**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**

**ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**біологічний Факультет**

КАФЕДРА САДОВО-ПАРКОВОГО ГОСПОДАРСТВА ТА ГЕНЕТИКИ

(повна назва кафедри)

**Кваліфікаційна робота**

магістр

(рівень вищої освіти)

на тему: *Вплив пестицидів на мітотичну активність меристематичних клітин у рослин роду Allium*

|  |
| --- |
| Виконала: студентка 2 курсу, групи 8.0918-Г |
| Спеціальності  | 091 Біологія |  |
|  | (код і назва спеціальності) |
| Освітньої програми | Генетика |  |
|  | (код і назва освітньої програми) |
|  |  | Д.О.Чеботар |
| (ініціали та прізвище) |
| Керівник | доц., доц., к.б.н. | О.М. Войтович |
| (посада, вчене звання, науковий ступінь, підпис, ініціали та прізвище) |
| Рецензент | доц., доц., к.б.н. | О.В. Дубова |
|  (посада, вчене звання, науковий ступінь, підпис, ініціали та прізвище) |

Запоріжжя – 2020

**Форма № Н-9.01**

**ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Факультет**\_**біологічний**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

Кафедра \_\_садово-паркового господарства та генетики\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Освітній рівень \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_магістр\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Спеціальність **\_\_\_\_\_\_**\_091 біологія\_**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

Освітня програма **\_\_\_\_** генетика**\_\_**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри садово-паркового господарства та генетики, д.б.н., проф.

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_В. О. Лях

«\_\_\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2019 року

# ЗАВДАННЯ

# НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ

 Чеботар Діані Олександрівні \_\_\_\_\_

1. Тема роботи Вплив пестицидів на мітотичну активність меристематичних клітин у рослин роду *Allium*

керівник роботи Войтович Олена Миколаївна, к.б.н., доцент

затверджена наказом ЗНУ від «12» червня 2019р. №940-с

2. Строк подання студентом роботи 20.12.2019

3. Вихідні дані до роботи література за темою

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): 1) підібрати гербіциди та опрацювати методику цитогенетичних досліджень; 2) пророщування об’єктів, фіксація матеріала; 3) виготовлення мікропрепаратів та облік результатів; 4) аналіз результатів та оформлення роботи.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов’язкових креслень): таблиць – 6, рисунків – 15.

6. Консультанти розділів роботи

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Розділ | Консультант | Підпис, дата |
| завдання видав | завдання прийняв |
| 4 |  |  |  |

7. Дата видачі завдання

Календарний план

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № з/п | Назва етапів дипломної роботи | Строк виконання етапів роботи | Примітки |
|  | Огляд наукової літератури. написання розділу 1 | жовтень-грудень 2018 | Виконано |
|  | Засвоєння техніки безпеки під час виконання експериментальної частини. написання відповідного розділу | січень-лютий 2018-2019 | Виконано |
|  | Проведення експериментальних досліджень, оформлення результатів досліджень. Статистична обробка даних Написання відповідного розділу | березень- квітень 2019 | Виконано |
|  | Оформлення кваліфікаційної роботи магістра | травень-вересень 2019 | Виконано |
|  | Передзахист. Рецензування кваліфікаційної роботи | жовтень − грудень 2019 | Виконано |
|  | Захист кваліфікаційної роботи | січень 2020 | Виконано |

Студент (ка) \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_Чеботар Д. О.\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 (підпис) (прізвище та ініціали)

Керівник роботи  Войтович О. М.

 (підпис) (прізвище та ініціали)

Нормоконтроль пройдено

Нормоконтролер Бойка О. А.

 (підпис) (прізвище та ініціали)

РЕФЕРАТ

Робота викладена на 87 сторінках друкованого тексту, містить 6 таблиць та 15 рисунків. Перелік посилань включає 60 джерел.

Об’єктом дослідження були меристематичні клітини корінців проростків насіння *A. porrum* та цибулини рослин *A. cepa*.

Предмет дослідження – мітотична активність рослинних клітин під впливом гербіцидів «Ураган форте» та «Оберіг».

Мета роботи – оцінка рівня цитотоксичної дії однокомпонентних гербіцидів «Ураган форте» та «Оберіг» на кореневі меристеми *Allium cepa* та *Allium porrum.*

Методи дослідження – морфометричні, гістоцитологічні дослідження мікропрепаратів, статистичний аналіз.

Показано, що «Ураган форте» у концентрації 2% та «Оберіг» у концентраціях 0,08% та 0,75% мають фітотоксичний вплив на корінці цибулі ріпчастої.

Досліджувані гербіциди викликають хромосомні аберації та порушення мітотичного поділу: двоядерні клітини, мікроядра, мости, фрагменти хромосом, відставання хромосом, затримка анафази та к-мітоз з частотою від 3,9/1000 клітин до 55,3/1000 клітин.

Діючі речовини гербіцидів спричиняє затримку і порушення в фазах мітозу, пов’язаних з формуванням веретена поділу та розходженням хромосом (ана-телофази), тому найчастіше фіксуються мікроядра та двоядерні клітини.

Мітозмодифікуюча активність гербіцидів виявилась у зниження мітотичного показника, зсуві фазних індексів у сторону профазного індексу та пригніченні ана-телофазного індексу.

ПЕСТИЦИД, ГЕРБІЦИД, ГЛІФОСАТ, ХІЗАЛОФОП-П-ЕТИЛ, ALLIUM-ТЕСТ, ФІТОТОКСИЧНІСТЬ, ГЕНОТОКСИЧНІСТЬ, ХРОМОСОМНІ АБЕРАЦІЇ, МІТОЗ, ТЕСТ-СИСТЕМА, ЦИБУЛЯ РІПЧАСТА, ЦИБУЛЯ ПОРЕЙ

ABSTRACT

The work is presented on 87 pages of printed text, contains 6 tables and 15 drawings. The list of references includes 60 sources.

The object of the study was cytological samples of apical meristems of onion root cells, of the *A. cepa*, *A. porrum*.

The aim of the work was - estimate of cytotoxic effect of one-component herbicites Uragan forte» and «Oberig» on onion root meristems of *Allium cepa* and *Allium porrum.*

Methods of research – morphometric, histocitological research of micropreparation, statistical analysys.

As a result of the study, we found that «Uragan forte» in concentration 2% and «Oberig» in concentration 0,08% and 0,75% have phytotoxical effect on onion root cells of *Allium cepa.*

Herbisides that have been investigated cause chromosomal aberration and interraption of mitotic division: double-nuclei cells, micronuclei, chromosomal briges, chromosomal fragments, laggard chromosomes, delayed anaphase and c-mitosis with frequency from 3,9/1000 cells to 55,3/1000 cells.

Active substance of herbisides cause delayed and destruction in mitotic phases, related to soindle formation and chromosomal discrepation (ana-telophase)? That’s why double-nuclei cells and micronuclei recorded more offen.

Mitosmodifying activity of herbisides manifested in a decrease of mitotic index, phase index offset to the side of prophase index and oppression of ana-telophase index.

PESTISIDE, HERBISIDE, GLYPHOSATE, QUIZALOFOP-P-ETHYL, PHYTOTOXICITY, GENOTOXICITY, CHROMOSOMAL ABERRATION, ALLIUM TEST, MITOSIS, TEST SYSTEM, ALLIUM CEPA, ALLIUM PORRUM

ЗМІСТ

[ВСТУП 8](#_Toc30174751)

[1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ 10](#_Toc30174752)

[1.1 Загальна характеристика рослин роду *Allium L.* 10](#_Toc30174753)

[1.2 Ботанічна, екологічна та генетична характеристика обраних тест-обєктів 11](#_Toc30174754)

[1.2.1 *Allium cepa* - цибуля ріпчаста 11](#_Toc30174755)

[1.2.2 *Аllium porrum* – цибуля-порей 14](#_Toc30174756)

[1.3 Загальна характеристика пестицидів та їх класифікація 16](#_Toc30174757)

[1.3.1 Застосування пестицидів у світовому масштабі і в Україні 16](#_Toc30174758)

[1.3.2 Класифікація пестицидів за хімічною природою, об’єктами застосування, способами надходження до організму та особливостями дії. 17](#_Toc30174759)

[1.3.3 Загальні вимоги до пестицидів, відповідність сучасного асортименту цим вимогам. 20](#_Toc30174760)

[1.3.4 Класифікація гербіцидів, особливості дії на рослини та причини їх вибірковості. Методи та строки застосування гербіцидів. 21](#_Toc30174761)

[1.3.5 Коротка характеристика гербіциду «Ураган» (гліфосат) та його дія на культурні рослини та бур’яни 25](#_Toc30174762)

[1.3.6 Коротка характеристика гербіциду «Оберіг» (хізалофоп-П-етил) та його дія на культурні рослини та бур’яни 29](#_Toc30174763)

[1.4 Відомі результати дослідження токсичного впливу пестицидів на живі організми 30](#_Toc30174764)

[2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ 38](#_Toc30174765)

[2.1 Матеріали досліджень 38](#_Toc30174766)

[2.2 Методи досліджень 38](#_Toc30174767)

[2.2.1 Підготовка матеріалу 38](#_Toc30174768)

[2.2.2 Методика вимірювання корінців у *Allium*-тесті 40](#_Toc30174769)

[2.2.3 Фіксація та приготування препаратів для мікроскопічного дослідження 41](#_Toc30174770)

[2.2.4 Аналіз мікропрепаратів 41](#_Toc30174771)

[2.2.5 Розрахунок мітотичного та фазних індексів 42](#_Toc30174772)

[2.2.6 Виявлення мутагенного ефекту 43](#_Toc30174773)

[2.2.7 Статистична обробка даних 46](#_Toc30174774)

[3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА 48](#_Toc30174775)

[3.1 Підготовка матеріалів дослідження 48](#_Toc30174776)

[3.2 Цитогенетичний аналіз впливу пестицидів 50](#_Toc30174777)

[3.3 Розрахунок мітотичних показників 59](#_Toc30174778)

[4 ОХОРОНА ПРАЦІ 70](#_Toc30174779)

[ВИСНОВКИ 78](#_Toc30174780)

[ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ 79](#_Toc30174781)

[ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ 80](#_Toc30174782)

# ВСТУП

На сучасному етапі розвитку людство зустрілося з рядом екологічних проблем, які є результатом забруднення навколишнього природного середовища. Джерелами забруднення природи шкідливими речовинами є не тільки промисловість та транспорт, а й сучасна сільськогосподарська діяльність з її високим рівнем хімізації. Недостатньо обґрунтоване використання нових хімічних засобів, в першу чергу пестицидів, за невисокої культури землеробства, призводить до потрапляння їх в підземні і поверхневі води, де вони можуть забруднювати сільськогосподарську продукцію, вбивати живі організми, порушуючи рівновагу в природному середовищі. Даний факт становить реальну загрозу для здоров’я людини, що є кінцевою ланкою харчових ланцюгів. Саме тому вкрай необхідна оцінка генотоксичності та моніторинг за складом токсикантів біосфери.

Щорічно на ринок виходять десятки нових видів гербіцидів для підвищення врожайності сільськогосподарських культур та для боротьби з небажаною рослинністю. На даний час використання гербіцидів є одним з агротехнічних прийомів, що знижують засміченість посівів.

Біотестування з застосуванням цибулі ріпчастої показало високу ефективність для оцінки токсичної та мутагенної дії цілого ряду хімічних сполук та фізичних факторів. Даний метод є економічним, простим, швидким та достатньо чутливим для визначення рівня мутагенності певних факторів.

Об’єктом дослідження були меристематичні клітини корінців проростків насіння *A. porrum* та цибулини рослин *A. cepa*.

Предметом дослідження виступали можливості цитотоксичного та генотоксичного впливу однокомпонентних гербіцидів з торговою назвою «Ураган форте» (діюча речовина – гліфосат) та «Оберіг» (діюча - речовина хізалофоп-П-етил).

Метою роботи була оцінка рівня цитотоксичної дії однокомпонентних гербіцидів «Ураган форте» та «Оберіг» на кореневі меристеми *Allium cepa* та *Allium porrum.*

Для досягнення мети було поставлено наступні завдання:

1) дослідити цитотоксичний вплив гербіцидів «Ураган форте» та «Оберіг» на ріст коренів *Allium cepa;*

2) дослідити здатність досліджуваних гербіцидів викликати хромосомні аберації та порушення мітотичного поділу, виявити їх типи та частоту;

4) дослідити мітозмодифікуючу активність гербіцидів «Ураган форте» та «Оберіг» на мітотичну активність клітин кореневої меристеми *Allium cepa* та *Allium porrum*.

Наукова новизна роботи полягає у встановленні особливостей реагування кореневих меристем двох видів цибулі на вплив гербіцидів «Ураган форте» та «Оберіг» та їх цитотоксичний ефект.

Практична значимість роботи була підтверджена та участю у ІХ Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасний рух науки» (грудень 2019) з тезами доповідей «Оцінка фітотоксичності гербіцидів за допомогою *Allium*-тесту» («Ураган форте») та участю у ІІІ Міжнародній науковій конференції «Сьогодення біологічної науки» (листопад 2019) з тезами доповідей «Оцінка фітотоксичності гербіцидів за допомогою *Allium*-тесту» («Оберіг»).

# 1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

## 1.1 Загальна характеристика рослин роду *Allium L.*

Цибуля (*Allium*) – [рід](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D1%96%D0%B4_%28%D0%B1%D1%96%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%8F%29) дворічних та [багаторічних рослин](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B0%D0%B3%D0%B0%D1%82%D0%BE%D1%80%D1%96%D1%87%D0%BD%D1%96_%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BB%D0%B8%D0%BD%D0%B8) родини [Цибулевих](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A6%D0%B8%D0%B1%D1%83%D0%BB%D0%B5%D0%B2%D1%96) (*Alliaceae*), що налічує понад 900 видів, що зустрічаються в Північній півкулі. В [Україні](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A3%D0%BA%D1%80%D0%B0%D1%97%D0%BD%D0%B0) відомо близько 40 видів. Представники роду ростуть на луках, в степу та лісах [1].

Систематичне положення роду:

Домен: Ядерні *(Eukaryota)*

Царство: Рослини *(Plantae)*

Відділ: Вищі рослини *(Streptophyta)*

Надклас: Квіткові, або Покритонасінні рослини *(Magnoliophyta*, або *Angiospermae)*

Клас: Однодольні *(Liliopsida)*

Порядок: Амарилісові *(Amaryllidales)*

Родина: Цибулеві *(Alliaceae)*

Рід: Цибуля *(Allium)*

Назва роду походить від [лат.](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D0%B0%D1%82%D0%B8%D0%BD%D1%81%D1%8C%D0%BA%D0%B0_%D0%BC%D0%BE%D0%B2%D0%B0) *allium* - [часник](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A7%D0%B0%D1%81%D0%BD%D0%B8%D0%BA).

Багаторічні (культурні види іноді дворічні) цибулинні або з майже нерозвиненими цибулинами трав'янисті рослини, з різким цибульним (або часниковим) запахом і смаком.

Представники роду мають велику сплюснуто-кулясту цибулину, покриту червоними, білими або фіолетовими оболонками.

Листя лінійне, прикореневе, дудчасте. Стебло товсте, до 1 м у висоту, роздуте.

Квітки дрібні, тричленні розташовуються на довгих квітконіжках, зібрані в зонтикоподібних суцвіття, які у деяких видів досягають 40 см в діаметрі. Оцвітина з вільних або більш-менш зрослих листочків, з 6-7 жилками, які зазвичай після цвітіння не опадають. Тичинки в числі 6, між собою і з оцвітиною більш-менш зрослі. Пиляки прикріплені біля спинки. Зав'язь трьохгніздна або одногніздна, з шістьма або багатьма сім’япочками. Стовпчик прикріплений біля основи віночка. Квітне в червні-серпні [2].

Насіння має вигляд тригранної коробочки. Плодоносить в серпні-вересні.

Цибулини містять азотисті речовини (до 2,5%), різноманітні цукри (10-11%) (глюкозу, фруктозу, сахарозу, мальтозу), полісахарид інулін, фітин, флавоноїд кверцетин і його глікозиди, жири, різні ферменти, солі кальцію і фосфору, фітонциди, лимонну і яблучну кислоти, вітаміни A (3,75 мг%), B1 (60 мг%), B2 (50 мг%), PP (0,20 мг%), C (10,5-33 мг% ), а також ефірну олію з різким характерним ароматом, подразнюючим слизові оболонки очей і носа.

Багато видів є їстівними тому широко використовуються в харчовій промисловості. Також представники цього роду використовуються в якості декоративних (*Allium oreophilum, Allium schubertii, Allium stipitatum*), лікарських та медоносних рослин [1,2].

## 1.2 Ботанічна, екологічна та генетична характеристика обраних тест-обєктів

### 1.2.1 *Allium cepa* - цибуля ріпчаста

Біологічна характеристика. Цибуля (*Allium cepa*) відноситься до родини Цибулеві (*Alliaceae*), цибуля ріпчаста - багаторічна трав’яниста рослина.

Цибулина складається з вкороченого стебла – донця, на якому закладаються бруньки, покриті відкритими і закритими соковитими лусками. Відкриті луски - це потовщені основи листя, а закриті – видозмінені листки, що закривають і живлять бруньки. Зовні цибулину покривають сухі луски жовтого, білого або фіолетового забарвлення. З бруньок, що розвиваються на донці, в подальшому утворюються або нові цибулини (з вегетативних бруньок), або квітконоси-стрілки з суцвіттями (з генеративних – квіткових бруньок). Залежно від кількості вегетативних бруньок цибулина може бути одно- або багатозачатковою. Зачатковість є одним з сортових ознак ріпчастої цибулі.

Листя цибулі трубчасті, покриті восковим нальотом. Основа листа охоплює бруньку і ту ділянку стебла, на якій він розвинувся. При дозріванні цибулини зелена асимілююча частина листа відмирає. Разом із зеленим листям відмирають і піхви, які, коли зсихаються створюють щільну тонку «шийку» цибулини. Шийка, яка добре висохла зближуючись, захищає цибулину від проникнення в неї хвороботворних агентів – такі цибулини добре зберігаються. Недозрілу цибулину відрізняє товста шия.

Коренева система цибулі слабко розвинена. Коріння спочатку струно подібне, дають розгалуження першого і другого порядків, густо вкриті кореневими волосками. Основна маса коренів розташовується в шарі ґрунту 5 – 20 см. У однорічної цибулини корінням покрита вся зовнішня частина донця-стебла. При відмиранні листя відмирає і коріння. У цибулини, посадженої в землю на другий рік її життя, нове коріння проростає навколо залишків торішніх коренів. У самому центрі донця утворюється омертвілий, ніби здерев’янілий шар – так звана «п'ята», по якій цибулину, що виросла з насіння, можна легко відрізнити від цибулини, вирощеної з сівку [3]. Зовнішній вигляд рослини в цілому та окремих її частин можна побачити на рисунку 1.1.

Квітконос у цибулі – це стрілка, яка, як і лист, порожня всередині, з характерним здуттям на 1/3 її висоти, несе на собі кулясте суцвіття - зонтик з великої кількості квіток - 200-800 і більше. Бутони в суцвітті складаються як би з трьох ярусів. Спочатку розпускаються бутони першого ярусу – це більш ранні квітки, від яких утворюються найбільш зріле насіння. У міру відцвітання попереднього ярусу квітконіжки наступного ярусу, який розташовується нижче, подовжуються, і бутони, які розпускаються завжди виявляються на поверхні суцвіття. Тривалість цвітіння залежить від кліматичних умов і особливостей сорту і може тривати 20-45 діб і більше.



Рисунок 1.1 – Зовнішній вигляд рослини *Allium cepa* [1]

Плід у цибулі – тригранна коробочка. При повному заплідненні в ній утворюється шість насінин. Насіння дрібне, чорного кольору, округло-тригранної форми з щільною рогоподібної оболонкою. В 1 г – 250-400 насінин. При звичайних умовах зберігання їх схожість зберігається 2-3 роки. Щільна оболонка насіння погано пропускає воду, тому без попередньої підготовки насіння, вони проростають повільно. Для набухання насіння потрібна достатня кількість вологи. При сівбі цибулі в оптимальні терміни навесні у відкритий ґрунт сходи з'являються на 14-20-й день [1].

Екологічна характеристика. Цибуля ріпчаста – холодостійка рослина. Оптимальна температура проростання насіння 20°С. Зростання коренів спостерігається при 2-4°С. При 6-10°С він йде швидше, температура вище 20°С уповільнює ріст коренів. Коренева система розташовується у верхньому шарі ґрунту і має невелику всмоктувальну поверхню, що визначає підвищені вимоги цибулі до вологи в період наростання асиміляційного апарату і цибулини. У другій половині вегетації краще визрівання цибулини відбувається при нестачі вологи.

Особливо слід сказати про ставлення цибулі до світлового режиму. За фотоперіодичною реакції він відноситься до рослин довгого дня. Формуванню цибулин сприяють умови з довгим світловим періодом протягом доби, що характерно для помірних і високих широт. В умовах короткого дня (12-13 год.) цибулина у більшості високоширотних сортів не утворюється. Тому в тропіках в умовах короткого дня можливе вирощування лише спеціальних сортів, що володіють невеликою критичної довжиною дня і здатних утворювати цибулини.

Якщо в помірних широтах терміни вирощування цибулі визначаються температурними умовами, то в тропіках визначальним фактором є розподіл опадів протягом року. Наприклад, в Північній Індії основний сезон для вирощування цибулі – «рабі» (жовтень-березень), коли випадає найменша кількість опадів. Урожай же, вирощений в мусонний сезон – «хариф» (липень - жовтень), набагато менше, та й гірше зберігається. На півдні Індії, де мусонний характер клімату виражений ще сильніше, основним сезоном вирощування цибулі є «наварай» (збігається з «рабі» на Півночі) [2,4].

Генетична характеристика. Цибуля ріпчаста має 16 хромосом (2n = 16), що добре фарбуються. Тривалість клітинного циклу становить приблизно 17,8 години. Мітотичний індекс може коливатися в різних коренях однієї і тієї ж рослини, але усереднені дані є досить стійкими. Тривалість мітозу в різних тканинах кореня *Allium cepa* однакова і не змінюється по довжині кореня [5].

### 1.2.2 *Аllium porrum* – цибуля-порей

Ботанічна характеристика. Цибуля-порей – це дворічна (в культурі) трав'яниста рослина. Зовні вона схожа на широколистий часник. У перший рік вона утворює розетку листя, нижні частини якого змикаються, утворюючи вибілене несправжнє стебло - основну продуктивну частину рослини довжиною до 50 см і діаметром до 3-4 см. Листя у неї наростає до глибокої осені, коли інші види цибулі зелені вже не дають. Доросла рослина має 9-13 плоских, лінійних листків.

У перший рік життя утворює потужну кореневу систему, велику кількість плоских довгих (40-60 см) листків, розташованих віялом. На другий рік формується квітконосне стебло (стрілка) заввишки до 2 м і насіння (рис. 1.2). Квітки у порею дрібні, рожеві і біло-рожеві, зібрані в суцвіття – зонтик, спочатку закритий чохлом. Запилення перехресне. Насіння тригранне, зморшкувате, зовні нагадує насіння ріпчастої цибулі. Зберігає схожість два-чотири роки. Розмножується насінням. У центральних і північних районах використовують розсадний метод [6].



Рисунок 1.2 – *Allium porrum*, рослина першого та другого року [1]

Екологічна характеристика. Батьківщина – [Передня Азія](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%B4%D0%BD%D1%8F_%D0%90%D0%B7%D1%96%D1%8F), звідки цей вид цибулі потрапив до [Середземномор'я](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%B4%D0%B7%D0%B5%D0%BC%D0%BD%D0%BE%D0%BC%D0%BE%D1%80%27%D1%8F), на території якого і зараз зустрічається його дикоросла форма - [цибуля виноградна](https://uk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%A6%D0%B8%D0%B1%D1%83%D0%BB%D1%8F_%D0%B2%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D1%80%D0%B0%D0%B4%D0%BD%D0%B0&action=edit&redlink=1) (*Allium ampeloprasum*). Культурний же вигляд, ймовірно, розвинувся з нього давно, оскільки у [Стародавньому Єгипті](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D1%82%D0%B0%D1%80%D0%BE%D0%B4%D0%B0%D0%B2%D0%BD%D1%96%D0%B9_%D0%84%D0%B3%D0%B8%D0%BF%D0%B5%D1%82) цибуля вже була однією з найважливіших овочевих культур. Вона була відома в античні часи в [Греції](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D1%80%D0%B5%D1%86%D1%96%D1%8F) та [Римі](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D1%82%D0%B0%D1%80%D0%BE%D0%B4%D0%B0%D0%B2%D0%BD%D1%96%D0%B9_%D0%A0%D0%B8%D0%BC). В середні віки її культивували вже по всій Європі.

Вирощується по всьому світі – у [Європі](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%84%D0%B2%D1%80%D0%BE%D0%BF%D0%B0), в середземноморських країнах, в [Північній Америці](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%96%D0%B2%D0%BD%D1%96%D1%87%D0%BD%D0%B0_%D0%90%D0%BC%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%BA%D0%B0). Найбільшу її кількість вирощує [Західна Європа](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%97%D0%B0%D1%85%D1%96%D0%B4%D0%BD%D0%B0_%D0%84%D0%B2%D1%80%D0%BE%D0%BF%D0%B0), в першу чергу [Франція](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%86%D1%96%D1%8F). В [Україні](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A3%D0%BA%D1%80%D0%B0%D1%97%D0%BD%D0%B0) порей вирощують по всій території.

Цибуля-порей досить холодостійка культура, при укритті снігом витримує зимівлю у відкритому ґрунті заморозки до мінус 5-6°С. Якщо снігу немає, то вже при температурі мінус 15°С вона гине [5].

Росте на чорноземних, дерново-підзолистих, досить зволожених ґрунтах. Для зимового використання її викопують восени і зберігають у підвалі, встановлюючи рослини впритул і присипаючи піском. У таких умовах вона добре зберігає товарні якості і продовжує накопичувати вітамін С. Рослини, що залишилися в ґрунті добре перезимовують і рано навесні починають рости. Їх викопують у міру потреби.

Розмножують цибулю-порей розсадним і безрозсадним способами. Розсаду (60-денну) висаджують в ґрунт в квітні. Насіння висівають навесні і влітку. Обов'язковим агротехнічним заходом є підгортання рослин для отримання щільних вибілених стебел. У перший рік культури урожай збирають у серпні-вересні, а в наступний – в травні-червні [2,4].

Генетична характеристика**.** Кількість хромосом2n=16 [6].

## 1.3 Загальна характеристика пестицидів та їх класифікація

### 1.3.1 Застосування пестицидів у світовому масштабі і в Україні

Пестициди (від грецьких слів “pestis ” - зараза і “cido” – вбивати) - отрутохімікати, які широко використовують як ефективний засіб боротьби зі шкідниками і хворобами рослин та засіб захисту тварин від ектопаразитів а також для боротьби з гризунами.

Світове сільське господарство щорічно зазнає великих втрат від шкідливих організмів. За даними FАО (продовольчої організації ООН), втрати врожаю в світі через пошкодження шкідливими організмами сягають до 35%, а в Україні 33-48%.

За даними Головної державної інспекції захисту рослин України "Головдержзахист", на загал сільськогосподарським культурам та продукції рослинництва шкодять понад 400 видів шкідників, 200 збудників хвороб, 300 видів бур'янів.

В Україні фермери використовують 1,2 кілограма пестицидів на гектар, в той же час коли у країнах Європейського Союзу – 6–7 кілограмів, а в США – 12. Саме тому експерти стверджують, що українська сільськогосподарська продукція є вдвічі екологічно чистішою, ніж у західних передових країнах [7].

Асортимент пестицидів в Україні становить близько 268 найменувань, а їхній препаративний тоннаж сягає 36 тис. тонн при потребі 40 тис. тонн, і застосовуються вони на 40 млн. га угідь сільськогосподарського призначення. Більше того, в Україні активно розвивається застосування біологічного методу захисту рослин. Якщо в 2000 році такі препарати застосували на площі 400-600 тисяч гектарів, то в 2011-му – вже 2,4 мільйони гектарів було оброблено біологічним методом захисту рослин.

Витрати на застосування засобів захисту рослин сьогодні є цілком виправданими та показують, що 1 грн., затрачена на боротьбу зі шкідливими організмами, забезпечує виробникові збереження 3-4 грн. у вигляді вирощеної продукції [8].

### 1.3.2 Класифікація пестицидів за хімічною природою, об’єктами застосування, способами надходження до організму та особливостями дії.

Для ефективного застосування пестицидів і можливості контролю їх залишкового вмісту в об’єктах довкілля, в тому числі і в продуктах харчування, проводять класифікацію пестицидів.

У колишньому СРСР першу класифікацію пестицидів було розроблено в 1967 р. під керівництвом академіка АМН СРСР Л.І. Медведя. До цієї роботи були залучені провідні гігієністи і токсикологи з різних установ України. На основі ретельного аналізу наукових досягнень у цій галузі за майже 30-річний період у класифікацію пестицидів внесено відповідні доповнення [9].

Нині існує міжнародна класифікація, яка надрукована в одинадцятому виданні «Довідник з пестицидів» Британської ради із захисту рослин. Проте в державах СНД науковці і виробничники поки що користуються класифікацією, опрацьованою М.М. Мельникови [10].

Класифікація пестицидів за хімічним складом є найпоширенішою.

Також за хімічним складом їх поділяють на три основні групи:

1. неорганічні сполуки (сполуки ртуті, міді, сірки, фтору, барію, бору, миш'яку і т.д.)
2. органічні сполуки (хлорорганічні, фосфорорганічні, синтетичні піретроїди, нітрофеноли, похідні тіо-і дітіокарбамінової кислот і т.д.);
3. біогенного походження, створені з продуктів життєдіяльності або самих бактерій, вірусів, грибів, рослин (піретріни, антибіотики).

Варто зазначити, що всі існуючі класифікації не є постійними, вони змінюються у міру розвитку хімічної промисловості та хімії пестицидів.

За призначенням усі пестициди поділяються на такі групи:

1. інсектициди — для знищення шкідливих комах;
2. акарициди — для знищення рослиноїдних кліщів;
3. інсектоакарициди — для одночасного знищення шкідливих комах і рослиноїдних кліщів;
4. афіциди — для знищення попелиць;
5. нематоциди — для знищення фітопатогенних нематод;
6. лімациди — для знищення слимаків;
7. родентициди — для знищення гризунів;
8. фунгіциди — для знищення збудників грибних захворювань;
9. бактерициди — для знищення збудників бактеріальних хвороб;
10. гербіциди — для знищення небажаної трав’яної рослинності (бур'янів);
11. альгіциди — для знищення водоростей.
12. арборициди — для знищення небажаної деревної та чагарникової рослинності [10].

Окрему групу становлять препарати — протруйники насіння. У сучасному є і біологічно активні речовин:

1. синтетичні феромони — речовини, які приваблюють самців комах;
2. репеленти — речовини, запах і смак яких відлякують комах і тварин;
3. стерилянти — хімічні сполуки різного походження, які при потраплянні в організм комах позбавляють їх здатності до розмноження;
4. гормони — речовини високої біологічної активності, які, потрапляючи в організм, регулюють його найважливіші функції (регулятори росту, розвитку і розмноження комах);
5. антифіданти — речовини, які пригнічують живлення комах[11].

Є кілька груп препаратів зі специфічною дією безпосередньо на рослини:

1. дефоліанти — речовини, що зумовлюють опадання листя;
2. десиканти — речовини, що зумовлюють висихання рослин на корені;
3. ретарданти — речовини, що стримують ріст рослин і призводять до вкорочення стебел і пагонів;
4. регулятори росту — хімічні сполуки, що впливають на процеси росту і розвитку рослин, комах;
5. синергісти — речовини, що посилюють дію пестицидів;
6. фуміганти — для знищення шкідників і збудників хвороб рослин у закритих приміщеннях.

За способом надходження до організму пестициди, що застосовуються проти шкідників тваринного походження, поділяють на:

1. кишкові — потрапляють в організм через ротовий отвір та органи травлення (придатні лише для боротьби з шкідниками, які мають ротові органи гризучого типу);
2. контактні — потрапляють в організм крізь покривні тканини (придатні для боротьби з усіма шкідниками, що ведуть відкритий спосіб життя, але ними користуються переважно для знищення шкідників з тонкою, слабкохітинізованою шкірою, крізь яку препарат може легко проникати всередину тіла);
3. системні — проникають у рослини і роблять отруйними їх соки (ефективними проти переважної більшості дрібних, сисних комах і рослиноїдних кліщів, що живуть потайки та різних гризучих комах-мінерів);
4. фуміганти — потрапляють в організм через органи дихання (проти шкідників, що живуть потайки і яких важко або зовсім неможливо знищити препаратами іншої дії та для знезараження культиваційних споруд закритого ґрунту від комплексу шкідливих організмів).

Більшість сучасних препаратів здатні діяти на шкідників одночасно через шлунок, шкірні покриви, дихальні органи і проникати у тканини рослин, тому їх прийнято називати препаратами комплексної дії [12].

### 1.3.3 Загальні вимоги до пестицидів, відповідність сучасного асортименту цим вимогам.

До хімічних сполук, які використовуються або пропонуються для захисту рослин від шкідливих організмів, висуваються такі вимоги:

1. пестицидна ефективність — повинні знищувати або обмежувати розвиток шкідливих тварин, збудників хвороб, бур'янів, не впливаючи негативно на довкілля;
2. економічна ефективність — витрати на використання препарату повинні бути значно меншими порівняно з вартістю збереженої сільськогосподарської продукції внаслідок його застосування;
3. санітарно-гігієнічні властивості — не спричинювати негативного впливу на здоров'я людей і довкілля під час використання і у віддаленому майбутньому.

Швидкість метаболізму пестицидів для різних класів хімічних препаратів є різною і, за цією ознакою, пестициди поділяють на дуже стійкі (період метаболізму на нетоксичні компоненти більше 2 років), стійкі (період метаболізму від 6 місяців до 2 років), помірно-стійкі (період метаболізму 1-6 місяців) і малостійкі (період метаболізму менше 1 місяця). Використовувані пестициди повинні бути малостійкі до дії факторів довкілля, що попередить можливість їх накопичення в об’єктах навколишнього середовища, а також в біологічних об’єктах при русі по трофічному ланцюгу [13].

### 1.3.4 Класифікація гербіцидів, особливості дії на рослини та причини їх вибірковості. Методи та строки застосування гербіцидів.

Гербіциди — хімічні препарати з групи пестицидів, які використовують для знищення небажаних трав'янистих рослин. До цієї групи належать арборициди (для знищення чагарників) і альгіциди (для знищення водоростей). Відомо понад 1000 сполук з гербіцидними властивостями.

За хімічним складом їх поділяють на неорганічні, використання яких постійно зменшується (хлорат магнію, хлорат-хлорид кальцію та ін.) та органічні (переважна більшість гербіцидів). Залежно від властивостей гербіциди виявляють суцільну або вибіркову (селективну) дію.

Гербіциди суцільної дії застосовують для знищення всіх бур'янів та іншої небажаної рослинності на землях не с.-г. використання (узбіччя доріг, зрошувальні й осушувальні канали, лінії електропередач, тощо). Для цієї мети використовують препарати: реглон, раундап, арсенал, баста. Багато препаратів при завищених нормах можуть виявити суцільну дію.

Гербіциди вибіркової (селективної) дії здатні знищувати або пригнічувати ріст одних рослин у посівах за наявності інших рослин, які під дією гербіцидів нормально ростуть і розвиваються [14].

Вибірковість гербіцидів залежить від анатомо-морфологічних і фізіологічних особливостей рослин і зумовлена хімічною будовою сполуки, нормою витрати, формою препарату, строком і способом застосування, фазою розвитку культурних рослин і бур'янів, впливу умов зовнішнього середовища (ґрунт, вологість, температура) та інших факторів. Селективні препарати здатні знищувати значну кількість видів бур'янів. Зокрема, такі гербіциди, як діален, базаграи, гранстар спричинюють загибель двосім'ядольних бур'янів у посівах зернових колосових культур, що характеризує їх як препарати широкої вибіркової дії.

Однак частина гербіцидів відзначається вузькою вибірковістю. Наприклад: тарга, фюзилад, поаст, фуроре супер знищують односім'ядольні бур'яни родини тонконогих у посівах двосім'ядольних сільськогосподарських культур, а препарат пума супер здатний знищити вівсюг і мітлицю звичайну в посівах озимої пшениці, хоча вони й належать до однієї родини.

Стійкі до гербіцидів культурні рослини виявляють біохімічну вибірковість внаслідок швидкого руйнування молекули гербіциду до неактивних компонентів (виділяння гербіцидів через кореневу систему, зв’язування його білковими комплексами клітинних структур, руйнування пероксидазою - сим-триазинова група).

Знання механізмів стійкості рослин до гербіцидів дає можливість керувати цим процесом. Використання антидотів (К-25788) і пролонгаторорів (К-33865), хімічних засобів підвищення стійкості культурних рослин до гербіцидів вважається перспективним напрямом керування стійкістю [15].

Визначення генетичного коду стійкості рослин до гербіцидів дає можливість переносити гени стійкості в культури та вирішувати проблему регулювання рівня забур'яненості посівів за допомогою гербіцидів суцільної дії, до яких стійкості в культури не було (гліфосату, глуфосинату амонію).

Гербіциди контактної дії — препарати, які здатні уражати рослини в місцях змочування робочою сумішшю.

Гербіциди системної дії здатні рухатися судинно-провідною системою, впливаючи на всю рослину і викликаючи загибель як надземних, так і підземних її органів за рахунок дифузії, транспірації, використання енергії аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ).

Препарати листкової дії — проникають через (листки, стебла, черешки) і застосовуються після появи сходів культури та бур'янів (бетанал, поаст, гродил та ін.).

Гербіциди ґрунтової (кореневої) дії - проникають у рослини через кореневу систему і виявляють дію на проростки насіння (дуал, зенкор, прометрин та ін.) [16].

Строки застосування гербіцидів:

 - Осіннє (завчасне) внесення гербіцидів проводиться в системі основного (зяблевого) обробітку ґрунту з метою знищення багаторічних кореневищних і коренепаросткових видів бур'янів (раундап, баста) проти пирію повзучого, видів осоту, гірчака рожевого та ін.

 - Допосівне і допосадкове застосування гербіцидів ґрунтової дії (трефлан, дуал, зенкор, прометрин та ін.) проводиться під час передпосівної культивації — дисковою чи зубовою бороною у вологий шар ґрунту. Припосівне застосування гербіцидів відбувається одночасно з посівом шляхом внесення гранульованих препаратів за допомогою спеціальних аплікаторів або стрічкового внесення робочих сумішей в захисну зону широкорядного посіву просапних культур.

 - Досходове застосування гербіцидів проводять після посіву або по сходах бур'янів, але до появи сходів культурних рослин (ґрунтові препарати: харнес, дуал голд, трофі супер, фронтьєр та ін) [17].

Передовий досвід захисту культур від бур'янів переконує, що в зоні достатнього зволоження досходове застосування гербіцидів не поступається (в окремих випадках навіть перевищує) ефективності допосівного їх внесення. У зоні нестійкого зволоження і ризикованого землеробства доцільніше вносити гербіциди під передпосівну культивацію із загортанням їх у вологий шар ґрунту.

Практика світового землеробства віддає перевагу післясходовому внесенню гербіцидів. Його переваги: можна визначити чисельність бур'янів і доцільність застосування гербіцидів, знаючи видовий склад бур'янів, цілеспрямовано підібрати препарати і використати їх з найбільшою ефективністю разом із захистом від шкідників і хвороб, регуляторів росту, ретардантів, позакореневим підживленням мікро- і макроелементами[17, 18].

Гербігація - обробка гербіцидами одночасно з поливом по борознах або дощувальними агрегатами. При цьому досягаються рівномірний розподіл гербіциду по площі і висока загибель бур'янів.

Під впливом гербіцидів у рослинах відбуваються реакції:

Фаза 1 — стимуляція (триває до 2 днів), яка супроводжується посиленням фотосинтезу, поглинанням йонів, РНК, збільшенням маси тощо;

 Фаза 2 — перерозподіл асимілятів (від 2 до 7 днів), що супроводжується подовженням стебел, розростанням тканин, в'яненням листків.

Фаза 3 — загибель рослин (від 7 до 10 днів).

Вибір і правильний розрахунок норми витрати гербіцидів мають винятково важливе значення в досягненні максимального ефекту в захисті культур від забур'янення. Застосування підвищеної норми може спричинити пригнічення, зрідження або й загибель культури, негативно вплинути на залишкові кількості пестициду в продукції, призводить до значних економічних втрат, забруднення довкілля. Обробка зменшеною нормою препарату послаблює його захисну дію, що виявляється у збільшенні забур'яненості і недоборі урожаю [18].

Для встановлення оптимальної норми ґрунтових гербіцидів насамперед слід враховувати гранулометричний склад і вміст гумусу в ґрунті.

Обприскування — найпоширеніший спосіб застосування гербіцидів.

Ультрамалооб'ємне —з витратою до 5 л/га; малооб'ємне — 10 — 100 л/га; звичайне — 150 - 300 л/га; великооб'ємне — понад 300 л/га.

Норми витрати рідини для тракторних обприскувачів:

1. - для контактних гербіцидів — 300 — 600 л/га;
2. - для системних гербіцидів — 150 - 300 л/га;
3. - для ґрунтових гербіцидів — 300 - 400 л/га.

Для авіаційних обприскувачів норми витрати рідини: 25 —150 л/га; при застосуванні десикантів — 100 — 200 л/га.

Хімічна прополка передбачає боротьбу з бур'янами за допомогою гербіцидів. Гербіциди при хімічній прополці здатні вибірково порушувати обмін речовин в бур'янистих рослинах, вбивати їх проростаючи кореневища і насіння, викликати відмирання тканин, на які потрапив препарат, і в той же час не ушкоджувати культурні рослини [19].

### 1.3.5 Коротка характеристика гербіциду «Ураган» (гліфосат) та його дія на культурні рослини та бур’яни

«Ураган» ( діюча речовина гліфосат) –хімічна речовина з групи фосфонатів (солі фосфітної кислоти), є пестицидом широкого спектру дії, найчастіше вживаним для знищення небажаних рослин-бур'янів, як при веденні сільського господарства, так і в несільськогосподарських умовах.

Більшість продуктів, що містять гліфосат, або виготовляється, або використовується разом з поверхнево-активною речовиною, що допомагає гліфосату проникнути в клітини рослин. Поверхнево-активна речовина, що використовується в поширеному продукті на базі гліфосату (відомому під назвою «Ураган»), більш токсична, ніж сам гліфосат, а комбінація цих двох речовин ще більш токсична [20].

Гербіциди на базі гліфосату, пропоновані виробниками як мало токсичні і дружні до навколишнього середовища, можуть здаватися панацеєю при боротьбі з небажаними рослинами. Тим часом, продукти, що містять гліфосат, володіють гострою токсичністю для тварин, включаючи людину. Симптоми: подразнення очей і шкіри, головний біль, нудота, заціпеніння, гіпертонія і тахікардія. Спостереження за людьми (в основному фермерами), що мають контакт з гліфосатом, показали, що такий контакт асоціюється зі збільшенням ризику мимовільних абортів, передчасними пологами і ракової лімфомою.

Препарат вперше був зареєстрований в США в 1974 році і застосовується для боротьби з бур'янами в широкому спектрі сільськогосподарських, міських, садово-паркових, водних і лісових ситуацій. Більшість гербіцидів містить ізопропіламінову сіль гліфосату. Найпоширеніше використання його відзначено при вирощуванні соєвих бобів, кукурудзи, сіна на пасовищах і на землях під паром [21].

Застосування гліфосату в даний час збільшується, в основному внаслідок недавньої розробки за допомогою генної інженерії і інтродукції рослин, толерантних до гербіциду. Гліфосат, N - (фосфонометіл) - гліцин є невибірковим гербіцидом, що чинить вплив на весь організм, який використовується для знищення широколистяних, трав'янистих і осокових видів рослин. Гліфосат добре поглинається надземними органами рослин і пересувається в коріння. До нього чутливі однорічні та багаторічні однодольні і дводольні рослини, в тому числі такі кореневищні, як пирій, собачий зуб, сорго, костриця, осот жовтий, осот польовий, лобода біла та інші. Пересувається гліфосат з місця внесення повільно (7-10 днів), але на великі відстані (на глибину до 2 м) і викликає загибель кореневищ в радіусі 30 см. Багаторічні бур'яни пригнічуються протягом усього вегетаційного періоду, однорічні - до повторного відростання нових. Візуально ефект проявляється на однорічних рослинах через 2-4 дні, на багаторічних - через 7-10 днів, а повна загибель бур'янів настає через 20 днів і більше після застосування препарату. Прохолодна і хмарна погода сповільнює прояв фітотоксичності гербіциду, а опади, що випали менш ніж через 2 години після обприскування, можуть знизити ефективність обробки.

Бур'яни спочатку набувають світло-зеленого забарвлення, потім жовтіють, знебарвлюються, втрачають тургор, засихають і через 14-20 днів гинуть.

Механізм дії гліфосату за даними EPA в даний час досконально не вивчений. Але завдяки дослідженням встановлено, що гліфосат пригнічує ферментний шлях за участю шихімової кислоти, не дозволяючи рослинам синтезувати три ароматичні амінокислоти (триптофан, тирозин, фенілаланін). Ароматичні амінокислоти виконують важливу роль в клітинному метаболізмі. Вони входять до складу білків і служать вихідними сполуками для метаболізму фенілпропаноїдів - «масової продукції», що утворюється в процесі росту рослини. До їх складу входять пігменти і полімер клітинних стінок - лігнін. Ключовий фермент, що інгібується гліфосатом, називається EPSP-синтаза (5-енолпірувілшикімат-3-фосфатсинтаза). Гліфосат може впливати на ферменти рослини не пов'язані з участю шихімової кислоти. У цукрової тростини він знижує активність ферменту, який бере участь у метаболізмі цукру. Він також інгібує головний детоксифікуючий фермент рослин [22].

Фактично кожен пестицид, крім так званої «активної» речовини, призначеного для знищення рослин, містить також інші інгредієнти. Ці інгредієнти неточно називають «інертними». «Інертні» складові призначені для полегшення використання продукту і збільшення його ефективності. Як правило, ці складові не вказуються на етикетках пестицидних продуктів. Гліфосат є представником органофосфонатів з активованим прямим С-Р зв'язком і становить основу багатьох гербіцидів .

Стійкість гліфосату в грунті змінюється в широких межах, і немає однозначної відповіді на питання, скільки часу гліфосат залишається в грунті. Періоди напіврозпаду (час, необхідний для розпаду або виносу половини початкової кількості гліфосату), певні виробники гліфосату, вказують від 3 до 141 доби. Вважається, що гліфосат утворює міцні комплекси з більшістю грунтів. Це означає, що зараження гліфосатом води і грунту поза ділянкою його застосування малоймовірне. Однак цей зв'язок з грунтом є оборотним. Наприклад, деякі дослідження показали, що гліфосат легко зв'язується з різними видами грунтів. Однак десорбція, коли гліфосат від'єднується від частинок грунту, відбувається також легко. Гліфосат був виявлений як в поверхневих, так і в грунтових водах. Стійкість гліфосату в воді нижче, ніж в грунті. Гліфосат може завдати шкоди багатьом організмам, які не є мішенню для пестициду. Є також і інші серйозні ефекти, такі, як вплив на рідкісні види рослин, погіршення якості насіння, зниження здатності фіксувати азот, збільшення схильності рослин хворобам і зменшення активності мікоризних грибів [23].

Cублетальная обробка «Ураганом» сильно погіршує схожість насіння і розвиток розсади в польових умовах. При найменших перевірених концентраціях гліфосату схожість насіння зменшилася в межах від 24 до 85%, а вага розсади - від 19 до 83%.

Більшість живих істот не здатна засвоювати азот в чистому вигляді і отримують його у вигляді аміаку і нітратів. Аміак і нітрати утворюються в результаті процесів, які називаються фіксацією азоту і нітрифікації. Ці процеси здійснюються бактеріями, що живуть в ґрунті і в бульбочках на коренях бобових і деяких інших рослин. При концентраціях, відповідних типовим дозам застосування, гліфосат знижує на 70% число азотфіксуючих бульбочок у конюшини, висадженої через 120 днів після обробки; аналогічна концентрація гербіциду з гліфосатом знижує на 27% число бульбочок у конюшини, що вирощується на гідропоніці. Схожа концентрація гліфосату зменшує на 20% процес фіксації азоту бактеріями в грунті. Обробка гербіцидом з гліфосатом при найнижчій перевіреній концентрації (в 10 разів меншій, ніж при типовій дозі його застосування) зменшує число бульбочок у конюшини на 68-95%.

Мікоризні гриби - це корисні гриби, що живуть на коренях і навколо коренів рослин. Вони допомагають рослинам засвоювати поживні речовини і вологу з ґрунту і можуть захистити їх від холоду і посухи. Виявляють токсичність «Урагану» по відношенню до мікоризних грибів, асоційованих з хвойними деревами, при концентраціях від 1 частини на мільйон, що нижче концентрації в грунті при типових дозуваннях застосування. У орхідних обробка гліфосатом змінювала корисну взаємодія між орхідними і їх мікоризою на паразитичне взаємодія (що не приносить користі рослинам) [24].

### 1.3.6 Коротка характеристика гербіциду «Оберіг» (хізалофоп-П-етил) та його дія на культурні рослини та бур’яни

«Оберіг» — високоефективний протизлаковий післясходовий гербіцид, селективний практично до багатьох широколистих культур. Препарат вирізняється надзвичайно м’якою дією на культурну рослину, ефективний у боротьбі з падалицею попередніх зернових культур.

«Оберіг»— гербіцид системної дії, діюча речовина (хізалофоп-П-етил) якого акумулюється як в наземній, так і в підземній частинах однодольних бур’янів (кореневища, підземні пагони). Діюча речовина руйнує синтез жирних кислот в точках росту. Внаслідок цього вже за кілька годин після внесення бур’яни припиняють ріст, а через дві доби вже можна спостерігати перші візуальні ознаки дії гербіциду: центральний пагін легко витягується і має характерне жовтувате забарвлення. Повна загибель бур’янів спостерігається через 7–10 (для однорічних) та через 14–20 (для багаторічних) днів. Повторне відростання бур’янів неможливе.

Діюча речовина гербіциду швидко розкладається у ґрунті (період напіврозпаду становить 7 днів), а тому препарат не впливає на наступні культури сівозміни.

Хізалофоп-П-етил ефективний проти однорічних та багаторічних злакових бур’янів: вівсюг посівний, вівсюг звичайний, просо напівквітуче, пирій повзучий, лисохвіст, мишій та ін.

Слід зазначити, що хізалофоп-П-етил широко застосовується в сільському господарстві для захисту рослин і входить до складу ряду препаратів, які включені в "Перелік пестицидів та агрохімікатів, дозволених до використання в Україні" [25].

Відповідно до даних літератури основним в характері токсичної дії хізалофоп-П-етилу є гепатотропний ефект, який проявляється у всіх видів тварин при його впливі в високих концентраціях. Хізалофоп-П-етил швидко метаболізує в організмі до хізалофоп-п-кислоти і виводиться із сечею і фекаліями. З огляду на токсикологічні властивості, BOЗ класифікувала хізалофоп-П-етил як пестицид 2 класу небезпеки [26].

Позитивною рисою гербіциду, про яку свідчать дані літератури про поведінку хізалофоп-П-етилу в об'єктах навколишнього середовища, є мала стійкість в продуктах врожаю. Речовина швидко деградує в ґрунті з утворенням проміжного метаболіту – хізалофоп-П-кислоти, в грунтах з високою мікробної активністю гідроліз протікає швидше. Хізалофоп п етил помірно сорбується і характеризується невеликою рухливістю в грунті, стабільний в нейтральних і слабокислих розчинах, не стабільний в лужних розчинах.

Наведений короткий огляд даних літератури показав, що негативний вплив хізалофоп-П-етилу на організм свідчить про актуальність і необхідність всебічного токсиколого-гігієнічного дослідження речовини і препаратів на її основі. Відомостей про параметри токсичності хізалофоп-П-етилу і гербіцидного препарату «Оберіг» у виробника не вказувалося [27].

## 1.4 Відомі результати дослідження токсичного впливу пестицидів на живі організми

Відомі деякі результати дослідження цитогенетичних ефектів пестициду «Ридоміл голд». Дослідження проводилися на проростках і кореневій меристемі цибулі ріпчастої *Allium cepa* сорту Денсіті. Насіння цибулі поміщали в чашки Петрі на змочений розчином пестициду відповідної концентрації фільтрувальний папір і поміщали в термостат при температурі 20о С (в триразовій повторності по 50 насінин на кожен варіант дослідження). Контролем служило насіння, пророщене в дистильованій воді.

У дослідження були включені три варіанти: варіант 1 - 0,6% розчин торгового препарату «Ридоміл Голд МЦ» компанії «Сингента» (рекомендована концентрація); варіант 2 - 0,06% розчин; варіант 3 - 0,006% розчин. Для встановлення фітотоксичної ефекту розраховували лабораторну схожість насіння на 12 день і довжину первинних корінців через 72 год. з моменту посіву насіння. Брали до уваги довжину всіх пророслих корінців на варіант.

Мутагенну дію пестициду визначали за допомогою ана-телофазного тесту: на стадіях пізньої анафази і ранньої телофази розраховували кількість клітин з хромосомними і хроматичними мостами і одинарними і подвійними фрагментами.

Аналіз отриманих даних показав, що в варіанті 1 спостерігалося збільшення відносної тривалості метафази і зменшення тривалості анафази. Це можна пояснити або більш швидким проходженням анафази в умовах стресу або, що більш ймовірно, затримкою мітотичного поділу на стадії метафази. Відомо, що саме між метафазою і анафазою знаходиться одна з так званих "контрольних точок" мітотичного циклу, в якій перевіряється правильне приєднання кінетохор хромосом до мікротрубочок веретена. Поки сестринські хроматиди утримуються разом в області центромери білками - когезинами, клітина не переходить до наступної фази клітинного циклу - анафази. Можливо, наявність хромосомних перебудов порушує правильне приєднання кінетохор хромосом до мікротрубочок веретена поділу, що викликає затримку руйнування когезинів, що здійснює фермент сепараза після фосфорилювання відповідних білків [28].

Показовою оцінкою мутагенної активності є частота хромосомних перебудов обмінного типу, причиною яких є фрагментація хромосом з наступним правильним чи помилковим з'єднанням відкритих кінців хромосом.

Автори проаналізували частоту хромосомних перебудов в анафазі та телофазі мітозу апікальної меристеми цибулі в контролі і трьох варіантах досліду - при обробці пестицидом «Ридоміл Голд» в концентрації 0,6% (рекомендованої до використання), 0,06% та 0,006%.

У третьому варіанті - при замочуванні насіння цибулі в 0,006% розчині «Ридоміл Голд» спостерігалося суттєве зростання частоти клітин з хромосомними абераціями обмінного типу у вигляді подвійних фрагментів і хромосомних мостів в анафазі та телофазі, всього 17,5 ± 4,8% в порівнянні з 5,4 ± 2,3% в контролі. Різниця між контролем і дослідом за сумарною кількістю хромосомних аберацій є статистично достовірною (tst = 2,28). Отже, оцінка по частоті хромосомних аберацій була б ще вище, ніж розрахована частота клітин з порушеннями. Серед мостів і фрагментів переважали хромосомні (подвійні) мости і подвійні фрагменти, що свідчить про дію досліджуваного пестициду в пресинтетичному періоді G1 - ранньому синтетичному S, до реплікації хромосом. Отже, 0,006% концентрація пестициду «Ридоміл Голд» володіє мутагенним (кластогенним) ефектом [29].

Необхідно відзначити, що в дослідженнях гербіциду «Ридоміл Голд Плюс», що містить суміш манкоцебу і гідроксиду міді, автори виявили високий відсоток порушень конденсації хроматину і хромосомних перебудов у вторинних корінцях цибулі при використанні мінімальної концентрації фунгіциду 100 ppm [30], також мутагенний ефект гербіциду «Зенкор», виявлений на штамі S. typhimurium, проявлявся тільки в діапазоні низьких концентрацій [31]. Можливо, високі дози пестицидів призводять до апотозу клітин з значними порушеннями, в той час як низькі дози викликають обмінні аберації хромосом, з якими клітини виживають.

Насторожує факт, що генетичний ефект пестициду «Ридоміл Голд» проявляє в концентрації, яка фактично потрапляє при обробці на кожну рослину.

Дані результати показують, що високі дози пестициду «Ридоміл Голд» чинять фітотоксичний вплив на насіння цибулі, в той час як низька концентрація пестициду здійснює мутагенний, зокрема кластогенних ефект на кореневу меристему [32].

Також проводилися дослідження з визначення мітотичної активності клітин кореневої меристеми *Allium cepa* L. при спільному впливі залишкових кількостей пестицидів і важких металів.

Був проведений аналіз забруднення сільськогосподарських ґрунтів Криму залишковими кількостями пестицидів (байлетон, БІ-58, інсегар) і важкими металами (мідь, цинк, свинець). Для дослідження було обрано такі території, розташовані уздовж автотрас з різною інтенсивністю руху: I - Бахчисарайський район (с. Брянське) - низька інтенсивність руху, II - приміська зона м Алушти - середня завантаженість, III - Сімферопольський район (с. Кольчугіно) - висока інтенсивність руху автотранспорту. Контролем служили ґрунтові зразки з територій, що знаходяться на значній відстані від техногенних джерел, в якості фонових (Ф) використовувалися зразки ґрунтів придорожньої зони автотрас з інтенсивним рухом автотранспорту. У досліджених ґрунтових зразках сільськогосподарських угідь виявлені залишкові концентрації пестицидів (ЗКП) (байлетон, БІ-58, інсегар) в кількостях нижче гранично допустимої концентрації (ГДК), важкі метали (ВМ) (свинець і мідь) - вище ГДК. Вміст ВМ у ґрунтах: Сімферопольський район> Алушта> Бахчисарайський район> Фон. У фонових зразках концентрація ВМ - в межах ГДК [33].

Отже залишкові кількості пестицидів (байлетон, БІ-58, інсегар) і важкі метали (мідь, цинк, свинець) дають комплексний цитотоксичний ефект, що виявляється в зниженні мітотичного індексу клітин апікальної меристеми корінців *Allium cepa* L. Важкі метали та залишкові кількості пестицидів надають більш виражену інгібуючу дію на частоту мітозу в клітинах *Allium cepa* L., ніж окремо присутні в середовищі вирощування рослин важкі метали. У клітинах кореневої меристеми насіння, пророщеного в фонових ґрунтах (ВМ), спостерігалося формування профазного блоку. Поллютанти ґрунтів I зони (ВМ + ЗКП) індукували формування профазно-метафазного блоку при істотному зниженні частки ана-телофаз. При збільшенні вмісту забруднюючих речовин у ґрунтах II і III зони (ВМ + ЗКП) було виявлено достовірне збільшення процентного вмісту метафаз при зниженні загальної кількості клітин на стадії профази, анафази і телофази [34].

З метою підвищення врожайності зернових застосовують різні регулятори росту рослин, в тому числі і пестициди, одними з представників яких є гербіциди на основі 2,4-діхлорфенолоцтової кислоти (2,4-Д). Передбачається, що ці гербіциди пригнічують процесу зростання і розвитку широколистих бур'янів. Однак їх використання також може призводити до небажаних наслідків і для вирощуваних культур [35]. Дія 2,4-Д на рослини залежить від фізіологічної стадії зростання, так, періодами найбільшої сприйнятливості до 2,4-Д для пшениці є періоди швидкого зростання, коли спостерігається висока ступінь меристематичної активності [36]. У даному дослідженні на проростаючому насінні пшениці сорту «Ватан» і вівса сорту «Рисак» в середовищах з дистильованою водою і різними концентраціями 2,4-Д було відзначено пригнічення росту і розвитку насіння. А саме виявлено, що зі збільшенням концентрації кислоти знижується схожість насіння, їх сила росту, середні значення довжини коренів, колеоптиля, першого листа, а також погіршується здатність насіння до швидкого і загального проростання, тобто спостерігається зміна його посівних якостей. Вивчення препаратів корінців проростків (40x) показало, що збільшення концентрації 2,4-Д в середовищі культивування призводило до руйнування структури кореневого чохлика. Відзначалися також зміни в стані кореневих волосків. Чохлик, що представляє собою захисне покриття кореня, виявився найбільш чутливим до дії даного гербіциду[37].

Також дослідним шляхом було доведено, що пестицид БІ-58 надає фітотоксичної дії на насіння *Zea mays* L., *Allium cepa* L. і *Helianthus annuus* L., що виявляється в інгібуванні кореневого приросту і схожості.

Концентрація БІ-58 (0,1 мл/л), рекомендована до застосування, показала виражену фітотоксичну дію на *Allium cepa* L. і *Zea mays* L.

Доза, нижче рекомендованої виробником (0,05 мл/л) показала стимулювала зростання коренів і не впливала на схожість насіння *Zea mays* L. Встановлено, що БІ-58 в дозі 0,05 мл/л не чинив фітотоксичної дії на тест-культуру *Allium cepa* L., проте викликав зниження схожості насіння на 21,33%.

Найбільшою чутливістю до токсичної дії вивчених концентрацій БІ-58 володіли *Allium cepa* L. і *Zea mays* L., культура *Helianthus annuus* L. виявилася більш толерантною. Високі концентрації вивченого пестициду надають фітотоксичну дію на насіння *Allium cepa* L., *Zea mays* L. і *Helianthus annuus* L., що виявляється в інгібуванні корневого приросту і схожості насіння [38].

Також було досліджено окрему та сумісну дію гербіциду диметенаміду та підвищеної температури на проліферативну активність меристематичних клітин коренів кукурудзи. Визначено, що досліджувані фактори інгібують ріст коренів унаслідок зниження, насамперед, мітотичної активності меристемних клітин. Встановлено негативний вплив на ріст коренів кукурудзи гербіциду окремо та сумісно з підвищеною температурою протягом усього терміну проростання, який у даному досліді визначався через 24 год гіпертермією, а через 48 год – гербіцидом. У той же час частота різних порушень (вихід аберантних клітин, пікнотичні ядра) в мітотичних клітинах протягом усього періоду проростання визначалася діметенамідом. Аналізуючи зміни індексу аберацій і відсоток клітин із пікнотичними ядрами за групою анеугенних порушень, які спостерігалися в мітотичних клітинах, встановлено, що сумісна дія гербіциду та підвищеної температури збільшує кількість аберантних клітин, а температура – кількість клітин із пікнотичними ядрами [39].

Вивчення триазинових гербіцидів, що містять різні функціональні групи, на серії індикаторних штамів *Salmonella typhimurium* покзало, що: виявлена залежність прямого мутагенного ефекту триазинових з'єднань від їх хімічної структури; хлор-іазідовмісні сполуки не спричинили мутації у штамів *Salmonella typhimurium*; все метилпохідні виявилися мутагенними. Заміна метилтіогруппи на метоксігруппу посилювала мутагенність сполук [40].

Вивчення генотоксичного впливу препаратів гербіцидів «Раундап Макс», «Селефіт» та «Напалм» на ембріональний та постембріональний розвиток дрозофіли показав, що додавання гербіцидів «Раундап Макс», «Напалм», «Селефіт» у рекомендованих до використання кількостях до кормової суміші призводить до зниження виживаності мух на різних стадіях онтогенезу. Найбільша частота рецесивних зчеплених зі статтю летальних мутацій спостерігалася за впливу гербіциду «Раундап Макс». Вплив препаратів гліфосату («Раундап Макс», «Напалм») був більш вираженим порівняно з препаратом прометрину («Селефіт») [41].

Широке застосування в сільськогосподарському виробництві гербіцидів різних товарних марок, створених на основі гліфосату, виявило їх гостру токсичність для ссавців, включаючи людину. Цей факт був пояснений токсичністю супутніх компонентів, перш за все детергентів, які додавалися до гліфосату для поліпшення його споживчих властивостей. Гостра токсичність гербіцидів на основі гліфосату при пероральному введенні лабораторним тваринам (щури, миші) варіює, залежно від формули гербіциду і виду тварин, в межах від 1000 до 5000 мг/кг. В експериментах на тваринах, які зазнавали впливу різних доз гліфосатвмісних гербіцидів, виявлений ряд відхилень фізіологічного, біохімічного і морфологічного характеру. Описано численні випадки отруєння людей гліфосатвмісними гербіцидами, які потрапили в організм людини випадково або при спробі суїциду [42].

Гостра оральна токсичність самого гліфосату, без добавок, що входять в формулу гербіциду, в експериментах на гризунах, виявилася дійсно низькою - показник LD50 склав понад 5000 мг/кг для щурів і понад 10000 мг/кг для мишей [11]. При підшкірному введенні гліфосату показник LD50 також був досить великий і склав 3157 ± 112 мг/кг [43]. Можливо, з цієї причини дослідники мало уваги приділяли вивченню токсичного впливу на органи і системи ссавців самого гліфосату.

Аналіз даних літератури показав, що хізалофоп-П-етил (основна діюча речовина гербіциду «Оберіг») може впливати на організм. Відомості про параметри токсичності хізалофоп-П-етилу у різних виробників в гострому експерименті за даними літератури суперечливі. Так, при пероральному введенні величина ЛД50 для щурів самців коливається від 1010 до 6600 мг/кг, для щурів самок від 1082 до 5700 мг/кг. ЛД50 хізалофоп-П-етилу для щурів при інгаляційному впливі може становити 3.34 мг / л і 75 мг/л.

Цитогенетичні ефекти фенокси гербіциду, а саме. хізалофоп-П-етилу показала оцінка кореневих клітин меристеми *Allium cepa*. Цитологічні експерименти проводили з використанням концентрації хізалофоп-П-етилу 0,75%, 1,5% та 3 % розчинів за 24, 48, 72 та 96 год, з контролем для кожної комбінації. Спостерігалося зменшення мітотичного індексу зі збільшенням концентрації гербіциду в кожен момент впливу. У клітинах анафази-телофази загальний відсоток клейкості, мостів, бродячих хромосом, с-анафази, мультиполярності та фрагментів за загальними клітинами з хромосомними абераціями обчислювали відповідно 38,57%, 28,42%, 16,67%, 14,10%, 1,60% та 0,64% відповідно. Загальна кількість хромосомних аберацій зростала зі збільшенням концентрації хізалофоп-П-етилу. Мікроядерні клітини спостерігалися при інтерфазі. Частота мікроядер була помітно вище в 3% розчині порівняно з іншими тестовими концентраціями [44].

# 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

## 2.1 Матеріали досліджень

Експериментальна робота була проведена на базі навчальної лабораторії генетики та фізіології рослин Запорізького національного університету.

Об’єкт досліджень – корінці цибулини та насіння рослин роду *Allium L*. В роботі було використано цибулини ріпчастої цибулі (*Allium cepa)* та насіння цибулі-порей (*Allium porrum).*

Досліджувалася мутагенна активність гербіцидів з торговими назвами «Ураган форте» (концентрація 500 г/л калійної солі гліфосату – 100 мл, у вигляді водорозчинного концентрату, виробник - компанія Sygenta) та «Оберіг» (концентрація 90 г/л – 100 мл, у вигляді концентрату емульсії, виробник – Презенс Компані Лтд. ), діючими речовинами яких є гліфосат та хізалофоп-П-етил відповідно. Дані речовини є однокомпонентними та найбільш популярними серед покупців сільгосппродукції [45].

## 2.2 Методи досліджень

### 2.2.1 Підготовка матеріалу

Вибираємо насіння або цибулини для дослідження. Вибірка повинна бути однорідною як в контрольному, так і в дослідному варіантах досліду. Середня маса сівку - 10-20г, діаметром 1,5-2 см. Вибраний матеріал не повинен бути пересушеним. Якщо в якості об’єкту досліду обрані цибулини, то до початку експерименту у них не повинно бути зелених проростків листя [46].

Існує два варіанти *Allium*-тесту: оригінальний і модифікований.

В оригінальному варіанті тесту цибулини поміщають для пророщування корінців в чисту воду. Як варіант можна використовувати очищену питну воду низької мінералізації. Після досягнення корінцями 1-2 см цибулини переносять в ємності з досліджуваним розчином на певний час (від 2 годин у разі з розчином колхіцину до 3 діб). Оригінальний варіант найбільш зручний при тестуванні фізичних факторів.

У модифікованому варіанті тесту цибулини поміщають безпосередньо в досліджуваний розчин без попереднього пророщування корінців. Даний варіант частіше використовується при тестуванні хімічних речовин.

Для чистоти експерименту припустиме використання дистильованої води. При цьому цибулина буде рости за рахунок внутрішніх поживних резервів протягом усього експерименту не відчуваючи пригнічення. В експериментах, де досліджуються хімічно активні речовини бажано використовувати дистильовану воду, щоб уникнути утворення інших сполук. Обмеження тут в тому, що дистильована вода є фізіологічно неповноцінною і в цілому ряді інших тестів її не використовують[47].

Цибулини або насіння пророщують від 3 до 4 днів. Бажано використовувати ємності діаметром 1,5 см і заввишки 10 см, щоб у міру зростання коріння не впиралися в дно ємності, в якій воно знаходяться. Інакше це може призвести до деяких біологічних ефектів - реакція меристеми на перешкоду. Для пророщування насіння використовують чашки Петрі, на дно яких поміщують диск з фільтрувального паперу для більш однорідного зволоження, які потім поміщають в темне місце, періодично зволожуючи папір.

Попередньо пророщені цибулини (насіння) переносять в ємність з розчином речовини, що досліджується в різних концентраціях так, щоб корінці були повністю занурені. Кожна ємність має бути позначена етикеткою з вказуванням варіанту досліду, концентрації речовини, датою та часом обробки корінців речовиною.

Експозицію підбирають так, щоб дія препарату відбувалася на протязі повного клітинного циклу, тобто на протязі трьох періодів інтерфази (G1, S, G2) та мітозу. Для рослин роду *Allium* цей перід становить 14 годин.

Для проведення ана-телофазного аналізу беруть частину корінця довжиною приблизно 1 см. Проводять процедуру фіксації (для довготривалого зберігання). При необхідності корінці відмивають від фіксатора в воді, потім фарбують ацетокарміном згідно зі стандартною методикою. Для мікроскопування використовують кінчик кореня завдовжки 1-2 мм - зона активного ділення меристематичних клітин [48].

### 2.2.2 Методика вимірювання корінців у *Allium*-тесті

Виміряти довжину коренів можна двома способами.

Перший спосіб. Найчастіше довжину кореневої системи вимірюють зовні ємності, в якій проводили пророщування дослідного об’єкту, за допомогою рулетки (для кожної цибулини). При цьому реєструється максимальна досягнута довжина коренів (не враховуючи більш коротке коріння) для кожної цибулини. Потім обчислюється середнє по всій вибірці цибулин (від 3 до 5 штук) в варіанті досліду. Цей метод дозволяє проводити вимірювання протягом експерименту.

Більш точним є другий спосіб. Після закінчення експерименту коріння зрізаються у цибулини під основу, вимірюється довжина кожного корінця, обчислюється середнє значення (середнє значення для кожної цибулини). Пошкоджені корені не враховуються. Потім встановлюється середнє значення довжини коренів для всієї вибірки цибулин [49].

### 2.2.3 Фіксація та приготування препаратів для мікроскопічного дослідження

Для фіксації корінці поміщають в ємності з фіксатором Кларка (суміш 96% етилового спирту з льодяною оцтовою кислотою у співвідношенні 3:1). Ємності герметично закривають і залишають для фіксації клітин на 1-2 доби. Потім матеріал промивають два рази від фіксатора в 70% спирті, і поміщають в ємності з 70% спиртом для довготривалого зберігання. Спирт повинен перевершувати матеріал за обсягом в 4-5 разів.

Готують тимчасові роздавлені препарати кореневих меристем. Для цього фіксовані або свіжі корінці спочатку потрібно відмити від фіксатора (або спирту). Для цього спочатку матеріал відмивають у водопровідній, а потім у дистильованій воді. Потім поміщають у фарфоровий тигель з в 2% розчином ацетокарміну. Далі тигель нагрівають, проводячи 3-4 рази над полум’ям горілки до появи пару (не доводячи до кипіння). Тигель залишають на столі на 10-15 хвилин. Після цього необхідно злити відпрацьований розчин і замінити його на чистий розчин ацетокарміну. Корінці лишаються в фарбуватися в розчині від 30 хвилин до доби.

Корінці відмивають від фарбника в 45% оцтовій кислоті 10-15 хвилин. Для приготування чавленого препарату кореневої меристеми корінці витягають з розчину кислоти та поміщають на предметне скло. Від пофарбованого корінця потрібно лезом відрізати кінчик меристеми довжиною 2-3 мм (кінчик відрізняється по більш темному забарвленню і потовщенню). На скло необхідно крапнути 45% розчином оцтової кислоти, накрити покривним склом і за допомогою сірника акуратно розчавити до отримання моношару клітин. [50].

### 2.2.4 Аналіз мікропрепаратів

Препарати аналізують під мікроскопом при збільшенні 10х40. На препаратах розглядають дрібні, округло-квадратної форми клітини з добре профарбованими ядрами і неушкодженими клітинними стінками. Спочатку слід знайти і уважно роздивитися клітини в інтерфазі, профазі, метафазі та телофазі. Після цього можна приступати до визначення мітотичного та фазних індексів.

Для цього роздивляємося всю ділянку, де є клітини, що діляться, поступово на сусідніх полях зору. Щоб не порахувати двічі одну і ту саму ділянку, препарат роздивляються переміщуючи його з права на ліво, а наступний ряд з ліва на право. Аналізують 300-500 клітин на одному препараті з добре пофарбованими ядрами та неушкодженими клітинними стінками. Підраховують загальну кількість проаналізованих клітин, а також число клітин що діляться окремо по стадіях мітозу [51].

### 2.2.5 Розрахунок мітотичного та фазних індексів

Показником рівня мітотичної активності тканин є мітотичний індекс (МІ). Мітотичний індекс показує співвідношення кількості клітин, що знаходяться у мітозі, до загальної кількості проаналізованих клітин, досліджених на препараті тканини що вивчаються. Індекс може вказувати на нормальне протікання мітозу, про пригнічення процесу поділу клітин або, навпаки, посиленню мітотичної активності тканин. На основі цього можна зробити висновки про фітотоксичну або мітозстимулюючу дію досліджуваного фактору.

 Визначається МІ за формулою:

 (2.1),

де (П+М+А+Т) – сума клітин, що знаходяться в стадії профази, метафази, анафази і телофази відповідно, а N – загальне число проаналізованих клітин. МІ вимірюється у %

Якщо значення МІ в дослідному варіанті нижче, ніж в контрольному, то можна зробити висновки про фітотоксичну дію фактору. Якщо значення МІ в дослідному варіанті перевищує контрольне значення, то однозначного висновку зробити не можна.

Збільшення МІ може бути обумовлене як посиленням проліферації клітин, так і зміною часу протікання різних фаз, тобто затримкою клітин на конкретних фазах мітозу. Виявити причини змін МІ можна, аналізуючи довжину фазних індексів.

Фазні індекси дозволяють судити про відносну довжину кожної з фаз мітозу. Визначають відносні довжини фаз мітозу за формулами:

 (2.2);

 (2.3);

** (2.4);

 (2.5),

де П, М, А і Т- кількість клітин в стадії профази, метафази, анафази та телофази відповідно [52].

### 2.2.6 Виявлення мутагенного ефекту

Мутагенна дія речовини оцінюється за частотою індукованих сполукою хромосомних аберацій.

Хромосомні аберації можна фіксувати на різних стадіях мітозу - метафази, анафази, телофази ф навіть під час інтерфази.

Аналіз хромосомних порушень проводиться в тих самих препаратах, що і визначення інтенсивності мітозу.

На великому збільшенні мікроскопу продивляються весь препарат згідно з методикою описаною в пункті 2.2.4, визначається тип патології мітозу та підраховують усі клітини, що мають мутантні ознаки.

Коротка характеристика найчастіше зустрічаємих видів мітотичних та хромосомних порушень в клітинах, що зазнали впливу мутагенного фактору.

Мікроядра представляють собою округлі хроматинові утворення, які виявляються в цитоплазмі клітин в період інтерфази. Мікроядра походять від ядерного хроматину, проте вони значно менші за розміром основного ядра. До складу мікроядра можуть входити як окремі цілі хромосоми, так і їх фрагменти. Причини, що викликають порушення в процесі поділу клітин, і призводять до утворення мікроядер, можна пов'язати з факторами, що володіють статокінетичною дією (затримують і викликають порушення в фазах мітозу, пов'язаних з формуванням веретена поділу і розходженням хромосом). Мікроядра утворюються в результаті нерозходження або відставання в розходженні хромосом до полюсів клітини, і як результат порушення веретена поділу. При нормальному мітозі сестринські хроматиди розходяться до різних полюсів. Рух йде в бік того полюса, з яким хроматиду пов'язує більша кількість мікротрубочок. У тому випадку, якщо кількість мікротрубочок обох полюсів одне, то під час анафази хроматиди залишаються на місці - утворюється відстаюча хроматида. Така хроматида, не будучи включеною в ядро однієї з дочірніх клітин дає початок мікроядру. На стадії телофази ці фрагменти можуть включатися в ядра дочірніх клітин або утворювати поодинокі або множинні мікроядра в цитоплазмі. Утворення мікроядер з фрагментів хромосом відбувається при переміщенні аберрантних хроматинових структур з ядра в цитоплазму [53].

Двоядерність виникає внаслідок амітозу – прямого поділу ядра. При цьому зберігається морфологія ядра, помітні ядерця та ядерна мембрана. Хромосоми не візуалізуються та не відбувається їх рівномірного розподілення. Ядро ділиться на дві відносно рівні частини без утворення мітотичного апарату. Даний тип поділу клітин не характерний для нормального клітинного циклу видів цибулі.

Хромосомні і хроматидні мости є наслідком фрагментації хромосом. При з'єднанні фрагментів утворюється дицентрична хромосома, яка в ході анафази розтягується між протилежними полюсами поділу, утворюючи міст. Хромосомний міст виникає в результаті з'єднання фрагментів хромосом, кожен з яких утворений двома хроматидами з центромерою. До кінця анафази - на початку телофази мости зазвичай швидко рвуться в результаті надмірного розтягування дицентричних фрагментів хромосом. Утворення мостів призводить до генотипової різнорідності дочірніх клітин, а також порушує продовження завершальних стадій поділу і затримує цитокінез.

Фрагменти хроматид або хроматидні розриви, можуть бути кінцевими інтерстиціальними і точковим. Якщо відбувся ізохроматидний розрив і пошкоджені кінці сестринських хроматид з'єдналися, то через тяжіння сестринських хроматид на решті частин вони залишаються лежати паралельно і тому мають вигляд дуги. Хроматидні фрагменти, мало віддалені від місця пошкодження, необхідно диференціювати від ахроматичних прогалин, які представляють собою незабарвлені ділянки хромосом (ділянки локальної деспіралізаціі хромосом) [54].

Колхіціновий мітоз або к-мітоз - одна з форм патології мітозу, пов'язана з пошкодженням мітотичного апарату внаслідок впливу статокінетичних отрут. В результаті впливу різних отрут мітоз затримується на стадії метафази в зв'язку з дезорганізацією різних компонентів мітотичного веретена поділу - центріолей, мікротрубочок, кінетохор. Пошкодження також зачіпають клітинне ядро, плазмалему, різні внутрішньоклітинні органели. Результат к-мітозу залежить від дози і часу впливу статокінетичної отрути на клітину що ділиться. При токсичних дозах спостерігається пікноз ядра і загибель клітини.

Відставання хромосом виникає при пошкодженні хромосом в області кінетохора. Пошкоджені хромосоми пасивно «дрейфують» у цитоплазмі і в результаті або руйнуються і елімінуються з клітки, або випадковим чином потрапляють в одне з дочірніх ядер, чи утворюють окреме мікроядро.

Затримка анафази характерна для патологій мітозу, пов'язаних з пошкодженням мітотичного апарату.

Показником мутагенної активності, фактора, що досліджується є частота хромосомних аберацій (ХА). Частота хромосомних аберацій вказує на співвідношення кількості клітин з хромосомними абераціями до загальної кількості клітин або на 1000 клітин. Розраховується за формулою:

  (2.6),

де n – кількість клітин з абераціями, N – загальна кількість підрахованих клітин.

### 2.2.7 Статистична обробка даних

Отримані дані піддають статистичній обробці. Обробку проводять за формулами для малих вибірок.

Розраховують середнє арифметичне (Х):

 (2.7),

де  - сума варіант, n – кількість проаналізованих мікропрепаратів.

Середнє квадратичне відхилення (σ) характеризується різноманітністю ознак. Воно враховує відхилення від середньоарифметичної кожної варіанти. Тому σ є найкращим показником різноманітності ознаки. Для малих вибірок розраховується за формулою:

 (2.8),

де n – кількість проаналізованих варіант, тобто кількість корінців.

Оцінка достовірності середнього арифметичного вираховується за формулою:

 (2.9),

де m – похибка середнього, σ – середнє квадратичне відхилення, n – кількість проаналізованих варіант.

Розраховані середні арифметичні значення контрольного та дослідного варіантів порівнюють між собою, використовуючи t-критерій Стьюдента:

 (2.10),

де *td* – достовірність різниці;

 – середнє арифметичне дослідного варіанту;

 – середнє арифметичне контрольного варіанту;

 – похибка відхилення, яка визначається при  [55].

# 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

## 3.1 Підготовка матеріалів дослідження

В даній роботі досліджувалася мутагенна активність гербіцидів з торговими назвами «Ураган форте» (концентрація 500 г/л калійної солі гліфосату – 100 мл, у вигляді водорозчинного концентрату, виробник - компанія Sygenta) та «Оберіг» (концентрація 90 г/л – 100 мл, у вигляді концентрату емульсії, виробник – Презенс Компані Лтд. ), діючими речовинами яких є гліфосат та хізалофоп-П-етил відповідно. Дані речовини є однокомпонентними та найбільш популярними серед покупців сільгосппродукції.

Для визначення мутагенної активності цих препаратів були взяті наступні концентрації даних речовин:

* розчини гліфосату в концентраціях 0,1%, 1% та 2%;
* розчини хізалофоп-П-етилу в концентраціях 0,08%, 0,75% та 1,5%.

Об’єктом дослідження були меристематичні клітини корінців проростків насіння та цибулин двох видів рослин роду *Allium* L*.*: *A. cepa* та *A. porrum.*

Постановка експерименту почалася 14 листопада 2018 року, в умовах лабораторії на базі біологічного факультету Запорізького національного університету. Для експерименту були обрані цибулини ріпчастої цибулі та насіння цибулі порею. Цибулини пророщувалися в хімічному посуді, в той час як насіння в чашках Петрі із додаванням дистильованої води за нормальних умов.

На п’ятий день досліду (19.11), коріння, що проросло було виміряне вперше та перенесене в свіжоприготовані розчини з досліджуваними речовинами у відомих концентраціях на дистильованій воді. Вимірювалася довжина корінців лише ріпчастої цибулі, тому що вимірювання корінців цибулі порею було не можливо здійснити через їх сильну закрученість. Подальше вимірювання коріння та фіксування корінців відбувалося 20.11.2018 та 21.11.2018 в один і той же час.

Характеристику щодо морфометричних показників корінців *A. cepa* та вплив на інтенсивність їх росту гліфосату та хізалофоп-П-етилу можна побачити в зведених таблицях 3.1 та 3.2.

Таблиця 3.1 – Вплив розчину гліфосату на інтенсивність росту корінців *A. cepa.*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| №з/п | Концентрація розчину гліфосату | Середня довжина кореня, см |
| 1 доба (вихідні дані) | 2 доба | 3 доба |
| 1 | Контроль | 1,07 ± 0,32 | 1,77 ± 0,4\* | 3,37 ± 1,2\* |
| 2 | 0,1% | 1,08 ± 0,77 | 1,44 ±1,06\* | 2,73 ±1,74\* |
| 3 | 1% | 1,02 ± 0,57 | 1,91 ±1,29\* | 2,73 ±1,52\* |
| 4 | 2% | 3,26 ± 1,07 | 3,36 ±1,23\* | 3,48 ± 1,7\* |

Примітка: \* – відмінності між варіантом та вихідними даними достовірні при Р≥0,95.

Таблиця 3.2 - Вплив розчину хізалофоп-П-етилу на інтенсивність росту корінців *A. cepa*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| №з/п | Концентрація розчину хізалофоп-П-етилу | Середня довжина кореня, см |
| 1 доба (вихідні дані) | 2 доба | 3 доба |
| 1 | Контроль | 1,07 ± 0,32 | 1,77 ± 0,4\* | 3,37 ± 1,2\* |
| 2 | 0,08% | 1,5 ± 1,08 | 1,8 ± 1,27\* | 2,4 ± 1,06\* |
| 3 | 0,75% | 0,84 ± 0,54 | 1,24 ±0,75\* | 1,26 ±0,88\* |
| 4 | 1,5% | 2,5 ± 1,06 | 4,9 ± 3,72\* | 5,5 ± 3,48\* |

Примітка: \* – відмінності між варіантом та вихідними даними достовірні при Р≥0,95.

Аналізуючи отримані дані можна помітити, що розчин гліфосату у концентрації 2% мав виражену фітотоксичну дію – корінці збільшилися в довжині лише на 0,22 см. В інших концентраціях гліфосату пригнічення росту було не значним, спостерігалося збільшення довжини в значеннях близьких до контролю.

Щодо впливу розчинів хізалофоп-П-етилу, то в концентраціях 0,08% та 0,75% спостерігалася затримка приросту: в першому випадку довжина збільшилася на 0,9 см за дві доби, а в другому – на 0,42 см (у порівнянні з контролем – на 2,3 см). В той же час відзначалася фітостимулююча дія в найбільшій концентрації 1,5% - приріст корінців за дві доби склав 3 см.

## 3.2 Цитогенетичний аналіз впливу пестицидів

Фіксація корінців проводилася за допомогою фіксатора Кларка згідно до методики описаної у пункті 2.2. Фарбування і приготування мікропрепаратів також проводилося відповідно до стандартної методики.

Аналіз препаратів проводили в наступному порядку: спочатку виявляли наявність хромосомних порушень, вівся їх підрахунок, потім визначали мітотичний індекс і окремо тривалість кожної з фаз мітозу.

Аналізували не менше 8-10 проростків корінців обох видів, оброблених кожною з трьох концентрацій розчинів гліфосату та хізалофоп-Петилу за 2 доби. Тобто, приблизно було опрацьовано 240 мікроскопічних препаратів.

Для аналізу мітотичного індексу в полі зору мікроскопа серед загальної кількості підраховували кількість клітин на різних стадіях мітозу. В кожному препараті підраховували близько 300 клітин. Підрахунок здійснювався за методикою описаною в пункті 2.2.

Препарати, в своїй більшості, мали гарну спорідненість до фарбника і досить добре мікроскопіювалися. Але слід зазначити, що препарати, приготовані з *A. porrum,* мали вищу якість та при приготуванні з ними було працювати легше.

Результати *Allium-*тесту аналізувались на предмет прояву генотоксичності обраних гербіцидів.

Під час цитогенетичного дослідження спостерігалися зміни в організації морфології хромосом клітин, що зазнали впливу гербіцидів. В препаратах були зареєстровані численні порушення в мітотичних та інтерфазних клітинах.

Були зафіксовані такі типи хромосомних аберацій: двоядерні клітини, мікроядра, мости, фрагменти хромосом, відставання хромосом, затримка анафази та к-мітоз. Зовнішній вигляд всіх типів хромосомних аберацій представлений на рисунку 3.2.

|  |  |
| --- | --- |
| C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-12_13-01-44.jpg**А** | C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-12_13-19-00.jpg**Б** |
| C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-12_13-03-09.jpg**В** | C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-12_13-02-29.jpg**Г** |
| C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-12_13-27-17.jpg**Ґ₴** | C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-14_00-16-42.jpg**Д** |
| C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-14_00-15-32.jpg**Е** | C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-14_00-16-26.jpg**Є** |
| C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-12_12-58-26.jpg**Ж** | C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-12_13-26-33.jpg**З** |
|  |  |
| C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-12_12-49-02.jpg**І** | C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-12_13-17-46.jpg**Ї** |
| C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-12_12-57-20.jpg**К** | C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\photo_2020-01-12_13-30-04.jpg**Л** |

Рисунок 3.1 – Зовнішній вигляд виявлених хромосомних аберацій, виявлених за допомогою *Allium-*тесту. (А-Б) двоядерні клітини; (В-Г) мікроядра; (Ґ-Д) мости; (Е-Є) фрагменти хромосом; (Ж-З) відставання хромосом; (І-Ї) затримка анафази; (К-Л) к-мітоз.

Мікроядра представляють собою округлі хроматинові утворення, які виявляються в цитоплазмі клітин в період інтерфази. Мікроядра походять від ядерного хроматину, проте вони значно менші за розміром основного ядра. До складу мікроядра можуть входити як окремі цілі хромосоми, так і їх фрагменти. Причини, що викликають порушення в процесі поділу клітин, і призводять до утворення мікроядер, можна пов'язати з факторами, що володіють статокінетичною дією (затримують і викликають порушення в фазах мітозу, пов'язаних з формуванням веретена поділу і розходженням хромосом). Мікроядра утворюються в результаті нерозходження або відставання в розходженні хромосом до полюсів клітини, і як результат порушення веретена поділу. При нормальному мітозі сестринські хроматиди розходяться до різних полюсів. Рух йде в бік того полюса, з яким хроматиду пов'язує більша кількість мікротрубочок. У тому випадку, якщо кількість мікротрубочок обох полюсів одне, то під час анафази хроматиди залишаються на місці - утворюється відстаюча хроматида. Така хроматида, не будучи включеною в ядро однієї з дочірніх клітин дає початок мікроядру. На стадії телофази ці фрагменти можуть включатися в ядра дочірніх клітин або утворювати поодинокі або множинні мікроядра в цитоплазмі. Утворення мікроядер з фрагментів хромосом відбувається при переміщенні аберрантних хроматинових структур з ядра в цитоплазму [ ].

Двоядерність виникає внаслідок амітозу – прямого поділу ядра. При цьому зберігається морфологія ядра, помітні ядерця та ядерна мембрана. Хромосоми не візуалізуються та не відбувається їх рівномірного розподілення. Ядро ділиться на дві відносно рівні частини без утворення мітотичного апарату. Даний тип поділу клітин не характерний для нормального клітинного циклу видів цибулі.

Хромосомні і хроматидні мости є наслідком фрагментації хромосом. При з'єднанні фрагментів утворюється дицентрична хромосома, яка в ході анафази розтягується між протилежними полюсами поділу, утворюючи міст. Хромосомний міст виникає в результаті з'єднання фрагментів хромосом, кожен з яких утворений двома хроматидами з центромерою. До кінця анафази - на початку телофази мости зазвичай швидко рвуться в результаті надмірного розтягування дицентричних фрагментів хромосом. Утворення мостів призводить до генотипової різнорідності дочірніх клітин, а також порушує продовження завершальних стадій поділу і затримує цитокінез.

Фрагменти хроматид або хроматидні розриви, можуть бути кінцевими інтерстиціальними і точковим. Якщо відбувся ізохроматидний розрив і пошкоджені кінці сестринських хроматид з'єдналися, то через тяжіння сестринських хроматид на решті частин вони залишаються лежати паралельно і тому мають вигляд дуги. Хроматидні фрагменти, мало віддалені від місця пошкодження, необхідно диференціювати від ахроматичних прогалин, які представляють собою незабарвлені ділянки хромосом (ділянки локальної деспіралізаціі хромосом).

Колхіціновий мітоз або к-мітоз - одна з форм патології мітозу, пов'язана з пошкодженням мітотичного апарату внаслідок впливу статокінетичних отрут. В результаті впливу статокінетичних отрут мітоз затримується на стадії метафази в зв'язку з дезорганізацією різних компонентів мітотичного веретена поділу - центріолей, мікротрубочок, кінетохор. Пошкодження також зачіпають клітинне ядро, плазмалему, різні внутрішньоклітинні органели. Результат к-мітозу залежить від дози і часу впливу статокінетичної отрути на клітину що ділиться. При токсичних дозах спостерігається пікноз ядра і загибель клітини..

Відставання хромосом виникає при пошкодженні хромосом в області кінетохора. Пошкоджені хромосоми пасивно «дрейфують» у цитоплазмі і в результаті або руйнуються і елімінуються з клітки, або випадковим чином потрапляють в одне з дочірніх ядер, чи утворюють окреме мікроядро.

Затримка анафази характерна для патологій мітозу, пов'язаних з пошкодженням мітотичного апарату.

Основними хромосомними дефектами клітин кореневих меристем рослин роду *Allium,* що зазнали впливу гліфосату,були численні мікроядра, двоядерні клітини та мости. Інші порушення зустрічалися не так часто.

В цитологічних препаратах з рослин, що зазнали впливу хізалофоп-П-етилу, найчастіше виявлялися мікроядра та двоядерність клітин. Інші порушення зустрічалися поодиноко.

Частота зустічаємості хромосомних порушень спричинених дією гербіциду «Ураган» представлена у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3 – Частота зустрічаємості хромосомних аберацій у препаратах з кореневих меристем рослин роду *Allium* під впливом розчину гліфосату

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Вид | Експозиція, год | Концентрація, % | Кількість клітин | Частота хромосомних аберацій |
| мікроядра | двоядерність | мости | фрагменти | к-мітоз | відставання хромосом | затримка анафази |
| *Allium cepa* | 24 | 0,1 % | 2047 | 4 | 1 | 2 | - | 2 | - | - |
| 1 % | 2193 | 12 | 1 | 2 | - | - | 1 | - |
| 2% | 2243 | 23 | 2 | - | - | - | - | - |
| 48 | 0,1 % | 1843 | 2 | 18 | 6 | - | 3 | 1 | - |
| 1 % | 3002 | 51 | 7 | 3 | 1 | - | 1 | - |
| 2% | 2569 | 115 | 19 | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| *Allium porrum* | 24 | 0,1 % | 1459 | 3 | 1 | 2 | 1 | - | - | - |
| 1 % | 1402 | 3 | - | - | - | - | 7 | - |
| 2% | 1442 | 32 | 16 | 8 | - | 1 | - | 1 |
| 48 | 0,1 % | 1276 | 7 | 5 | 2 | - | - | - | - |
| 1 % | 1142 | 12 | 3 | 1 | - | - | 2 | - |
| 2% | 1318 | 11 | 2 | 3 | - | - | 1 | - |

Отже виходячи з даних таблиці ми бачимо, що мутагенна дія досліджуваної речовини на корінці *Allium cepa* зростала з підвищенням концентрації та часом експозиції. Тобто в концентраціях 0,1%, 1% та 2% першої доби впливу ми спостерігали середню частоту порушень мітозу: 3,9/1000 клітин, 7,3/1000 клітин та 11,1/1000 клітин відповідно. Окрім мікроядер та двоядерних клітин (які характерні для всіх концентрацій розчину з даним видом) у варіанті з концентрацією гліфосату 0,1% спостерігається наявність мостів та к-мітозу, у варіанті з концентрацією 1% - мости та відставання хромосом. З концентрацією розчину гліфосату 2% присутність інших хромосомних порушень не відзначалась.

 В концентраціях 0,1%, 1% та 2% через 48 годин впливу гліфосату ми спостерігали таку середню частоту порушень мітозу: 16,3/1000 клітин, 21/1000 клітин та 55,3/1000 клітин відповідно. Окрім мікроядер та двоядерних клітин (які характерні для всіх концентрацій розчину з даним видом) у концентрації 0,1% також спостерігалися хроматидні мости, к-мітоз та відставання хромосом; у дослідному варіанті з концентрацією 1% - мости, хромосомні фрагменти та відставання хромосом; у варіанті з 2% розчином – спостерігався увесь спектр виявлених аберацій - мости, фрагменти хромосом, к-мітоз, відставання хромосом та затримка анафази.

Мутагенна дія гліфосату на меристематичні клітини корінців *Allium porrum* після першої доби впливу відзначалася у наступних частотах: 0,01% - 4,8/1000 клітин, тут ми спостерігали мікроядра, двоядерність клітин, мости та фрагменти хромосом; 1% - 7,1/1000 клітин в даному варіанті були зафіксовані тільки мікроядра та відставання хромосом; 2% - 40,2/1000 клітин, в даному варіанті були присутні всі знайдені типи хромосомних порушень окрім фрагментів та відставання хромосом.

У варіантах експерименту досліджених через 48 годин впливу гліфосату на рослини цибулі ріпчастої відзначалася наступна частота аберантних клітин: 0,1% розчин - 11/1000 клітин; 1% - 15,8/1000 клітин; 2% - 12,9/1000 клітин. У кожному дослідному варіанті була зафіксована наявність мікроядер, двоядерних клітин та мостів і лише в концентраціях 1% та 2% з’явилися відставання хромосом.

У таблиці 3.4 представлена частота зустічаємості хромосомних порушень спричинених дією гербіциду «Оберіг».

Таблиця 3.4 – Частота зустрічаємості хромосомних аберацій у препаратах з кореневих меристем рослин роду *Allium* під впливом розчину хізалофоп-П-етилу

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Вид | Експозиція, год | Концентрація, % | Кількість клітин | Частота хромосомних аберацій |
| мікроядра | двоядерність | мости | фрагменти | к-мітоз | відставання хромосом | затримка анафази |
| *Allium cepa* | 24 | 0,08 | 1243 | 2 | 4 | 1 | 1 | - | - | - |
| 0,75 | 1106 | 2 | 3 | 2 | 2 | - | - | - |
| 1,5 | 1132 | 4 | 3 | - | - | - | - | - |
| 48 | 0,08 | 1280 | 1 | 3 | 7 | - | - | - | - |
| 0,75 | 1189 | 8 | 4 | - | - | - | - | - |
| 1,5 | 1423 | 12 | 6 | - | - | - | - | - |
| *Allium porrum* | 24 | 0,08 | 1233 | 14 | 23 | - | - | - | - | - |
| 0,75 | 1595 | 22 | 21 | - | - | - | 6 | - |
| 1,5 | 1760 | 24 | 6 | - | - | - | - | - |
| 48 | 0,08 | 1182 | 7 | 4 | - | - | - | - | - |
| 0,75 | 1840 | 12 | 10 | - | - | - | - | - |
| 1,5 | 1471 | 18 | 15 | 7 | - | - | - | - |

Основними порушеннями мітозу зафіксованих при впливі на рослини роду *Allium* також були мікроядра то двоядерність клітин. В деяких варіантах досліду спостерігалися також мости, хроматидні фрагменти та відставання хромосом.

Частоти виникнення хромосомних порушень при впливі хізалофоп-П-етилу на меристематичні ділянки корінців рослин *Allium cepa* в залежності від його концентрації за 24 години впливу наступні: 0,08% - 6,4/1000 клітин; 0,75% - 8,1/1000 клітин та 1,5% - 6,1/1000 клітин. Лише в перших двох концентраціях спостерігалася наявність мостів та фрагментів.

Через 48 годин присутність інших порушень окрім мікроядер та двоядерних клітин спостерігалася лише в концентрації 0,08%. Частоти хромосомних порушень на цьому етапі наступні: 0,08% - 8,6/1000 клітин; 0,75% - 10/1000 клітин; 1,5% - 12,6/1000 клітин.

Щодо частот виникнення хромосомних порушень рослин *Allium porrum* при впливі розчинів гербіциду «Оберіг», спостерігалася наступна картина за 24 години впливу: 0,08% - 30/1000 клітин; 0,75% - 30,7/1000 клітин (також в цьому варіанті зустрічалися, окрім мікроядер та двоядерності, відставання хромосом); 1,5% - 17/1000 клітин.

Через 48 годин впливу картина розподілення частот виникнення хромосомних аберацій змінилася на протилежну, тобто частоти знизилися в концентраціях 0,08% (9,3/1000 клітин) та 0,75% (12/1000 клітин), а в концентрації 2% навпаки, показник частоти підвищився (27,1/1000 клітин). Також в концентрації 2% відзначалася поява хроматидних мостів.

## 3.3 Розрахунок мітотичних показників

Мітоз модифікуюча активність, тобто здатність змінювати тривалість та частоту проходження мітозу включає в себе як стимуляцію, так і пригнічення проліферації клітин, а також зміну часу проходження клітинами окремих фаз мітозу. Будь-яке порушення мітотичної активності може спричиняти негативний вплив на живі організми, оскільки може призводити до серйозних порушень нормального росту і розвитку.

Ми досліджували вплив розчинів різної концентрації монокомпонентних гербіцидів «Ураган» та «Оберіг» на мітотичну активність клітин кореневої меристеми цибулі ріпчастої та цибулі порею.

Для оцінки рівня цитотоксичної дії досліджуваних гербіцидів було розраховано показник мітотичного індексу та фазних індексів.

Аналіз підрахунку тривалості та інтенсивності стадій поділу клітин меристем обох видів- під впливом гербіциду «Ураган» представлено у таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 – Порівняльна таблиця тривалості мітотичного та фазних індексів рослин роду *Allium* під впливом розчинів гербіциду «Ураган»

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Вид | Час, год | Концентрація,% | Кількістьклітин | Мітотичнийіндекс,% | Фазні індекси,% |
| Профазний індекс | Метафазнийіндекс | Анафазнийіндекс | Телофазний індекс |
| *Allium cepa* | 24 | Контроль | 2482 | 26,99 | 50 | 23,61 | 11,91 | 14,46 |
| 0,1 % | 2047 | 32,6 | 96,67 | 1,199 | 1,349 | 0,749 |
| 1 % | 1193 | 27,461 | 88,679 | 7,547 | 3,773 | 0 |
| 2% | 1243 | 7,94 | 98,913 | 0 | 1,087 | 0 |
| 48 | 0,1 % | 1843 | 7,4 | 71,641 | 14,925 | 2,985 | 10,447 |
| 1 % | 1602 | 3,488 | 52,38 | 23,809 | 23,809 | 0 |
| 2% | 1569 | 7,138 | 73,214 | 16,964 | 6,25 | 3,571 |
| *Allium porrum* | 24 | Контроль | 2238 | 29,98 | 43,56 | 30,17 | 15,44 | 11,45 |
| 0,1 % | 1459 | 8,932 | 82,926 | 2,439 | 12,195 | 2,439 |
| 1 % | 1402 | 11,194 | 63,636 | 13,333 | 11,111 | 13,333 |
| 2% | 1442 | 16,968 | 77,333 | 13,333 | 8 | 1,333 |
| 48 | 0,1 % | 1276 | 13 | 87,349 | 6,626 | 4,216 | 1,807 |
| 1 % | 1142 | 13,047 | 93,288 | 6,04 | 0,671 | 0 |
| 2% | 1318 | 9,433 | 66,666 | 13,333 | 16,666 | 3,333 |

Для наочності результати дослідження мітотичного індексу представлені в вигляді діаграм на рисунках 3.2 та 3.3.

Рисунок 3.2 – Мітотичний індекс клітин *Allium cepa* за умови впливу гліфосату різної концентрації*.*

Рисунок 3.3 - Мітотичний індекс клітин *Allium porrum* за умови впливу гліфосату різної концентрації

В препаратах, отриманих з ріпчастої цибулі, під впливом гліфосату спочатку спостерігається зростання мітотичного індексу у варіантах з концентрацією 0,1% та 1%, але вже після 48 годин впливу цей показник різко знижується. У варіанті з концентрацією 2% відзначалося різке пригнічення активності мітозу, яке зберігалося впродовж дослідження. У свою чергу в значеннях показника мітотичного індексу, отриманих з цибулі порею, простежується різке зниження мітотичної активності після першої доби впливу, яка незначно збільшилася після 48 годин.

Щодо показників фазних індексів обох видів цибулі, то при впливі гліфосату спостерігається зсув в сторону профази та пригнічення ана-телофази в усіх варіантах досліду, а в деяких варіантах навіть до 0%. Особливо різко це пригнічення спостерігається після першої доби впливу розчинів гліфосату у варіанті досліду з ріпчастою цибулею. З графічними зображеннями розподілу фазних індексів можна ознайомитися на рисунках 3.4 – 3.7.

Рисунок 3.4 – Тривалість фаз мітозу *Allium cepa* після 24 годин впливу розчинів гербіциду «Ураган» різної концентрації

Рисунок 3.5 – Тривалість фаз мітозу *Allium cepa* після 48 годин впливу розчинів гербіциду «Ураган» різної концентрації

Рисунок 3.6 - Тривалість фаз мітозу *Allium porrum* після 24 годин впливу розчинів гербіциду «Ураган» різної концентрації

Рисунок 3.7 - Тривалість фаз мітозу *Allium porrum* після 48 годин впливу розчинів гербіциду «Ураган» різної концентрації

Аналіз підрахунку тривалості та інтенсивності стадій поділу клітин меристем обох видів під впливом гербіциду «Оберіг» представлено у таблиці 3.6.

Таблиця 3.6 – Порівняльна таблиця тривалості мітотичного та фазних індексів рослин роду *Allium* під впливом розчинів гербіциду «Оберіг»

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Вид | Час, год | Концентрація,% | Кількістьклітин | Мітотичнийіндекс, % | Фазні індекси, % |
| Профазнийіндекс | Метафазнийіндекс | Анафазнийіндекс | Телофазний індекс |
| *Allium cepa* | 24 | Контроль | 2482 | 26,99 | 50 | 23,61 | 11,91 | 14,46 |
| 0,08 | 1243 | 8,09 | 73,27 | 11,243 | 10,134 | 5,353 |
| 0,75 | 1106 | 7,88 | 82,67 | 9,261 | 8,07 | 0 |
| 1,5 | 1132 | 7,63 | 69,581 | 24,69 | 4,261 | 1,468 |

Продовження таблиці 3.6

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 48 | 0,08 | 1280 | 7,407 | 61,29 | 20,43  | 11,827 | 6,451 |
| 0,75 | 1189 | 7,265 | 92,857 | 7,142 | 0 | 0 |
| 1,5 | 1423 | 6,97 | 63,636 | 27,272 | 0,09 | 0 |
| *Allium porrum* | 24 | Контроль | 2238 | 29,98 | 43,56 | 30,17 | 15,44 | 11,45 |
| 0,08 | 1233 | 3,568 | 77,272 | 20,454 | 2,272 | 0 |
| 0,75 | 1595 | 3,51 | 83,928 | 8,928 | 5,357 | 1,785 |
| 1,5 | 1760 | 4,476 | 73,529 | 23,529 | 2,941 | 0 |
| 48 | 0,08 | 1182 | 14,835 | 66,666 | 25,925 | 3,703 | 3,703 |
| 0,75 | 1840 | 5,833 | 32,653 | 16,326 | 34,693 | 16,326 |
| 1,5 | 1471 | 8,067 | 26,315 | 34,21 | 28,947 | 10,526 |

Для наочності результати дослідження мітотичного індексу представлені в вигляді діаграм на рисунках 3.8 та 3.9.

Рисунок 3.8 – Мітотичний індекс *Allium cepa* при впливі розчинів гербіциду «Оберіг» різної концентрації

Рисунок 3.9 - Мітотичний індекс *Allium porrum* при впливі розчинів гербіциду «Оберіг» різної концентрації

За даними, представленими на діаграмах, можна простежити різке пригнічення мітотичного показника в усіх варіантах досліду.

У варіанті досліду з ріпчастою цибулею можна спостерігати динамічне зменшення мітотичного індексу на протязі всього періоду дослідження.

В свою чергу, в дослідах з цибулею порей мітотичний індекс хоч був менший в порівнянні з контрольним варіантом, проте після 48 годин впливу розчинів хізалофоп-П-етилу різних концентрацій цей показник підвищився в порівнянні зі зразками, дослідженими після 24 годин впливу.

Графічне зображення розподілу фазних індексів під дією гербіциду «Оберіг» в різних концентраціях на рослини цибулі ріпчастоїможна побачити на рисунках 3.10 та 3.11.

Рисунок 3.10 - Тривалість фаз мітозу рослин *Allium cepa* після 24 годин впливу гербіциду «Оберіг» різної концентрації

Рисунок 3.11 – Тривалість фаз мітозу рослин *Allium cepa* після 48 годин впливу гербіциду «Оберіг» різної концентрації

За показниками фазних індексів у варіанті досліду з цибулі ріпчастої при впливі хізалофоп-П-етилу також спостерігається зсув в сторону профази та різке пригнічення ана-телофази в обох варіантах досліду в порівнянні з контролем, а у варіантах 0,75% після 24 годин впливу, 0,75% і 1,5% після 48 годин впливу ана-телофазний індекс знизився навіть до 0%.

Графічне зображення розподілу фазних індексів під дією гербіциду «Оберіг» в різних концентраціях на рослини цибулі порей після 24 годин впливупредставлені на рисунку 3.12.

Рисунок 3.12 – Тривалість фаз мітозу рослин *Allium porrum* після 24 годин впливу гербіциду «Оберіг» різної концентрації

Як і в попередніх варіантах досліду, після 24 годин впливу хізалофоп-П-етилу на фазні показники інтенсивності поділу кореневих меристем цибулі порей, спостерігається значний зсув (в порівнянні з контролем) в бік профазного індексу. У концентраціях 0,08% та 1,5% спостерігається зниження телофазного до 0% та значне зниження анафазного індексів в усіх варіантах досліду.

Графічне зображення розподілу фазних індексів під дією гербіциду «Оберіг» в різних концентраціях на рослини цибулі порей після 48 годин впливупредставлені на рисунку 3.13.

Рисунок 3.13 – Тривалість фаз мітозу рослин *Allium porrum* після 48 годин впливу гербіциду «Оберіг» різної концентрації

В даному варіанті можна простежити позитивну динаміку розподілу фаз мітозу - враховуючи дані мітотичного індексу, які виросли в порівнянні з даними, отриманими після 24 годин впливу гербіциду (рисунок 3.9). На даній гістограмі ми спостерігаємо значний зсув в бік профази при найменшій концентрації. При концентрації 0,75% бачимо переважання анафазного індексу, а у варіанті з 1,5% розчином переважає метафазний індекс.

Аналіз всіх даних щодо мітотичного та фазних індексів показав, що гербіциди «Ураган» та «Оберіг» спричиняють виражений мітозпригнічуючий ефект на рослини роду *Allium* в порівнянні з контрольними даними.

# 4 ОХОРОНА ПРАЦІ

У лабораторіях навчальних закладів постійно проводять наукові дослідження із застосуванням хімічних речовин. При неправильному поводженні з речовинами хімічного походження можливе отруєння, хімічні опіки, розвиток професійних захворювань. Міністерство надзвичайних ситуацій України наказом від 11 вересня 2012 року №1192 затвердило нові «Правила охорони праці під час роботи у хімічних лабораторіях».

Підлога у лабораторії повинна бути рівною, не слизькою, із зручною для очищення поверхнею, виконаною з матеріалів, тривких до кислот, лугів, розчинників та інших хімічних речовин. Стіни лабораторних приміщень мають бути з вогнестійких матеріалів, поверхню можна легко змивати. Лабораторії обладнують лабораторними столами з полицями завдовжки 1,8-2,7м. Ширина проходів між обладнанням лабораторії повинна бути же не менше ніж 1,4м. Біля робочих місць на видному місці вивішують інструкції з охорони праці і пожежної безпеки.

У нових правилах охорони праці регламентовані вимоги щодо показників мікроклімату, вмісту шкідливих речовин, рівня шуму та вібрації, освітленості у хімічних лабораторіях [56].

Рівень шуму в хімічних лабораторіях не повинен перевищувати норми – 60дБА, встановленої «Державними санітарними нормами виробничого шуму, ультразвуку та інфразвуку» (ДСН 3.3.6.037-99). Вібраційну безпеку слід забезпечувати дотриманням норм, встановлених «Державними санітарними нормами виробничої загальної та локальної вібрації» (ДСН 3.3.6.039-99).

Приміщення хімічних лабораторій забезпечують природним, штучним та суміщеним освітленням залежно від характеристики зорової роботи відповідно до вимог ДБН В.2.5-28-2006 «Природне і штучне освітлення». Місцеве освітлення повинно застосовуватись у комбінації із загальним освітленням. Застосування лише місцевого освітлення заборонено. Світильники місцевого освітлення за своїм улаштуванням повинні відповідати категорії та групі вибухонебезпечних речовин і бути влаштовані так, щоб працівник міг за бажанням змінити напрям світлового потоку.

Показники мікроклімату в робочій зоні хімічних лабораторій мають відповідати вимогам «Державних санітарних норм мікроклімату виробничих приміщень» (ДСН 3.3.6.042-99). У робочій зоні хімічних лабораторій вміст пилу, газів і пари шкідливих речовин не повинен перевищувати ГДК, встановлених ГОСТ 12.1.005-88.

Перед початком роботи у витяжній шафі необхідно перевірити наявність тяги повітря. Всі відділки витяжної шафи, окрім тієї, де будуть виконувати роботу, закривають повністю стулками. У відділку виконання робіт стулку опускають нижче рівня обличчя лаборанта, але не нижче 0,4 м. Припливно-витяжну вентиляцію у всіх приміщеннях лабораторії вмикають за 30 хвилин до початку проведення робіт і вимикають – після закінчення проведення робіт. При цьому спочатку вмикають витяжну вентиляцію, а потім припливну; вимикають навпаки – спочатку припливну, а потім витяжну. Роботи в лабораторії повинні проводитись тільки при справній вентиляції, необхідно передбачити автоматичне включення та блокування вентиляції. У разі виявлення будь-яких несправностей вентиляції працівник повинен повідомити про це керівника лабораторії, а також службу охорони праці.

Приміщення хімічних лабораторій, призначені для робіт з надзвичайно небезпечними (1-й клас небезпеки) і високонебезпечними (2-й клас небезпеки) речовинами, повинні бути ізольовані від інших приміщень лабораторії, мати окремий вхід і витяжні шафи, не пов’язані з вентиляцією інших приміщень. Усі роботи з їдкими, отруйними, з різким запахом, легкозаймистими та вибухонебезпечними речовинами проводять в ізольованих (від загального приміщення лабораторії) і забезпечених ефективними вентиляційними пристроями приміщеннях або у витяжних шафах. Витяжні шафи обладнують відсмоктувачами. Під час приготування мийних і дезінфекційних розчинів потрібно одягати гумові рукавички і захисні окуляри.

Світильники у витяжній шафі за своїм улаштуванням повинні бути у вибухобезпечному виконанні. Штепсельні розетки і вимикачі розташовують поза витяжною шафою.

Для захисту працівників хімічних лабораторій від дії небезпечних та шкідливих факторів необхідно використовувати засоби колективного захисту відповідно до вимог ДСТУ 7238:2011 «ССБП. Засоби колективного захисту працюючих. Загальні вимоги та класифікація».

У приміщенні хімічних лабораторій повинні знаходитись первинні засоби пожежогасіння (ящики з сухим піском, вогнегасники, пожежні покривала з негорючого теплоізоляційного матеріалу тощо), для зазначення місцезнаходження яких встановлюють вказівні знаки відповідно до ДСТУ ISO 6309:2007 «Протипожежний захист. Знаки безпеки. Форма та колір» (ISO 6309:1987, IDT) та ГОСТ 12.4.026-76. У разі аварійної перерви у подачі електричної енергії всі електроприлади повинні бути негайно вимкнені.

Електропроводи і електроприлади, що знаходяться під напругою, у випадку пожежі необхідно знеструмити і гасити вуглекислотними вогнегасниками відповідно до вимог ДСТУ 3675-98, ДСТУ 3734-98. Заборонено гасити їх водою. Не можна залишати без нагляду робоче місце, ввімкнені нагрівальні прилади і працююче лабораторне обладнання, перелік якого визначений інструкцією з охорони праці, виробничої санітарії і пожежної безпеки.

Атестація робочих місць за умовами праці працівників хімічних лабораторій повинна проводитись відповідно до вимог «Порядку проведення атестації робочих місць за умовами праці», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 1 серпня 1992 року №442.

Відповідальним за роботу в лабораторії повинні бути розроблені інструкції з охорони праці відповідно до вимог «Положення про розробку інструкцій з охорони праці» (НПАОП 0.00- 4.15-98) на основі примірних інструкцій.

Відповідальний за роботу в лабораторії розробляє план ліквідації аварійних ситуацій (ПЛАС) залежно від виду робіт, що виконуються у лабораторії, відповідно до «Положення щодо розробки планів локалізації та ліквідації аварійних ситуацій і аварій» (НПАОП 0.00-4.33- 99). Заборонено виконувати роботи співробітникам, які не ознайомлені з ПЛАС і не знають його у частині, що стосується роботи, яку вони безпосередньо виконують. Обов’язки щодо розробки і впровадження ПЛАС та відповідальність за його якість покладаються на власника (керівника) лабораторії.

При розробленні ПЛАС потрібно враховувати реальні можливості та ресурси підприємства, накопичений персоналом підприємства і спецпідрозділів досвід дій під час аварійних ситуацій та аварій, для забезпечення уяви щодо потрібних додаткових навичок та ресурсів. ПЛАС належить переглядати через кожні 5 років [57].

Працівники хімічних лабораторій повинні забезпечуватись спеціальним одягом, спеціальним взуттям та іншими засобами індивідуального захисту (ЗІЗ) відповідно до вимог «Положення про порядок забезпечення працівників спеціальним одягом, спеціальним взуттям та іншими засобами індивідуального захисту» (НПАОП 0.00-4.01-08) та норм безоплатної видачі спеціального одягу, спеціального взуття та інших засобів індивідуального захисту працівникам галузі.

ЗІЗ мають відповідати вимогам «Технічного регламенту засобів індивідуального захисту», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 27 серпня 2008 року №761, ДСТУ 7239:2011 “ССБП. Засоби індивідуального захисту. Загальні вимоги та класифікація».

Працівнику лабораторії видають безкоштовно за встановленими галузевими нормами спеціальний одяг, спеціальне взуття та інші засоби індивідуального захисту:

– халат бавовняний (згідно з ГОСТ ССБТ 12.4.103- 83);

– ковпак бавовняний (згідно з ГОСТ ССБТ 12.4.011- 89);

– взуття шкіряне (згідно з ГОСТ ССБТ 12.4.137-84);

– окуляри захисні (згідно з ГОСТ ССБТ 12.4.013-85);

– респіратор ШБ «Пелюстка» (згідно з ГОСТ ССБТ 12.4.004-74);

– рукавички гумові (згідно з ГОСТ ССБТ 12.4.103- 83);

– фартух спеціальний (згідно з ГОСТ ССБТ 12.4.029- 76).

Також працівникам лабораторій безкоштовно видають господарське мило згідно НПАОП 0.00-3.06-22 «Про видачу мила на підприємствах» (затверджено Постановою НКТ РРФСР від 6.08.1922) із встановленими нормами (400 г на місяць). У разі проведення робіт за умов можливого впливу на працівників агресивних хімічних речовин (наприклад, кислот, лугів та ін.), їм потрібно видавати спецодяг, виготовлений з матеріалів, що забезпечують захист від цих впливів.

Під час виконання своїх обов’язків працівник лабораторії зобов’язаний дотримуватися вимог санітарних норм та особистої гігієни: приступати до роботи тільки у засобах індивідуального захисту; приймати і утримувати протягом зміни робоче місце чистим і у належному порядку; зберігати їжу і їсти тільки у відведених місцях для цього місцях; зберігати харчові продукти, зокрема молочні, які видають на підприємстві, у холодильниках, використовуваних лише на ці потреби; після роботи вимити забруднені частини тіла.

Для нейтралізації пролитих кислот або лугів в хімічній лабораторії мають бути склянки із заздалегідь приготовленими нейтралізуючими розчинами (харчової соди – для кислот та оцтової кислоти – для лугів тощо). Тверді відходи, що накопичуються в хімічній лабораторії, необхідно збирати в окрему тару і знищувати у місцях, узгоджених з органами санітарного і пожежного нагляду [58].

Роботи, при проведенні яких можливий бурхливий перебіг процесу, підвищення тиску, перегрів скляного приладу або його пошкодження з розбризкуванням гарячих або їдких продуктів, а також роботи під вакуумом повинні виконуватися у витяжних шафах на спеціальних листах. За місцем таких робіт необхідно встановлювати прозорі запобіжні щитки. При змішуванні або розведенні речовин, що супроводжується виділенням тепла, слід користуватися термостійким скляним або фарфоровим посудом. Скляний термостійкий посуд заборонено нагрівати на відкритому вогні без термостійкої сітки; тонкостінні хімічні склянки і колби зі звичайного скла не можна нагрівати на відкритому вогні та електроплитках.

Щоб уникнути травмування при різанні скляних трубок, складанні і розбиранні приладів та вузлів, виготовлених зі скла, необхідно дотримуватися таких заходів безпеки:

– скляні трубки невеликого діаметру дозволяється ламати тільки після надрізання їх напилком або спеціальним ножем для різання скла та обгортання захисною тканиною;

– скляну трубку під час вставлення в пробку не можна сильно стискати, необхідно тримати її за той кінець, на який надягається пробка;

– колбу або інший тонкостінний посуд, в який вставляють пробку, слід тримати за горловину.

Хімічні речовини зберігають у хімічних лабораторіях відповідно до сертифіката про термін та умови зберігання заводу-виготовлювача. Основну (запасну) кількість хімічних речовин зберігають у спеціальному ізольованому приміщенні за межами хімічної лабораторії. На кожній посудині повинна бути етикетка з точною назвою речовини та з написом, що свідчить про наявність у речовині отруйних, вогненебезпечних властивостей: червона – «Вогненебезпечно», жовта – «Отрута», зелена – «Берегти від води» або інших. Зберігати хімічні речовини із нерозбірливими написами та без етикеток заборонено. Речовини у склянках, що не мають етикеток, підлягають знищенню. При зберіганні вогне- і вибухонебезпечних речовин, враховуючи їх фізико-хімічні властивості, необхідно дотримуватись додаткових заходів безпеки, а саме: діетиловий (сірчаний) ефір потрібно зберігати ізольовано від інших речовин у холодному і темному місці; металічний натрій повинен зберігатись у товстостінних скляних банках з широкими шийками, які щільно закриваються проб кою під шаром сухого (без вологи) гасу, парафіну або трансформаторного мастила в ящиках з піском; гідроген пероксиду, перхлоратну кислоту (концентровану) та інші окисники не можна зберігати разом з відновниками – вугіллям, сіркою, крохмалем тощо; металічний натрій і фосфор не можна зберігати разом з бромом і йодом. Скляна посудина для зберігання легкозаймистих рідких речовин, ємність якої більша за 1 л, повинна бути розміщена у герметичному металевому футлярі .

Наслідками регулярної роботи з комп'ютером при недотриманні загальноприйнятих норм та вимог можуть бути: захворювання органів зору (60% користувачів); хвороби серцево-судинної системи (20%); захворювання шлунково-кишкового тракту (10%); шкірні захворювання (5%); різноманітні пухлини.

Для забезпечення безпеки перед початком роботи необхідно:

* провітрювати приміщення;
* перевірити надійність встановлення апаратури на робочому столі, кут нахилу монітору;
* перевірити загальний стан апаратури, справність електропроводки, з'єднувальних шнурів, штепсельних вилок, розеток, заземлення захисного екрана;
* відрегулювати освітленість робочого місця;
* відрегулювати та зафіксовати висоту крісла, зручний для себе нахил спинки;
* приєднати до системного блоку необхідну апаратуру. Усі кабелі, що з'єднюють системний блок з іншими пристроями, вставляти та виймати при вимкненому комп'ютері;
* вмикати апаратуру комп'ютера вимикачами на корпусах в послідовності: монітор, системний блок, принтер (якщо передбачається друкування);
* відрегульовути яскравість свічення монітора, мінімальний розмір світної точки, фокусування, контрастність з урахуванням того, що надмірна яскравість викликає втому очей.

Для безпеки під час виконання роботи необхідно [59]:

* стійко розташовувати клавіатуру на робочому столі, не допускати її хитання. Під час роботи на клавіатурі сидіти прямо, не напружуючись;
* для запобігання несприятливого впливу пристроїв типу ”миша” забезпечувати вільну велику поверхню столу для переміщення ”миші” і зручного упору ліктьового суглоба;
* усувати наявні подразнюючі шуми;
* періодично при вимкненому комп'ютері прибирати ледь змоченою мильним розчином бавовняною ганчіркою пил з поверхонь апаратури. Не використовувати рідинні або аерозольні засоби чищення поверхонь комп'ютера;
* не класти предмети на апаратуру комп'ютера;
* не закривати вентиляційні отвори апаратури, що могло б призвести до її перегрівання і виходу з ладу.
* для зняття статичної електики час від часу доторкатися до металевих поверхонь і не носити одяг із синтетичних матеріалів.

Отже, при виконанні та написанні моєї кваліфікаційної роботи я дотримувалась правил пожежної безпеки, правил роботи в лабораторіях, правил роботи з хімічними речовинами, електроприладами. Я усвідомлювала, що від дотримання мною цих правил та інструкцій залежить не лише моя безпека, а й здоров’я та життя людей, що мене оточують [60].

# ВИСНОВКИ

1. Гербіцид «Ураган форте» у концентрації 2% та гербіцид «Оберіг» у концентраціях 0,08% та 0,75% здійснює фітотоксичний вплив на корінці цибулі ріпчастої.

2. Цитогенетичний аналіз виявив здатність досліджуваних гербіцидів викликати хромосомні аберації та порушення мітотичного поділу: двоядерні клітини, мікроядра, мости, фрагменти хромосом, відставання хромосом, затримка анафази та к-мітоз.

3. Частота фіксуємих в клітинах *Allium cepa* порушень сягала від 3,9/1000 клітин до 55,3/1000 клітин в залежності від концентрації «Ураган форте» та тривалості його впливу. Цитотоксичний ефект на *Allium porrum* дещо менший: від 4,8/1000 клітин до 15,8/1000 клітин.

4. Цитотоксичний ефект гербіциду «Оберіг» на меристематичні ділянки корінців рослин *Allium cepa* становив від 6,4/1000 клітин до 12,6/1000 клітин; на *Allium porrum –* від 17/1000 клітин до 30,7/1000 клітин. В останньому варіанті фіксували розширення спектру порушень та дещо суперечливу динаміку.

5. Серед фіксованих аномалій найчастіше виявлялись мікроядра та двоядерні клітини. Їх присутність говорить про те що діючі речовини гербіцидів спричиняє затримку і порушення в фазах мітозу, пов’язаних з формуванням веретена поділу та розходженням хромосом (ана-телофази).

3. Мітозмодифікуюча активність монокомпонентних гербіцидів «Ураган форте» та «Оберіг» на мітотичну активність клітин кореневої меристеми *Allium cepa* та *Allium porrum* виявилась у вираженному пригніченні в усіх варіантах досліду. Відбулося зниження мітотичного показника, зсув фазних індексів у сторону профазного індексу та пригнічення ана-телофазного індексу.

# ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У якості тест-обєктів для оцінки цитотоксичного впливу певних чинників можна застосовувати меристеми як *Allium cepa*, так і *Allium porrum*. Останній є більш зручним при виготовленні мікропрепаратів.
2. Враховуючи доведений цитотоксичний ефект досліджених гербіцидів («Ураган форте» та «Оберіг»), їх застосування має бути строго контрольованим без перевищення рекомендованого дозування.
3. Викладений у дипломній роботі матеріал можна використовувати при вивченні курсу «Генетика», «Великий практикум з генетики та цитогенетики» та «Цитологія» у вищих навчальних закладах.

# ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Сикура И.И., Шиша Э.Н. Genus *Allium L*.— Род лук *Alliaceae (Liliaceae, Amaryllidaceae*): монография. Киев : Знания Украины, 2010. 287 с.
2. Веденский А. И., Гончаров Н.Ф., Горшкова С. Г. Лук - *Allium L*. Флора СССР. Ленинград : Издательство АН СССР, 1935. Т. 4. С.112–280.
3. Юрьева Н.А., Кокорева В.А. Многообразие луков и их использование. Москва: МСХА, 1992. 160 с.
4. Тимчук В. М., Тимчук С. М. Моніторинг багаторічних видів цибулі роду *Allium L.* в Україні. *Генетичні ресурси рослин:науковий журнал*. 2007. № 4. С. 16-25.
5. Левов В. Ф. Фенольные соединения растений видов рода *Allium L.* Северного Причерноморья. *Інтродукція рослин. Міжнародний науковий журнал*. 2009. №3. С. 74-80.
6. Шапбетя В. В. Використання генофонду *Allium L.* в селекції багаторічних цибуль. *Вісник Полтавської державної аграрної академії: науково-виробничий, фаховий журнал*. 2008. №1. С. 81-83.
7. Плохинский Н.А. Биометрия: учебное пособие. Москва : МГУ, 1970. 367 с.
8. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні: Каталог/під ред. В.О. Ящук, В.М. Ващенко, Р.Н. Кривошея та ін. Київ: Юнівест Медіа, 2016. – 1023 с
9. Писаренко В. М., Писаренко П.В. Захист рослин: екологічно обґрунтовані системи. Полтава : Інтер-Графік, 2002. 432 с.
10. Беглярова Г. А. Химическая и биологическая защита растений Москва : Колос, 1983. 261 с.
11. Н.Н. Мельников. Пестициды. Химия, технология и применение. Москва : Химия, 1987. 238 с.
12. Груздева Г. С. Химическая защита растений Москва : Агропромиздат, 2017. 217 с.
13. Арешнікова Б. А. Захист зернових культур від шкідників, хвороб і бур’янів при інтенсивних технологіях. Київ : Урожай, 1992 .181 с.
14. Євтушенко М. Д., Марютіна Ф. М. Фітофармакологія: навч. посібник. Київ : Вища школа, 2004 .341 с.
15. Методичні вказівки по виконанню лабораторних робіт по ХБЗР. Миколаїв, 2013 .82 с.
16. Груздева Г.С. Практикум по химической защите растений. Москва : Колос, 2003. 96 с.
17. Хамитова Р.Я., Мирсаитова Г.Т. Современные тенденции в области применения пестицидов. Гиг. и сан., 2014 .(4) 23 с.
18. Письменний О. В. Агрофармакологія: конспект лекцій. Миколаїв, 2014. 204 с.
19. Довідник з використання хімічних препаратів в захисті рослин від бур’янів. Вінниця, 2015. 160 с
20. Куринный А. И. К проблеме предупреждения генетических последствий применения пестицидов: реальность и необходимость. *Цитология и генетика*. 1983. Т. 17, № 6. 122 с.
21. Benachour N., Seralini G. E. Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. *Chemical Research in Toxicology Journal, American Chemical Society*. 2009. V. 22. 105 p.
22. Dill, Gerald M.; Sammons, R. Douglas: [Glyphosate: Discovery, Development, Applications, and Properties](http://media.johnwiley.com.au/product_data/excerpt/10/04704103/0470410310.pdf). 2010. 365 р.
23. Tu M., Hurd C., Robinson R., Randall J.M. Glyphosate Weed Control. Methods Handbook. *The Nature Conservancy*. 2001. 710 р.
24. Ed. C.D.S. Tomlin. Glyphosate. The Pesticide Manual. Version 3.0. 13th Editiion. BCPC. 2003-04. 218 р.
25. Максимовских С. Ю. Исследование острой токсичности глифосата. *Достижения науки – агропромышленному производству.* Челябинск : ЧГАА, 2015. Ч. V. 145 с.
26. R.Roberts. Arylphenoxypropionic Acids. Quizalofop-P-Ethyl. Metabolic Pathways of Agrochemicals. Part 1: *Herbicides and Plant Growth Regulators*. 1998. 575 p.
27. Yildiz Mustaf, Evrim Suna Arikan. Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the Allium cepa anaphase-telophase chromosome aberration assay *Caryologia* *International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*. Vol. 61, no. 1. 2008. 46 p.
28. Лужинская, Н.А. Химический метод борьбы со злаковыми сорняками в семеноводческих посевах грачихи. *Современные технологии сельскохозяйственного производства.* Гродно: Издательско-полиграфический отдел УО «ГГАУ», 2010. 139 c.
29. Лісовська Т.П. Цитогенетические эффекты фунгицида Ридомил-голд на проростки лука. Збірник наукових публікацій *Зимові наукові читання*. 2017. 137 с.
30. Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник. - М.: Медицина, 1987. 368 с.
31. Bradberry SM1, Proudfoot AT, Vale JA. Zenkore poisoning. Toxicol. Rev. 2004. V. 23 No 3, 159 p.
32. Williams G. M., Kroes R., Munro I. C. Safety evaluation and risk assessment of herbicide Zenkore and its active ingredient, for humans. *Reg. Toxicol. a. Pharmacol.,* 2000. V. 31? 165 p.
33. Bababunmi E. A., Olorunsogo O. O., Bassir O. Toxicology of Ridomil in rats and mice. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1978. V. 45, 320 p.
34. Имамалиева Н.Х. Изучение кластогенной активности гербицидов которана и котофора на клетках Crepis capillaries (L.) Wallr. *Цитология и генетика.* 1992. Т. 26, № 1. 60 с.
35. Эмирова Д.Э. Сравнительный анализ фитотоксического действия пестицида БИ-58 на сельскохозяйственные культуры. Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского серия Биология, химия. Том 22 (61). 2009. № 4, 295 с.
36. Васильева В.П. Охрана окружающей среды при использовании пестицидов. Киев : Урожай, 1983. 128 с
37. Філонік І.О. Вплив гербіцидного фону та підвищеної температури на процеси білкового метаболізму у проростках гібридів кукурудзи на ранніх етапах розвитку рослин. Харків, 2008. 116 с.
38. Г.Т. Фаязова, А.А. Минибаев, И.Г. Мигранова. Влияние 2,4-Д на рост и развитие проростков некоторых злакових культур. *Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии.* 2019. 246 с.
39. Мартыненко В.И. Пестициды: Справочник. Москва : Агропроиздат, 1992.– 307с.
40. Н. Павлюкова, Л. Богуславська. Проліферативна активність твірних тканин коренів кукурудзи за дії гербіциду та гіпертермії. *Вісник Львівського університету*. Вип. 70, 2015. 270 с.
41. Бозшатаева Г.Т., Турабаева Г.К., Оспанова Г.С. Изучение мутагенной активности в зависимости от структуры прапарата. *Международный журнал експериментального образования*. № 6, 2015, 96 с.
42. С. В. Білоконь. Генотоксичний ефект гербіцидів і плодючість *Drosophila melanogaster*. *Біологія*, № 29. 2012. 61 с.
43. Jasper R., Locatelli G. O., Pilati C., Locatelli C. Evaluation of biochemical, hematological and oxidative parameters in mice exposed to the herbicide glyphosate-Roundup. *Interdiscip Toxicology*. V. 5. 2012. Р. 140.
44. Richard S., Moslemi S., Sipahutar H. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environ Health Perspect*. 2000 № 6. 720 р.
45. Максимовских С. Ю. Исследование острой токсичности хтзалофоп-П-этила. *Достижения науки – агропромышленному производству* . Челябинск : ЧГАА, 2015. 140 с.
46. Бубнов А. Г., Бубнова А. С., Гущин А. С. Биотестовый анализ - интегральный метод оценки качества объектов окружающей среды: учебно-методические пособие. Иваново : ИГХТУ, 2007. 112с.
47. Плохинский Н.А. Биометрия: учебное пособие. Москва : МГУ, 1970. 367 с.
48. Md. Torequl Islam, Samara Wanessa Cardoso Silva, Marcia Fernanda Correia. A comparative toxic, cytotoxic, genotoxic and mutagenic study of phytol and its nanoemulsion with using *Allium cepa L*. and *Artemia salina* test systems: data-in-brief. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2016. Vol. 5. Issuee 9. P. 410-418.
49. Прохорова И. М., Ковалева М. И., Фомичева А. Н. Оценка митотоксического и мутагенного действия факторов окружающей среды: метод. указания. Ярославль : ЯГУ, 2003. 32 с.
50. Білявський Г. О., Бутченко Л. І. Основи екології: теорія та практикум: навчально-методичний посібник. Київ : Лібра, 2004 . С. 268-269.
51. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений: учебное пособие для студентов высших учебных заведений. Москва : Агропромиздат, 2018. 271 с.
52. Бубнов А. Г., Бубнова А. С., Гущин А. С. Биотестовый анализ - интегральный метод оценки качества объектов окружающей среды: учебно-методические пособие. Иваново : ИГХТУ, 2007. 112с.
53. Синовец С. Ю., Пяткова С. В., Козьмин Г. В. Экспериментальное обоснование использования *Allium-*теста в радиоэкологическом мониторинге. *Известия вузов. Ядерная энергетика: научно-технический журнал*. Обнинск, 2009. №1. С. 32-39.
54. Попова Е. И., Кайгородов Р. В. Использование *Allium cepa L.* для определения токсичности растительных экстрактов. *Фундаментальные исследования.* 2014. №6. 1197с.
55. Шереметьева А. С., Жук А. А., Переверзева Я. О., Хомякова У. А. Исследование влияния диоксидина на митотическую активность корней *Allium cepa L. Бюллетень медицинских интернет-конференций*. 2018. Том 8. №1. С. 5-8.
56. Готовский Ю. В., Перов Ю. Ф. Электромагнитная безопасность в офисе и дома. Москва : Имедис, 1998. 174 с.
57. Правила охорони праці в хімічних лабораторіях. Київ : Основа, 2013. 22с.
58. Правила пожежної безпеки в Україні. Київ, 1998. 206 с.
59. Правила пожежної безпеки в Україні. Державний реєстр нормативних актів з питань пожежної безпеки (Реєстр НАПБ). Київ : Пожежінформтехніка, 2001. 238 с.
60. Каталог основних засобів забезпечення пожежної безпеки. Київ, 1997. 259 с.