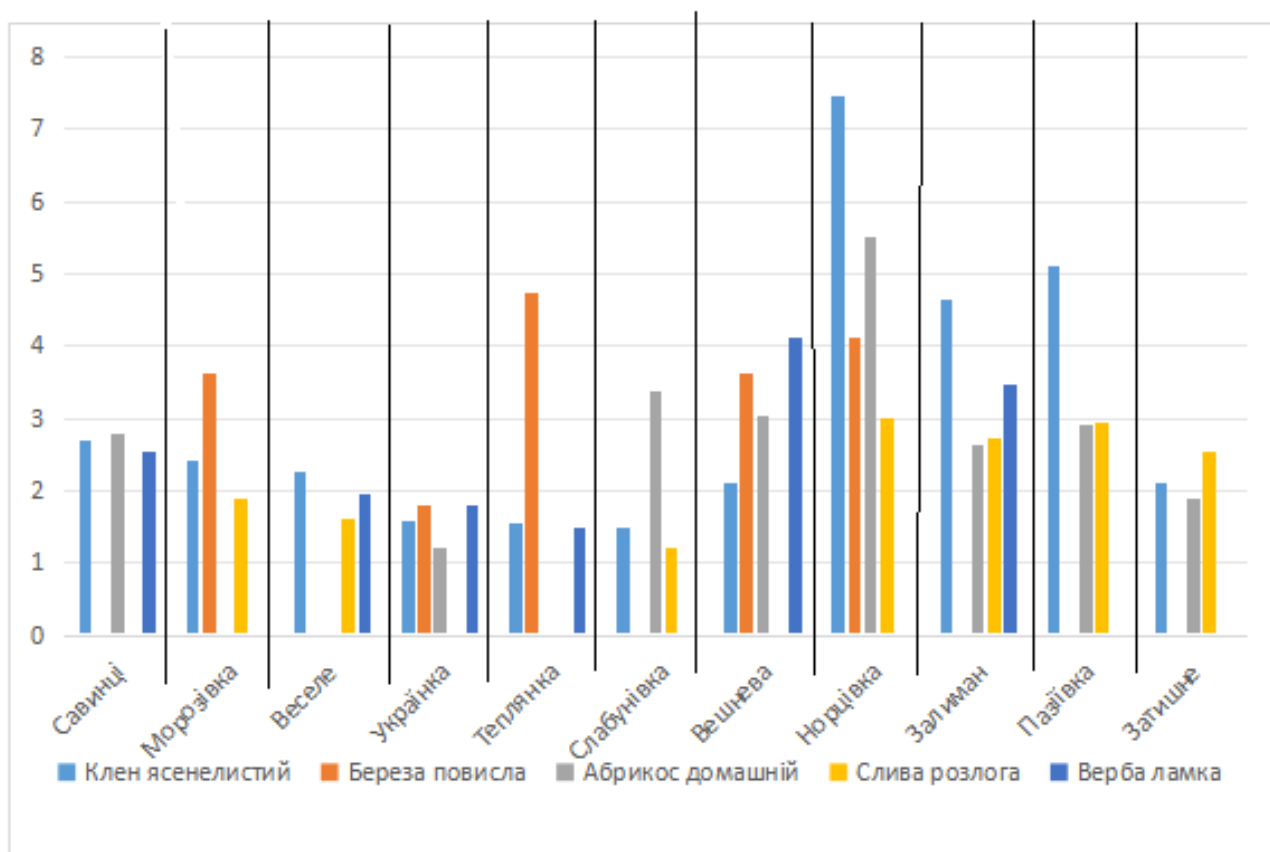


Рис. 5. Коефіцієнти стерильності пилку видів індикаторів у населених пунктах Савинської територіальної громади відносно фонової території.

Таким чином, максимальні показники стерильності пилку на досліджуваній території констатовані для клена ясенелистого і абрикоса домашнього у межах с. Норцівка (Ксп становить 7,45 і 5,52, відповідно). Високі значення коефіцієнта притаманні для більшості досліджених видів також у селах Залиман і Пазіївка. В інших населених пунктах громади коефіцієнт стерильності коливається у межах 1, 5 - 3,5, що в цілому вказує на значний гаметоцидний вплив факторів середовища і наявність потенційних мутагенних ризиків високої інтенсивності.

Візуальні зміни пилкових зразків відображені на рисунку 6.

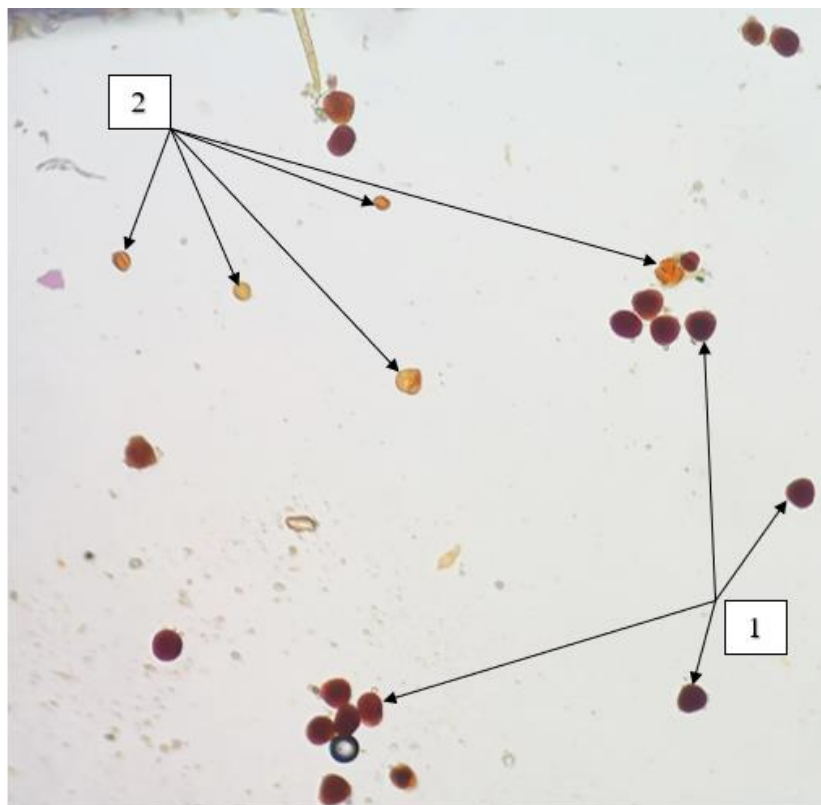


Рис. 6. Пилкові зерна клена ясенелистого, с. Норцівка. Мікрофотографії. Калій йодид. Об.40х, Ок.10х. 1 – фертильні п.з., 2 – стерильні п.з.

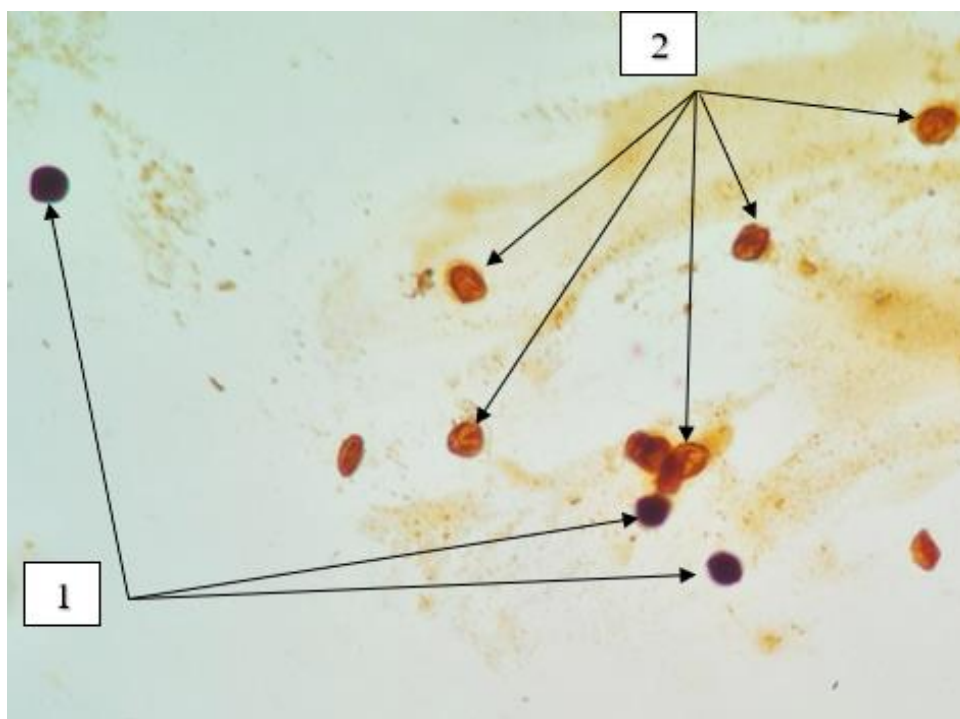


Рис.7. Пилкові зерна абрикосу звичайного, с. Норцівка . Мікрофотографії. Калій йодид. Об.40х, Ок.10х. 1 – фертильні п.з., 2 – стерильні п.з.

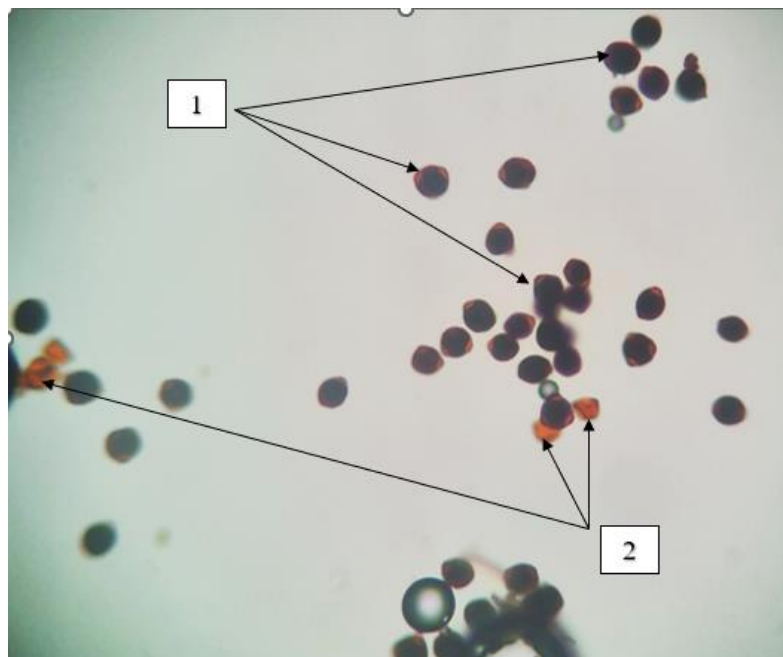


Рис.8. Пилкові зерна берези повислої, с. Теплянка. Мікрофотографії. Калій йодид. Об.40х, Ок.10х. 1 – фертильні п.з., 2 – стерильні п.з.

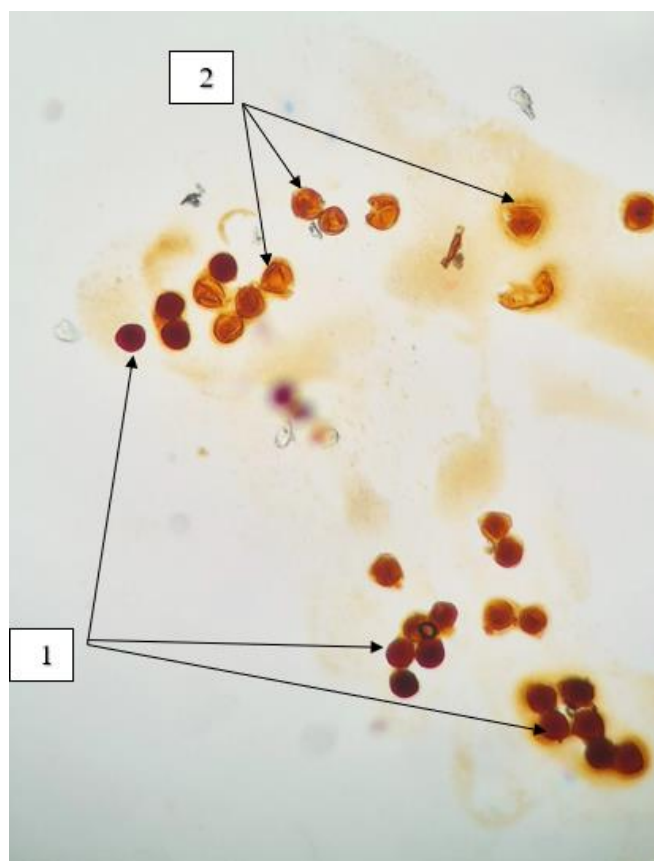


Рис. 9. Пилкові зерна сливи розлогої, с. Залиман. Мікрофотографії. Калій йодид. Об.40х, Ок.10х. 1 – фертильні п.з., 2 – стерильні п.з.

3.2. Цитотоксичність та кластогенність ґрунтового середовища за результатами *Allium* сера-тесту.

3.2.1. Мітотична активність клітин апікальної меристеми первинних корінців *Allium* сера L.

Інформативним біомаркером цитогенетичної напруги середовища є інгібіція мітотичної активності клітин. При цьому найбільшою чутливістю та здатністю реагувати на зовнішні впливи, унаслідок значної проліферативної активності, характеризуються меристематичні тканини.

Інгібіторами клітинного поділу можуть бути як типові мутагени, так і сполуки із загальнотоксичним впливом. Зазначені сполуки проявляють пролонговану чи миттєву дію на меристеми в концентраціях, значно менших за гранично допустимі, а також змінюють інтенсивність впливу залежно від здатності до синергізму, нівелювання чи кумуляції.

Першочергово здійснювали ідентифікацію інтенсивності клітинного поділу (мітотичний індекс).

Моделльні дослідження *in vivo* показали достовірне зменшення рівня мітотичної активності клітин апікальної меристеми первинних корінців А. сера, що формувалися на ґрунтах усіх дослідних ділянках Савинської громади (табл. 2).

У рослин, експонованих на ґрунтах фоновій території (Галицький район, Івано-Франківська область, Галицький НПП), величина мітотичного індексу складає 26,1%.

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, % ($M \pm m$)	ВМІ
селище Савинці	$10,8 \pm 0,66^*$	2,42
с. Морозівка	$7,4 \pm 0,54^*$	3,53
селище Веселе	$11,2 \pm 0,74^*$	2,33
с. Слабунівка	$12,0 \pm 0,68^*$	2,18
с. Залиман	$8,9 \pm 0,50^*$	2,93
с. Українка	$6,4 \pm 0,64^*$	4,08
селище Теплянка	$10,1 \pm 0,71^*$	2,58
с. Вишнева	$4,8 \pm 0,22^*$	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: * – $P < 0,05$

Найвища мітотична активність меристематичних клітин тест-об'єкта відмічена для зразків ґрунту, відібраних у селі Слабунівка - $12,0 \pm 0,68$, що у 2,18 разів нижче за відповідне фонове значення.

Для рослин, експонованих на ґрунтах населених пунктів Савинці, Веселе, Теплянка і Затишне мітотичний індекс коливається у межах 10,1 - 11,2% . Більш значне пригнічення проліферативної активності тест-об'єкта зумовлюють ґрунтові умови населених пунктів Морозівка, Залиман, Українка, Пазіївка. Тут мітотичний індекс нижчий фонового значення у 2,93 - 3,43 рази.

Найнижчі значення аналізованого показника констатовано для сіл Норцівка і Вишневе - у 4.66 - 5.44 рази нижче фону.

Таким чином, результати досліджень свідчать про порушення мітотичної активності меристеми первинних корінців А. сера в умовах впливу військових чинників.

Відомо, що життєвий цикл клітини величина нестабільна й може змінюватися за різних умов, зокрема, під впливом хімічних реагентів. При цьому найбільш лабільним і чутливим до змін умов середовища та фізіологічного стану клітини є постсинтетичний період G2. Унаслідок цього спостерігається затримка вступу клітин у мітотичний поділ, що веде до пригнічення проліферативної активності та зниження показника мітотичного індексу.

Зниження мітотичної активності під впливом ксенобіотиків є неспецифічною реакцією меристематичних клітин у відповідь на будь-який стресор. Специфічними ж змінами можна вважати відмінності в спектрі патологій мітозу й тенденції розподілу клітин, які діляться залежно від фаз мітотичного циклу. Тому наступним етапом роботи було визначення відносної

тривалості кожної стадії та розподілу проліферуючих клітин за фазами мітозу. Установлено, що в умовах досліджуваної території в клітинах тест-об'єкта статистично достовірно змінювалася пропорція між кількістю клітин у різних фазах мітозу порівняно з фоновими значеннями. Загальною тенденцією є збільшення клітин на стадіях метафази та телофази.

3.2.2. Індукція хромосомних аберацій у клітинах апікальної меристеми корінців *Allium cepa* L.

Для встановлення кластогенних властивостей ґрунтів Савинської громади застосовували метод ана-телофазного аналізу клітин апікальної меристеми первинних корінців А. сера. На мікропрепаратах визначали такі цитогенетичні показники: відсоток аберантних клітин і кількість аберацій на одну досліджену й аберантну клітину. Звертали увагу на такі патології мітозу як багатополіусність, асиметрія та розсіювання хромосом в метафазі, що є результатом сумарного ефекту клітинних порушень [2].

З'ясовано, що в клітинах апікальних меристем цибулі ріпчастої, пророщеної на ґрунті фонової території, середньогрупово частота аберантних ана-телофаз становила $1,20 \pm 0,09$, що достовірно не відрізняється від значення відповідного контрольного показника. Кількість аберацій на одну досліджену й аберантну ана-телофазу складала, відповідно, $0,015 \pm 0,002$ та $1,084 \pm 0,10$.

Ґрунти дослідних ділянок володіють вираженим мутагенним ефектом, про що свідчить зміна цитогенетичних показників тест-об'єкта порівняно з фоном (табл. 3).

Таблиця 3

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 аберантних ана-телофаз, (M±m), %	Кількість аберацій	
		На досліджену клітину	На аберантну клітину

		(M±m)	(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
Фонові 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: * – $P < 0,05$.

Відсоткова частка ана-телофазних клітин апікальної меристеми достовірно вища від фонового значення при експонуванні тест-об'єкта на ґрунтах усіх досліджених ділянок.

Генетичні ефекти впливу комплексу факторів у громаді на хромосомний апарат *A. сера* найбільш виражені у селах Норцівка (8,70%), Вишнева (8,20%) і Пазіївка (7,40%). Кількість аберацій на одну досліджену клітину вища від

фонового значення ($P < 0,05$). Достовірно більшою є й кількість аберацій на одну аберантну ана-телофазу.

В апікальних меристемах первинних корінців, що формувалися на ґрунтах дослідної сіл Залиман, Українка та Морозівка частка аберантних ана-телофаз перевищує фоновий показник у 4,75 - 5,33 рази ($P < 0,05$). у решті досліджених населених пунктів частка аберантних ана-телофаз у клітинній культурі коливається у діапазоні 3,40 - 4,00%, що вище фонового значення у 2,83 - 3,33 рази.

Цитогенетичний аналіз перебудов каріому меристематичних клітин тест-об'єкта показав, що його пошкодження були представлені як хромосомними, так і геномними аномаліями. До останніх, зокрема, відносили телофази з відставшими хромосомами, локалізованими в районі екваторіальної площини. Серед хроматидних аномалій спостерігалися мости, утворені міжхромосомними обмінами за участю однієї хроматиди та делеції ділянок однієї з хроматид що виявлялись у вигляді одиночних фрагментів.

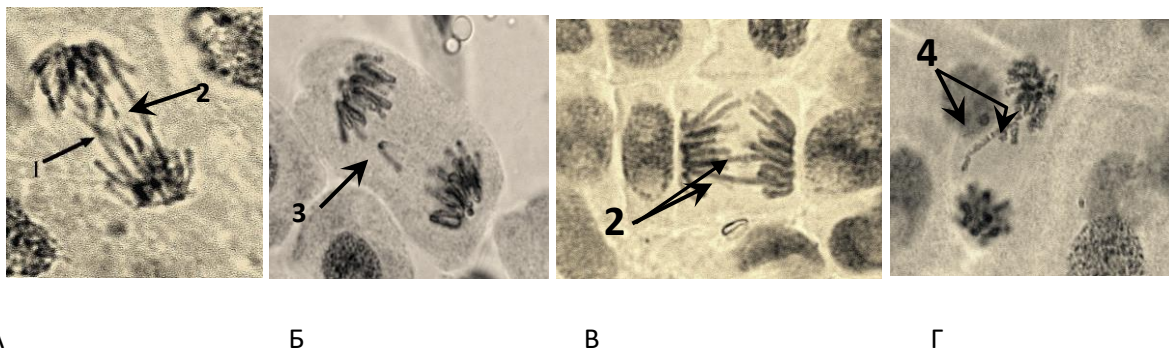


Рис. 10. А-Г. Хромосомні та хроматидні аберації меристематичних клітин А. сера при експонуванні на ґрунтах с. Норцівка Савинської громади Харківської області: 1 – хромосомний міст; 2 – хроматидний міст; 3 – відставання хромосом; 4 – фрагменти хромосом.

Деякі перебудови за своєю морфологічною структурою не могли бути віднесені до жодних із вищезазначених.

Хромосомні аберації включали в себе два типи перебудов: хромосомні та хроматидні. Перші були представлені парними фрагментами та хромосомними мостами, утвореними дицентриками, трицентриками та поліцентриками. Ідентифіковані аберації сформувались в результаті міжхромосомних обмінів із залученням обох сестринських хроматид.

Достовірне збільшення кількості аберацій у меристематичних клітинах тест-об'єкта, індукованих ґрунтовими факторами, що мають місце в межах Савинської громади, відбувається переважно за рахунок хроматидних. Частка перебудов хромосомного типу має зворотну динаміку. Таке співвідношення основних типів аберацій хромосомного апарату *A. сера* свідчить про хімічну природу мутагенезу.

2.3. Мікроядерний аналіз клітин апікальної меристеми первинних корінців *Allium cepa* L.

Для оцінки кластогенної компоненти забруднення ґрунтів Савинської громади проводили також мікроядерний аналіз клітин апікальної меристеми первинних корінців *A. сера*.

Мікроядра, як відомо, – ацентричні фрагменти хромосом, що виникають унаслідок їх структурних порушень, або цілі хромосоми, що затрималися на стадії анафази (рис.11). Тому наявність мікроядер є індикатором як структурних пошкоджень, так і процесу їх відставання, що спричинює анеуплоїдію. Таким чином, мікроядерний аналіз достатньою мірою відображає кластогенний вплив комплексу досліджуваних чинників.

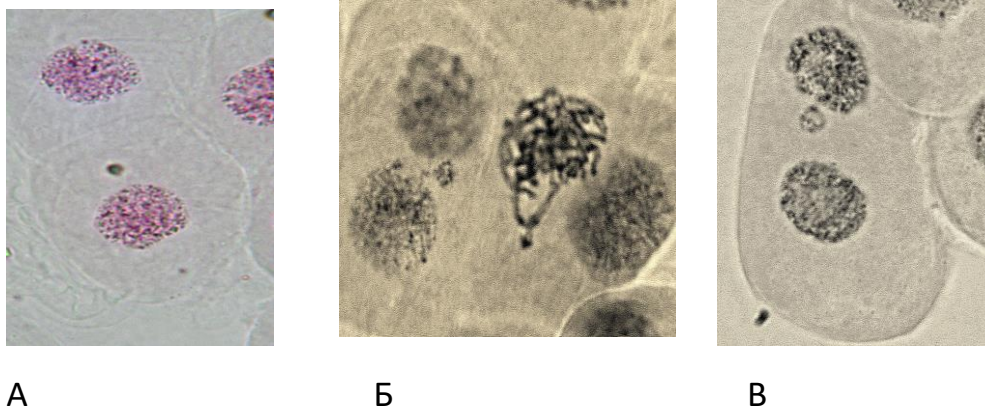


Рис. 11 А-В. Мікроядра у меристематичних клітинах *A. сера* L. при експонуванні на ґрунтах с. Норцівка Савинської громади.

Моделльні дослідження показали достовірне ($P < 0,05$) зростання мікроядерного індексу (МЯІ) у меристематичних тканинах первинних корінців *A. сера*, що формувалися на ґрунтах усіх досліджених ділянок порівняно з фоновим значенням (табл. 4). Рівень спонтанної частоти клітин із мікроядрами (фонове значення), що зустрічаються в меристематичних клітинах *A. сера* – $1,80 \pm 0,07\%$.

Максимальна індукція цитогенетичних порушень, що викликають утворення позануклеарних структур у клітинах апікальної меристеми *A. сера* L., характерна для ґрунтів с. Норцівка. МЯІ меристематичних тканин тест-об'єкта склав у цьому випадку 24,30%, що в 13,5 рази перевищує фоновий показник.

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	$12,8 \pm 1,02$	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 ($P < 0,05$).

Комплекс ґрунтових чинників сіл Вишнева, Норцівка і Пазіївка спричинює максимальне зростання ($P < 0,05$) МЯІ в клітинах тест-об'єкта - 11,67 - 13,5 разів, порівняно з фоном.

Цито- та генотоксичний ефект ґрунтових умов селища Савинці і села Морозівка сприяють індекції мікроядер у 12,8 та 14,0% клітин, що перевищує фонове значення у 7,11 та 7,77 рази відповідно, а у с. Українка аналізований показник становить 15,8% (ВМЯІ = 8,78).

В інших досліджених варіантах експерименту індукція мікроядер спостерігається у 3,11% (с. Затишне) - 4,17% (с. Слвбунівка).

Одержані результати узгоджуються з літературними даними та спостереженнями інших авторів на інших тест-об'єктах.

Зростання кількості клітин із мікроядрами можна вважати індикатором стресу, який призводить до появи аномальних клітин і зниження здатності організму елімінувати ці порушення [2].

Таким чином, мікроядерний тест із використанням А. сера як модельної системи є зручним високочутливим методом скринінгу мутагенів у довкіллі та найбільш чутливим маркером кластогенності у даному дослідженні.

3.3. Індукція клітин з мікроядрами в оцінці рівня токсикомутагенного фону Савинської громади Харківської області.

Якісний аналіз цитологічних препаратів, виготовлених із зскребків букального епітелію (БЕ) дитячого населення, дозволив ідентифікувати МЯ з діаметром меншим, ніж $\frac{1}{3}$ діаметра основного ядра клітини. Вони розташовувались у цитоплазмі, чітко простежувались у тому ж фокусі мікроскопу, що і ядро, та мали подібний до останнього колір і текстуру хроматину. За формою МЯ округлі або овальні та чітко відокремлювалися від ядра (рис. 1).

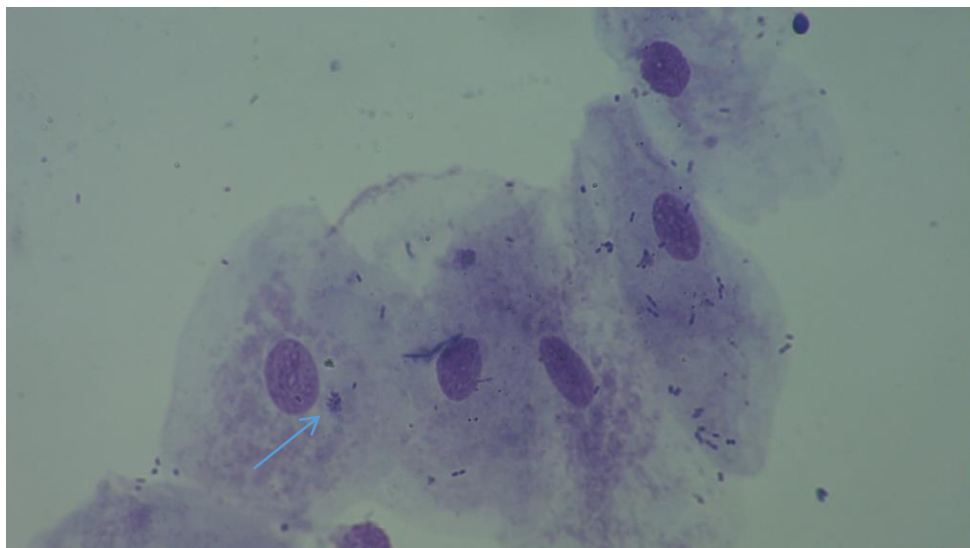
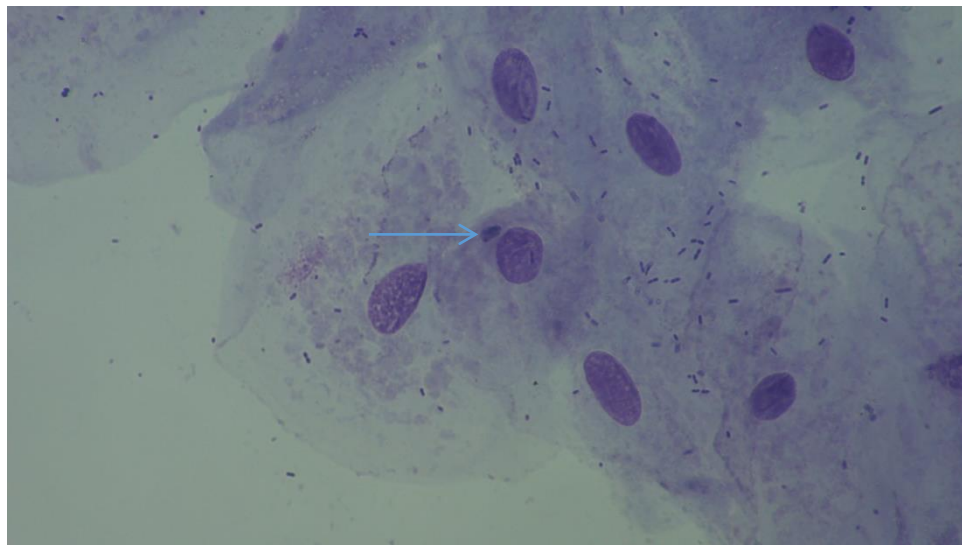


Рис.12. Мікроядра (→) в клітинах БЕ дітей Савинської громади.

Частка клітин БЕ з мікроядрами у дітей Савинської громади коливається у діапазоні 3,0 - 4,6%. У вибірці фоновій аналогічний показник становив 2,8% (Рис.13).

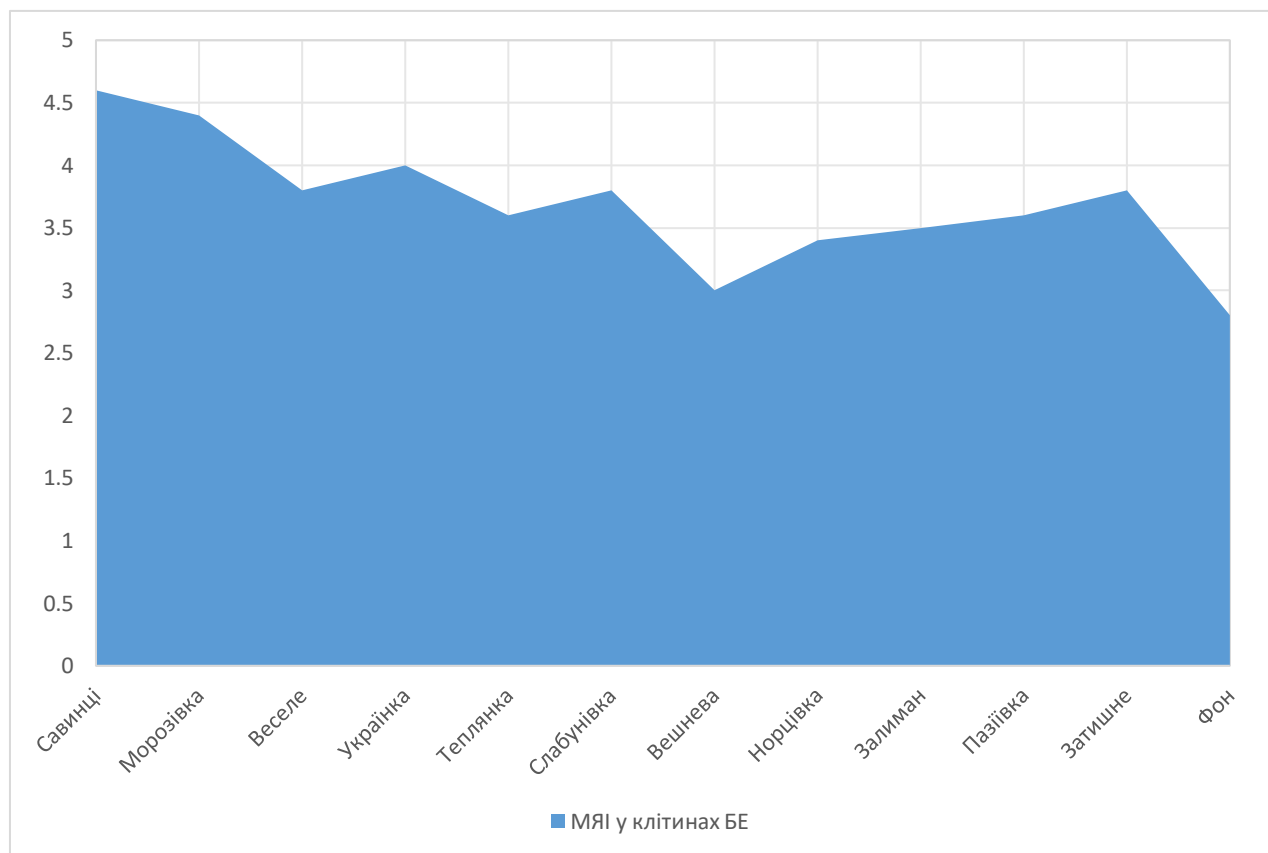


Рис.13. Співвідношення показників МЯІ клітин букального епітелію дітей Савинської громади і фоновій території.

Збільшення частки клітин з мікроядрами є одним з маркерів стресу людської популяції, свідченням порушення гомеостазу та нездатності організму елімінувати порушення, спричинені негативними зовнішніми чинниками.

Висновки

1. Одним з ключових чинників трансформаційного впливу на екосистеми у результаті ведення бойових дій є привнесення в екотопи широкого спектру хімічних забруднювачів, більшість яких мають виражені мутагенні і цитотоксичні властивості, і, окрім загальнотоксичного впливу, здатні спричинювати генетичний тягар популяцій.

2. Об'єктивна та повна оцінка екологічних наслідків бойових дій повинна включати скринінг на мутагенність й оцінку токсико-мутагенного фону (у трактуванні Наказу МОЗ України № 116 від 13.03.07) і вираженості гено- і цитотоксичних ефектів в основних депонуючих середовищах: ґрунти, атмосферне повітря.

3. Для ґрунтового середовища найбільш валідною є рослинна тест-система – *Allium cepa*, а для повітря – тести на гаметоцидність із застосуванням пилку корінних видів рослин.

4. Найбільшою інформативністю при оцінці кластогенності ґрунтового середовища відзначається мікроядерний індекс клітин апікальної меристеми первинних корінців *Allium cepa*.

5. Деревні рослини відзначаються диференційною чутливістю до комплексу факторів. Максимальною біоіндикаційною здатністю в умовах Савинської громади відзначаються клн ясенелистий, абрикос домашній та береза повисла.

6. Застосовані біологічні маркери можуть бути впровадженні в алгоритм оцінки екологічних наслідків впливу військових дій.

Список використаної літератури.

Горова А. І. Про можливість використання цитогенетичних методів біоіндикації при виборі контрольних територій в системі екомоніторингу / А. І. Горова, В. Ю. Грунтова, А. В. Павличенко // Наук. вісник Чернівецького ун-ту. – 2008. – Вип. 416: біологія. – С. 3–8. 5.

Миленка М. М. Біоіндикаційна оцінка екологічного стану Бурштинської урбоекосистеми: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Д. : ДНУ, 2009. – 23 с. 9.
Морозова Т. В. Комплексна біоіндикаційна оцінка екологічного стану слабоурбанізованих селитебних територій Чернівецької області: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Чернівці : ЧНУ, 2004. – 25 с. 68 10.

Наказ МОЗ України № 116 від 13.03.2007 р. “Про затвердження методичних рекомендацій «Обстеження та районування території за ступенем впливу антропогенних чинників на стан об’єктів довкілля з використанням цитогенетичних методів»” // Офіційний вісник України. – 2007. – № 4. – С. 186–209. 11.

Станкевич С.В. Техноекологія: навч. посібн. [Technoecology: tutorial] / С.В. Станкевич, Л.В. Головань; Харків. нац. аграр. ун-т ім. В. В. Докучаєва. – Харків: Видавництво Іванченка І. С., 2020. – 338 с. Режим доступу: http://pdf.lib.vntu.edu.ua/books/2021/Stankevich_2020_338.pdf

Fulco, Carolyn E., Catharyn T. Liverman, and Harold C. Sox, eds. Gulf War and Health: Volume 1. Depleted Uranium, Pyridostigmine Bromide, Sarin, and Vaccines [Війна в Перській затоці та здоров’я: Том 1. Збіднений уран, піридостигмін бромід, зарин і вакцини]. Washington, D.C., USA: National Academy Press, 2000.

Лобойченко В.М., Пліско А.В. Оцінка екологічних наслідків від вибухів патронів та гранат на складах боєприпасів // Збірник наукових робіт курсантів. – 2017. – Випуск 15. – с. 112-120

Сучасне озброєння і військова техніка Збройних сил Російської Федерації. Довідник учасника ООС / С.П. Корнійчук, О.В. Турінський, Г.В. Певцов, та ін.; за заг. ред. С.П. Корнійчука // Х.: ДІСА ПЛЮС, 2020. –1220 с.

Маренец М.А., Буллер М.Ф., Щербань В.В., Банишевский В.В., Белова Л.А. Баллиститное твердое ракетное топливо: сравнительная оценка продуктов горения и детонации [Баліститне тверде ракетне паливо: порівняльна оцінка продуктів горіння та детонації]// Вісник КДПУ. Випуск 2/2006 (37). Частина 2 – с. 72- 75.

М Ю. Трофименко, М.М. Чесноков, Г.С. Драган. Структура факела при горінні твердої суміші паливної системи при підвищеному тиску // Вісник Одеськ. держ. ун-ту. – 2001. – Т.6, вип. 3. Фіз-мат. науки. – с. 159-162.

Toxicological Profile for White Phosphorus [Токсикологічний профіль для білого фосфору]. Atlanta, GA, USA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1997

ДОДАТКИ

Журнал
реєстрації відібраного біологічного матеріалу
(букального епітелію)

Розпочато « ____ » _____ 20__ року

Закінчено « ____ » _____ 20__ року

№ з/п	Прізвище, власне ім'я, по батькові (за наявності) дитини	Прізвище, власне ім'я, по батькові (за наявності) одного з батьків або опікуна	Дата відбору	Місце відбору	Прізвище, ім'я, по батькові (за наявності) та посада особи, яка відбирала зразок булакального епітелію	Номер зразка
1	2	3	4		5	6

**Реєстраційна картка-анкета
відбору біологічного матеріалу (букального епітелію) дітей**

1. Прізвище, ім'я та по батькові (за наявності) дитини _____
2. Прізвище, ім'я та по батькові (за наявності) одного з батьків чи опікуна _____
3. Посада, прізвище, ім'я та по батькові (за наявності) медичного працівника, який відбирає пробу _____
4. Контактний номер телефону одного з батьків чи опікуна _____
5. Дата і місце народження дитини _____
6. Місце постійного проживання дитини _____
7. Навчальний заклад, де навчається дитина _____
8. Стать _____
9. Наявність/відсутність хронічних захворювань (за наявності вказати яких саме) _____
10. Перенесені впродовж останніх 3-ох місяців респіраторні захворювання (вказати які і коли дитина хворіла) _____
11. Наявність/відсутність у дитини чи її близьких родичів генетичних патологій (за наявності вказати, яких саме) _____
12. Додаткові відомості (заповнити за потреби) _____
13. Дата відбору _____
14. Місце відбору _____
15. Відмітка про стан здоров'я дитини на момент відбору проб (заповнює медичний працівник, який відбирає пробу) _____
16. Шифр зразка (заповнює медичний працівник, який відбирає пробу) _____
17. Підпис одного з батьків чи опікуна _____

Цим підписом батьки або уповноважений представник дитини дають згоду на забір зразку булакального епітелію дитини, а також на збір та обробку персональних даних. Біологічний матеріал буде використано виключно для встановлення наявності мікробів у клітинах булакального епітелію, після чого - утилізовано. Біологічний матеріал за жодних обставин не буде передано стороннім особам чи використано з будь-якою іншою метою. Результати дослідження не будуть інтерпретуватися персоналізовано, а виключно у розрізі статистичної вибірки).

18. Підпис медичного працівника, який відбирає пробу _____.