

АНАЛІЗ МУТАГЕНЕЗУ В АПІКАЛЬНИХ МЕРИСТЕМАХ КОРЕНІВ *Zea mays* L. (РОАСЕАЕ) ІНДУКОВАНОГО СУМІСНОЮ ДІЄЮ ІОНІВ КАДМІЮ, НІКЕЛЮ І ЦИНКУ

О. М. Зубровська*

*Криворізький ботанічний сад НАН України,
м. Кривий Ріг, Україна*

Анотація. У роботі представлені результати проведеного цитологічного аналізу апікальних меристем коренів кукурудзи гібриду Бліц 160 МВ за наявності в середовищі зростання іонів цинку, нікелю і кадмію. Встановлено, що сумісна дія іонів важких металів насамперед викликала загальне зниження мітотичного індексу та зростання в меристематичних клітинах проростків *Z. mays* частки клітин, які знаходяться на стадії профазы та метафазы. На відміну від цього, відсоток анафазних клітин знижувався на 15–20%, а частка телофазних клітин — у 1,2–1,5 раза відносно контрольних умов відповідно. У спектрі цитогенетичних порушень, викликаних дією важких металів у коренях гібриду кукурудзи Бліц 160 МВ, були зареєстровані аномалії, обумовлені пошкодженням хромосом (одинарні та множинні мости, аглютинація хромосомом) та аномалії, обумовлені пошкодженням мітотичного апарату (відставання та випередження хромосом, дезорієнтовані хромосоми, фрагменти хромосомом і багатополосні мітози). Порівняно з контролем, наявність у середовищі зростання іонів кадмію, цинку та нікелю як в мінімальних, так і максимальних концентраціях проявляла високу цитотоксичну дію та індукувала збільшення в понад 5 разів кількості аберантних клітин у кореневих меристемах проростків кукурудзи. В цілому, серед хромосомних аберацій найпоширенішими були відставання хромосомом (понад 75% від загальної кількості патологій мітозу), одинарні мости (8,8%), випередження (2,5%) та багатополосність (2,0%). Крім того, сумісна дія іонів металів індукувала утворення таких аномалій, як аглютинація, дезорієнтовані хромосоми та фрагменти. Установлене нами загальне зниження мітотичного індексу і широкий спектр хромосомних аберацій вказують на те, що важкі метали за їх сумісної дії є класотгенними і впливають на хромосоми на рівні ДНК. А показана нами висока цитогенетична активність іонів кадмію, цинку та нікелю підтверджує генетичну небезпеку промислових викидів із вмістом іонів важких металів для організмів в екосистемах і передбачає необхідність розробки національної програми широкомасштабного генетичного моніторингу техногенного забруднення територій промислових регіонів України.

Ключові слова: кадмій, цинк, нікель, *Zea mays*, мітоз, хромосомні аберації, цитогенетичні порушення.

Вступ. Зростання антропогенного впливу на середовище призводить до накопичення в довкіллі генотоксичних хімічних речовин

не лише внаслідок дії промисловості, а й у результаті скиду стічних вод та сільськогосподарських і промислових стоків [12]. Проте одним з найнебезпечніших забруднювачів навколишнього середовища все ж таки залишаються важкі метали, які за токсичністю поступаються лише радіонуклідам та пестицидам [2, 28]. Вони здійснюють не лише загальну токсичну дію на живі організми (насамперед рослини), а й мутагенну, що підтверджується пригніченням мітотичного поділу й абераціями хромосом [9, 28]. Механізми, що лежать в основі індукованої металом генотоксичності будь-якої рослини, досить складні [23] і недостатньо вивчені. Дослідниками встановлено [2, 25], що генотоксичне пошкодження рослинної ДНК важкими металами відбувається опосередковано, за рахунок утворення активних форм кисню під час окиснювального стресу. Важкі метали, як-от: кадмій і плумбум, — можуть інгібувати репарацію та синтез ДНК або навіть блокувати клітини в G₂-фазі клітинного циклу, впливаючи на проходження мітозу, і в такий спосіб пригнічувати ріст рослинних клітин [22]. Крім того, токсичність важких металів викликає різноманітні хромосомні аберації та зменшує швидкість поділу клітин. Існують дані про хромосомні аномалії (аглотинація, випередження/відставання хромосом) в мітотичних клітинах *Cicer*, вирощених на ґрунтах із вмістом важких металів [22]. Рядом дослідників встановлено індуковані важкими металами пошкодження нуклеїнових кислот у таких рослин, як *Allium cepa* [26], *Glycine max* [15], *Helianthus annuus* [7], *Solanum tuberosum* і *Nicotiana tabacum* [11] тощо.

До низки найбільш токсичних металів, які проявляють і високу мутагенну активність, слід віднести кадмій, цинк і нікель. На молекулярно-клітинному рівні кадмій викликає порушення цілісності мембран, заміщує деякі елементи функціональних центрів молекул, що призводить до інактивації багатьох білків [14]. Генотоксичність кадмію насамперед пов'язана з його безпосереднім впливом на структуру та функції ДНК [17, 28]. Наявність кадмію в середовищі зростання викликала аглотинацію хромосом у рослин *Pisum sativum* [24] і *Cicer arietinum* [22], фрагментацію хромосом та утворення мостів у клітинах коренів *Capsicum annuum* і *Vicia faba* [2, 16]. Нікель — відомий мутаген, який першочергово пошкоджує гетерохроматин унаслідок взаємодії з білками й амінокислотами ДНК, зшиваючи їх [18]. Зазначимо, що нікель більшою мірою пригнічує поділ клітин, ніж їх розтягування, і збільшує тривалість мітотичного циклу. Установлено призводить до значного гальмування росту кореня, яке посилюється з часом. Оскільки цинк відіграє важливу роль у процесі мітозу, його надлишок

може індукувати неправильне кодування деяких негістонових білків або безпосередньо реагувати з гістоновими білками, викликаючи зміни поверхневих властивостей хромосом унаслідок помилкового згортання ДНК, що призводить до аглютинації хромосом [21]. За дії високих концентрацій цинку зафіксовано зростання в понад 2 рази рівня хромосомних аберацій у корінцях проростків *Triticum aestivum* [28].

На сьогодні досить рідко відбуваються гострі отруєння металами, тому проблема мутагенної дії відносно низьких концентрації їх сполук і віддалених наслідків такого впливу на організми є вкрай актуальною. У системі біологічного моніторингу важливе місце посідають генетичні дослідження, які дають можливість оцінити на клітинному й молекулярному рівнях наслідки одночасного впливу кількох стрес-факторів для ряду послідовних поколінь [6]. Зазначимо, що незважаючи на широке використання показників генотоксичності в оцінці якості середовища зростання рослин [9, 27], виникнення аномалій мітозу за комплексної дії важких металів нині досить фрагментарні та недостатньо вивчені.

Мета роботи — оцінка цитогенетичних порушень і встановлення спектру патологій мітозу в апікальних меристемах коренів проростків кукурудзи за сумісної дії різних концентрацій цинку, кадмію та нікелю.

Матеріали та методи досліджень. Об'єкт дослідження — дводобові проростки кукурудзи (*Zea mays* L.) гібриду Бліц 160 МВ, які протягом наступних 48 годин вирощувалися на середовищі зі вмістом солей важких металів (CdSO_4 , ZnSO_4 , NiSO_4) у варіантах їх комбінованої дії за мінімальних (кадмій 1×10^{-6} М + цинк 2×10^{-6} М + нікель 1×10^{-6} М) і максимальних (кадмій 1×10^{-5} М + цинк 2×10^{-5} М + нікель 1×10^{-5} М) концентрацій. Контролем слугували проростки, які вирощувалися на дистильованій воді. Відбір проводили після 24- і 48-годинної дії ксенобіотиків.

Для визначення мутагенного ефекту важких металів використовували анафазо-телофазний метод обрахування перебудов хромосом у клітинах кореневих меристем кукурудзи. Фіксацію, мацерацію і приготування тимчасових давлених препаратів корінців проводили в ранковий час на 24 та 48 годину дії токсикантів, за З.П. Паушевою [19]. Особливості цитотоксичної дії солей металів оцінювали за змінами мітотичного індексу (МІ), процентного співвідношення (відносної тривалості) фаз мітозу, сумарного індексу аберацій (Σ_{IA}), відсотку клітин із пікнотичними ядрами. Генотоксичні ефекти виявляли за допомогою мікроскопа Carl Zeiss Primo Staz (збільшення 40.10) шляхом аналізу частот виникнення різноманітних цитогенетичних аномалій

у меристемних клітинах кореневих апексів, вираховані серед усіх клітин на стадіях мітозу. Експерименти проводилися в 5 повторностях, кількість клітин на кожну точку становила як мінімум 5000. Отримані цифрові дані обробляли за допомогою t-критерію Стьюдента за 95%-го рівня значущості.

Результати та їх обговорення. Аналіз патологічних змін в апікальних меристемах коренів кукурудзи за сумісної дії важких металів показав, що насамперед суттєво змінюється мітотична активність клітин. Так, частка профазних клітин як через 24, так і через 48 годин інкубації проростків *Z. mays* на розчинах із вмістом мінімальних концентрацій кадмію, нікелю та цинку зростала від 10% до 20%, а з підвищенням концентрації металів їх кількість порівняно з контролем збільшувалася у 1,4 і 1,5 рази відповідно (табл. 1). Аналогічні зміни у стадіях мітозу меристематичних клітин *Pinus sylvestris* за дії надлишку нікелю та кадмію встановлено М. В. Белоусовим і О. С. Машкіною [4], які виявили, що в максимальних концентраціях важкі метали починають проявляти властивості, подібні фіксаторам (повністю блокують поділ на стадії профазі), що було характерним і в нашому дослідженні.

Таблиця 1. Зміна мітотичної активності в апікальних меристемах коренів проростків *Z. mays* гібриду Бліц 160 МВ, % від загальної кількості клітин

Table 1. Changes in mitotic activity in the apical meristems of the roots *Z. mays* seedlings of the hybrid Blitz 160 BS, % of the total number of cells

Стадія мітозу	Експозиція 24 години			Експозиція 48 годин		
	Контроль, M ± m	Zn+Ni+Cd мін конц., M ± m	Zn+Ni+Cd мак конц., M ± m	Контроль, M ± m	Zn+Ni+Cd мін конц., M ± m	Zn+Ni+Cd мак конц., M ± m
Профаза	38,2 ± 0,05	40,1 ± 0,02*	53,2 ± 0,12*	37,6 ± 0,04	44,3 ± 0,07*	55,0 ± 0,02*
Метафаза	25,3 ± 0,03	24,7 ± 0,03*	21,4 ± 0,05*	26,7 ± 0,07	23,3 ± 0,05*	21,5 ± 0,03*
Анафаза	21,4 ± 0,10	21,6 ± 0,02*	14,8 ± 0,02*	21,8 ± 0,01	20,4 ± 0,10*	13,8 ± 0,14
Телофаза	15,1 ± 0,05	13,6 ± 0,07*	10,6 ± 0,15	13,9 ± 0,10	12,0 ± 0,03*	9,7 ± 0,05*

Примітки: * — розбіжності достовірні відносно контролю за критерієм Стьюдента за $p < 0,05$ вираховані з 5000 клітин

Як видно з таблиці 1, кількість меристематичних клітин на стадії метафази у проростках кукурудзи протягом усіх етапів дослідження залишалася практично на рівні контролю (у варіантах із мінімальним

вмістом суміші важких металів) чи підвищувалася на 2–5% (за дії максимальних концентрацій токсикантів). Установлене, на нашу думку, є механізмом адаптації до стресових факторів і підтримки гомеостазу клітин проростків. На відміну від цього, присутність навіть мінімальних концентрацій іонів нікелю, кадмію і цинку в середовищі зростання індукувала зменшення кількості анафазних клітин в апікальних меристемах коренів (табл. 1), причому їх рівень із часом експозиції продовжував знижуватися на 15% відносно контролю.

За комбінованої дії важких металів найменше. На всіх етапах дослідження фіксувалися клітини на стадії телофаз. Причому, за дії мінімальних концентрацій кадмію, нікелю та цинку, частка телофазних клітин зменшувалася у 1,2 рази, тоді як за максимальних концентрацій металів їх рівень був нижчим за контрольні значення у 1,5–1,6 рази (табл. 1). Зниження чи відсутність ана- і телофаз і збільшення кількості клітин у метафазі, на думку Н. Ф. Павлюкової і Л. В. Богуславської [20], може свідчити про наявність метафазного блоку та порушення функціонування веретена поділу.

Рівень цитотоксичності забруднювачів доквілля можна визначити за зниженням мітотичного індексу (МІ), яке супроводжується зменшенням кількості ДНК за рахунок інгібування її синтезу [18]. Аналіз отриманих даних показав, що найбільшу фітотоксичність протягом усього періоду проростання спричиняла наявність у середовищі зростання важких металів у максимальних концентраціях, проте більшою мірою цей ефект проявлявся за умови збільшення часу інкубації проростків *Z. mays* (рис. 1). При цьому значення МІ у гібриду Бліц 160 МВ зменшувалися в 1,7 рази порівняно з контрольними. Схожу закономірність за дії важких металів встановлено й у рослин *Allium schoenopranum* [5], *Hordeum vulgare* [30] та *Z. mays* [10].

Натомість суміш цинку, нікелю та кадмію у низьких концентраціях практично не змінювали мітотичну активність клітин кореневої меристеми проростків *Z. mays*. Дослідженнями А. І. Довгалюк [9] встановлено, що важкі метали (кадмій та нікель) в ініціальних концентраціях не змінюють або навіть підвищують мітотичну активність клітин кореневої меристеми *Allium cepa*. Установлене нами, скоріш за все, обумовлене тим, що низькі концентрації деяких важких металів, як-от: кадмій, цинк і нікель, — необхідні для нормального функціонування більшості систем рослин.

Патології мітозу зазвичай у незначній кількості зустрічаються у всіх живих організмів. Такі порушення можуть бути наслідком спонтанного мутаційного процесу в результаті впливу дії вторинних продуктів

обміну речовин, які утворюються за нормальних метаболічних процесів в організмі, і в більшості випадків виправляються репараційними системами клітини. Так, у нашому дослідженні в меристематичних клітинах коренів кукурудзи в умовах контролю зустрічалися одинарні та множинні мости, багатополосність і відставання хромосом (табл. 2).

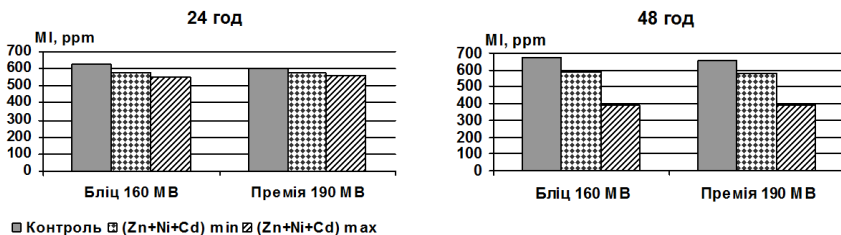


Рис. 1. Мітотичний індекс (МІ) клітин апікальних меристем коренів проростків *Z. mays* за сумісної дії іонів Zn, Ni і Cd в мінімальних (10^{-6} М) і максимальних (10^{-5} М) концентраціях, ‰ — проміле

Figure 1. Mitotic index (MI) of cells of apical meristems of roots *Z. mays* seedlings under the combined action of Zn, Ni and Cd ions in minimum (10^{-6} M) and maximum (10^{-5} M) concentrations, ‰ — ppm

У кореневих меристемах проростків *Z. mays*, що піддавались дії суміші іонів цинку, нікелю та кадмію, нами зареєстрований цілий спектр хромосомних аномалій (табл. 2). Так, протягом усього періоду проростання як мінімальні, так і максимальні концентрації токсикантів, крім згаданих вище патологій мітозу, індукували аглютинацію і випередження хромосом, а також утворення багатополосності, бродячих хромосом і хромосомних фрагментів. Це, імовірно, відбувається внаслідок пошкодження мітотичного апарату шляхом порушення роботи веретена поділу в анафазі, обумовленого зв'язуванням іона металу з SH-групою білка мікротрубочок тубуліна [1].

Загалом, у процентному співвідношенні, серед хромосомних аберацій, викликаних сумісною дією кадмію, нікелю та цинку, найпоширенішими були відставання хромосом (понад 75% від загальної кількості патологій мітозу), одинарні мости (8,8%), випередження (2,5%) та багатополосність (2,0%). Імовірніше, установлені хромосомні аномалії виникають у результаті цитотоксичної дії на рослини кукурудзи саме іонів кадмію та нікелю, яка пов'язана з їх безпосереднім

впливом на структуру та функції ДНК за умови взаємодії металу з гістоновими білками хроматину, які контролюють організацію хромосом [13, 28].

Таблиця 2. Спектр і частка цитогенетичних аномалій в апікальних меристемах коренів проростків *Z. mays* гібриду Бліц 160 МВ за сумісної дії іонів Zn, Ni і Cd, % від загальної кількості аберацій

Table 2. The spectrum and proportion of cytogenetic abnormalities in the apical meristems of the roots of *Z. mays* seedlings of the hybrid Blitz 160 BS with the combined action of Zn, Ni and Cd ions, % of the total number of aberrations

Показник	Контроль, M ± m	Zn+Ni+Cd мін конц., M ± m	Zn+Ni+Cd мак конц., M ± m
24 години			
Фрагменти	–	0,060 ± 0,003*	0,180 ± 0,002*
Випередження	–	0,080 ± 0,001*	0,150 ± 0,001*
Відставання	0,700 ± 0,001	4,50 ± 0,010*	5,20 ± 0,011*
Багатополосність	0,009 ± 0,0004	0,018 ± 0,001*	0,070 ± 0,001*
Одинарні мости	0,050 ± 0,002	0,490 ± 0,005*	0,550 ± 0,003*
Множинні мости	0,051 ± 0,005	0,098 ± 0,001*	0,130 ± 0,004*
Аглютинація	–	0,010 ± 0,002*	0,040 ± 0,001*
Дезорієнтація хромосоми			
Загальна кількість аберацій мітозу	0,800 ± 0,002	5,256 ± 0,003	6,320 ± 0,005
Індекс аберацій	1,3 ± 0,03	7,5 ± 0,01	9,0 ± 0,01
48 годин			
Фрагменти	0,020 ± 0,001	0,100 ± 0,002*	0,220 ± 0,003*
Випередження		0,100 ± 0,002*	0,200 ± 0,002*
Відставання	1,00 ± 0,005	4,30 ± 0,015*	5,50 ± 0,011*
Багатополосність	0,011 ± 0,001	0,023 ± 0,001*	0,110 ± 0,002*
Одинарні мости	0,070 ± 0,002	0,500 ± 0,002*	0,630 ± 0,005*
Множинні мости	0,053 ± 0,003	0,120 ± 0,001*	0,146 ± 0,001*
Аглютинація		0,014 ± 0,001*	0,055 ± 0,001*
Дезорієнтація хромосоми			0,001 ± 0,0001*

Продовження табл. 2

Загальна кількість аберацій мітозу	1, 154 ± 0, 002	5, 157 ± 0, 002	6, 862 ± 0, 003
Індекс аберацій	1, 9 ± 0, 02	7, 4 ± 0, 01	9, 8 ± 0, 02

Примітки: – — аномалію не виявлено; * — розбіжності достовірні відносно контролю за критерієм Стьюдента за $\rho < 0, 05$; % вираховані з 5000 клітин

Як видно з таблиці 2, у мітотичних клітинах коренів *Z. mays* кількість відстаючих хромосом уже за дії мінімальних концентрацій токсикантів в інкубаційному середовищі зростала в 4,5 раза, а за дії високих концентрацій цинку, нікелю та кадмію перевищувала контрольні рівні в понад 6 разів. Поява клітин із відстаючими хромосомами, очевидно, пов'язана з порушенням організації клітинних центрів поділу, дефектами веретена поділу чи центромерного району у процесі мітозу [8, 28]. На думку Р.А. Якимчук [27], відставання хромосом є індикаторами аномалій мітозу та свідчать про анеугенну дію важких металів на рослини.

На другому місці за частотою зустрічання в кореневих меристемах гібриду Бліц 160 МВ знаходилися клітини з поодинокими мостами, які, напевно, утворюються за рахунок розривів хромосом, адгезивності хромосом чи хроматид, і подальшого порушення вільного анафазного поділу внаслідок нерівномірної транслокації або інверсії хромосомних сегментів [2, 18]. Як показано в таблиці 2, кількість одинарних мостів уже через 24 год. інкубації на сердовиці зі вмістом важких металів зростала від 9,8 до 11 разів залежно від концентрації токсикантів. Із часом, вочевидь за рахунок внутрішніх репараційних систем меристематичних клітин, цитотоксичний вплив суміші кадмію, нікелю та цинку дещо елімінувався, а темпи утворення одинарних мостів зменшувалися (перевищували контрольні показники лише у 7 і 9 разів за мінімальних та максимальних концентрацій відповідно).

Рівень множинних мостів у клітинах проростків *Z. mays* за поліметалічного впливу виявився нижчим, ніж поодиноких мостів (табл. 2). Їх частка від загальної кількості аберацій коливалася в межах від 0,098% до 0,146% і не перевищувала показники контролю на обох етапах дослідження більш ніж у 2 рази. Зауважимо, що відставання хромосом і мости в анафазі мітозу були загальною тенденцією у рослин, які зростали в місцях забруднених надмірним умістом кадмію, плумбуму та цинку [18, 29].

Спектр цитогенетичних порушень за сумісної дії цинку, нікелю та кадмію розширювався також за рахунок клітин із випередженням хромосом (табл. 2), які є досить розповсюдженими серед аберацій, викликаних дією важких металів. Із часом інкубації цитотоксична дія важких металів посилювалася, а частка випереджень хромосом зросла у 1,3 рази порівняно з попереднім етапом дослідження.

Фрагментація хромосом є ознакою пошкодження їх структури, пов'язаного з лізисом молекул ДНК, і вказує на нестабільність генома. Цей різновид хромосомних аберацій може виникати внаслідок адгезивності хромосом, яка викликана взаємодією іонів важких металів із гістоновими та негістоновими білками, що, зі свого боку, порушує здатність хроматид переміщуватися в напрямку полюсів [28], а також унаслідок розривів ланцюгу ДНК активними формами кисню [22, 25]. Слід зазначити, що мости і фрагменти вважають кластогенними ефектами [16, 18]. У нашому дослідженні за наявності мінімального вмісту суміші важких металів у середовищі вирощування серед цитогенетичних порушень у клітинах коренів проростків кукурудзи було виявлено фрагменти хромосом, переважно одиничні й парні ацентричні (табл. 2), які фіксувалися з частотою від 0,06% до 0,12% залежно від часу експозиції. Високі концентрації іонів металів індукували збільшення їх кількості у понад 2 рази.

Аглотинацію (злипання хромосом) також відносять до аберацій хроматидного типу, що виникає в результаті пошкодження молекул ДНК (деполімеризації чи конденсації) [22]. Присутність кадмію, нікелю та цинку в середовищі вирощування в кореневих меристемах *Z. mays* призводила до появи в мітозі клітин з аглотинацією хромосом, частота зустрічання яких за дії мінімальних концентрацій іонів металів на всіх етапах дослідження складала 0,010–0,015% (табл. 2). Натомість у варіантах зі вмістом токсикантів у середовищі вирощування в максимальних концентраціях проявлявся вищий генотоксичний ефект. Причому темпи утворення аглютинованих хромосом зростали в понад 3,5 рази порівняно з попереднім етапом дослідження. На нашу думку, це може бути пов'язане з активною денатурацією ядерних білків (наприклад, ДНК-топоізомераза II) іонами нікелю та кадмію, що перешкоджає сегрегації хромосом, як показано в коренях *Capsicum annuum* за дії багатьох відомих важких металів [2]. Однак можливе й інше пояснення.

Висновки. Підсумовуючи зазначимо, що встановлене нами загальне зниження мітотичного індексу та широкий спектр хромосомних аберацій в апікальній меристемі коренів кукурудзи

гібриду Бліц 160 МВ указують на те, що важкі метали за сумісної дії є кластогенними та впливають на хромосоми на рівні ДНК. За наявності іонів цинку, нікелю та кадмію в середовищі вирощування у кореневих меристемах проростків встановлено збільшення частки клітин, які знаходяться на стадії профази та метафази. Водночас відсоток анафазних клітин дещо знижувався (на 15–20% до контролю), а частота трапляння телофазних клітин зменшувалася у 1,2 і 1,5 разів відносно контрольних умов за дії мінімальних і максимальних концентрацій токсикантів відповідно. Крім того, у варіантах із вмістом важких металів у понад 5 разів, порівняно з контролем, збільшувалася кількість аберантних клітин у коренях. Спектр цитогенетичних порушень складала аномалії, обумовлені пошкодженням хромосом (одинарні та множинні мости, аглютинація хромосом) й аномалії, обумовлені пошкодженням мітотичного апарату (відставання та випередження хромосом, дезорієнтовані хромосоми, фрагменти хромосом та багатополусні мітози). Найпоширенішими серед хромосомних аберацій у гібриду кукурудзи були відставання хромосом (понад 75% від загальної кількості патологій мітозу), одинарні мости (8,8%), випередження хромосом (2,5%) та багатополусність (2,0%).

References

1. Abdel Migit, H. M. A., Azab, Y. A., & Ibrahim, W. M. (2007). Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. *Ecotoxicol. and Environ. Safety*, 66, 57–64.
2. Aslam, R., Bhat, T. M., Choudhary, S., & Ansari, M. Y. K. (2017). An overview on genotoxicity of heavy metal in a spice crop (*Capsicum annuum* L.) in respect to cyto-morphological behavior. *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, 70, 42–47. <https://doi.org/10.1080/00087114.2016.1258884>
3. Bannon, D. I., Drexler, J. W., & Fent, G. M., et al. (2009). Evaluation of small arms range soils for metal contamination and lead bioavailability. *Environ. Sci. Technol.*, 43, 9071–9076. <https://doi.org/10.1021/es901834h>
4. Belousov, M. V., & Mashkina, O. S. (2015). Vliyaniye nikelya i kadmiya na tsitogeneticheskiye pokazateli *Pinus sylvestris* L. [Cytogenetic response of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) to cadmium and nickel]. *Cytology*, 57 (6), 459–464. (in Russian).

5. Belykh, E. S., & Maystrenko, T. A. (2015). Tsitologicheskiye efekty u rasteniy *Allium schoenopranum* proizrastayushchikh na tekhnogenno zagryaznennoy pochve [Cytological effects in *Allium schoenopranum* plants growing on technogenically contaminated soil]. *Radiation biology. Radioecology*, 55 (1), 5–15. (in Russian).
6. Bohuslavska, L. V., Shupranova, L. V., & Vinnychenko, O. M. (2009). Tsytohenetychna aktyvnist merystematychnykh klityn koreniv roslyn kukurudzy za rozdilnoyi ta sumisnoyi diyi ioniv vazhkykh metaliv [The cytogenetic activity of meristeme of root cells of plants mays for separately and combination of influence ions heavy metals]. *Bulletin of the Ukrainian Society of Geneticists and Breeders*, 7 (1), 10–16. (in Ukrainian).
7. Chakravarty, B., & Srivastava, S. (1992). Toxicity of some heavy metals in vivo and in vitro in *Helianthus annuus*. *Mutat. Res.*, 283, 287–294. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(92\)90061-L](https://doi.org/10.1016/0165-7992(92)90061-L)
8. Compton, D. A. (2011). Mechanisms of Aneuploidy. *Current Opinion in Cell Biology*, 23 (1), 109–113. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2010.08.007>
9. Dovhalyuk, A. (2013). Zabrudnennya dovkillya toksychnymy metalamy ta yoho indykatsiya za dopomohoyu roslynnykh testovykh system [Environmental contamination by toxic metals and its indication by plant test systems]. *Studia Biologica*, 7 (1), 197–204. (in Ukrainian).
10. Fuchs, L. K., Jenkins, G., & Phillips, D. W. (2018). Anthropogenic Impacts on Meiosis in Plants. *Front. Plant Sci.*, 9, 1429. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01429>
11. Gichner, T., Patkova, Z., Szakova, J., & Demnerova, K. (2006). Toxicity and DNA damage in tobacco and potato plants growing on soil polluted with heavy metals. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 65, 420–426. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.08.006>
12. Hautier, Y., Tilman, D., & Isbell, F., et al. (2015). Anthropogenic environmental changes affect ecosystem stability via biodiversity. *Science*, 348, 336–340. <https://doi.org/10.1126/science.aaa1788>
13. Khan, S., Anas, M., & Malik, A. (2019). Mutagenicity and genotoxicity evaluation of textile industry wastewater using bacterial and plant bioassays. *Toxicology Reports*, 6, 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.02.002>
14. Kulaeva, O. A., Gribchenko, E. S., & Zorin, E. A., et al. (2018). Sravnitel'nyy analiz ekspressii genov, svyazannykh so stressom, u

- dvukh liniy gorokha, kontrastnykh po priznaku ustoychivosti k kadmiyu [Comparative analysis of the expression of stress-related genes in two pea genotypes contrasting in tolerance to cadmium]. *Ecological genetics*, 16 (4), 75–84. <https://doi.org/10.17816/ecogen16475-84> (in Russian).
15. Kumar, G., & Rai, P. (2007). Comparative Genotoxic Potential of Mercury and Cadmium in Soybean. *Turk. J. Biol.*, 31, 13–18.
 16. Kumar, G., & Srivastava, A. (2015). Clastogenic and mito-inhibitory effect of heavy metals in root meristems of *Vicia faba*. *Chromosome Botany*, 10 (1), 23–29. <https://doi.org/10.3199/iscb.10.23>
 17. Mittal, N., & Srivastava, A. K. (2014). Cadmium and chromium induced aberrations in the reproductive biology of *Hordeum vulgare*. *Cytologia*, 79, 207–214. <https://doi.org/10.1508/cytologia.79.207>
 18. Olorunfemia, D., Durub, E., & Okieimen, F. (2012). Induction of chromosome aberrations in *Allium cepa* L. root tips on exposure to ballast water. *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, 65 (2), 147–151. <https://doi.org/10.1080/00087114.2012.711676>
 19. Pausheva, Z. P. (1980). Praktikum po fiziologii rasteniy [Workshop on plant physiology]. “Kolos”, Moskow, 255. (in Russian).
 20. Pavlyukova, N., & Bohuslavska, L. (2015). Proliferatyvna aktyvnist tvirnykh tkanyn koreniv kukurudzy za diyi herbitysydu ta hipertermiyi [Proliferative activity of maize roots meristems under the action of herbicides and hyperthermia]. *Visnyk of the Lviv University. Series Biology*, 70, 266–270. (in Ukrainian)
 21. Ritambhara, T., & Kumar, G. (2010). Genetic loss through heavy metal induced chromosomal stickiness in Grass pea. *Caryologia*, 63 (3), 223–228.
 22. Siddiqui, S. (2015). DNA damage in *Cicer* plant grown on soil polluted with heavy metals. *Journal of King Saud University. Science*, 27, 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2015.02.004>
 23. Shen, Y., Zhang, Y., & Chen, J., et al. (2013). Genome expression profile analysis reveals important transcripts in maize roots responding to the stress of heavy metal Pb. *Physiol. Plant*, 147, 270–282. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01670.x>
 24. Siddiqui, S., Meghvansi, M. K., Wani, M. A., & Jabee, F. (2009). Evaluating cadmium toxicity to the root meristem of *Pisum sativum* L. *Acta Physiol. Plant*, 31, 531–536.

25. Srivastava, V., Sarkar, A., & Singh, S., et al. (2017). Agroecological Responses of Heavy Metal Pollution with Special Emphasis on Soil Health and Plant Performances. *Front. Environ. Sci.*, 5 (64), 19. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2017.00064>
26. Xian, Y., Wang, M., & Chen, W. (2015). Quantitative assessment on soil enzyme activities of heavy metal contaminated soils with various soil properties. *Chemosphere*, 139, 604–608. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.060>
27. Yakymchuk, R. A. (2015). Tsytohenetychna otsinka mutahennoho vplyvu na korenevu merystemu *Triticum aestivum* zabrudnen terytoriy, prylehlykh do teplovykh elektrostantsiy [Cytogenetic evaluation of mutagenic effects on a root meristem of *Triticum aestivum* contamination of the territories adjacent to steam power plants]. *Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Biology series*, 1 (34), 62–70. (in Ukrainian).
28. Yakymchuk, R. A. (2018). Cytogenetic disorders in *Triticum aestivum* L. cells, induced by heavy metal releases from industrial production. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8 (1), 317–323. https://doi.org/10.15421/2018_217
29. Yildiz, M., Cigerci, I. H., & Konuk, M., et al. (2009). Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. *Chemosphere*, 75 (7), 934–938.
30. Zhang, Y., & Yang, X. (1994). The toxic effects of cadmium on cell division and chromosomal morphology of *Hordeum vulgare*. *Mutation Research. Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 312 (2), 121–126. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(94\)90016-7](https://doi.org/10.1016/0165-1161(94)90016-7)

**ANALYSIS OF MUTAGENESIS IN APICAL MERISTEMS
OF ROOTS *Zea mays* L. (POACEAE)
INDUCED BY COMBINED ACTION THE IONS
OF CADMIUM, NICKEL AND ZINC**

O. M. Zubrovska

Kryvyi Rih Botanical Garden of the NAS of Ukraine, Kryvyi Rih, Ukraine

Abstract. The paper presents the results of the carried out cytological analysis of apical meristems of the corn roots of the Blitz 160 MB hybrid in the presence of zinc, nickel and cadmium ions in the growing medium. It was found that the combined action of heavy metal ions, first of all, caused a

general decrease in the mitotic index and an increase in the proportion of cells at the prophase and metaphase stages in the meristematic cells of *Z. mays* seedlings. In contrast, the percentage of anaphase cells decreased by 15–20%, and the percentage of telophase cells decreased by 1.2–1.5 times relative to the control conditions, respectively. In the spectrum of cytogenetic disorders caused by the action of heavy metals in the roots of the Blitz 160 MB corn hybrid, anomalies caused by damage to chromosomes (single and multiple bridges, agglutination of chromosomes) and anomalies caused by damage to the mitotic apparatus (lagging and advancing chromosomes, disoriented chromosomes, fragments chromosomes and multipolar mitoses). Compared to the control, the presence of cadmium, zinc and nickel ions in the growing medium at both minimum and maximum concentrations had a high cytotoxic effect and induced an increase in the number of aberrant cells in the meristems of corn roots by more than 5 times. In general, among chromosomal aberrations, the most common were lagging chromosomes (more than 75% of the total number of mitotic pathologies), single bridges (8.8%), premature chromosome movement (2.5%) and multipolarity (2.0%). In addition, the combined action of metal ions induced the formation of abnormalities such as agglutination, disoriented chromosomes, and the formation of chromosome fragments. The general decrease in the mitotic index and a wide range of chromosomal aberrations established by us indicate that heavy metals, when they act together, are clastogenic and affect chromosomes at the DNA level. And the high cytogenetic activity of cadmium, zinc and nickel ions shown by us confirms the genetic danger of industrial emissions with the content of heavy metal ions for organisms in ecosystems and provides for the need to develop a national program for large-scale genetic monitoring of technogenic pollution of Ukrainian territories.

Key words: cadmium, zinc, nickel, *Zea mays*, mitosis, chromosomal aberrations, cytogenetic disorders.

Citation as:

Zubrovska, O.M. (2021). Analiz mutahenezu v apikalnykh merystemakh koreniv *Zea mays* L. (Poaceae) indukovanoho sumisnoiu diieiu ioniv kadmiiu, nikeliu i tsynku [Analysis of mutagenesis in apical meristems of roots *Zea mays* L. (Poaceae) induced by combined action the ions of cadmium, nickel and zinc]. *Ekolohichnyi visnyk Kryvorizhzhia* [Ecological Bulletin of Kryvyi Rih District], 6, 92–105. <https://doi.org/10.31812/eco-bulletin-krd.v6i0>.

**ДСТУ
8302:2015**

Зубровська О.М. Аналіз мутагенезу в апікальних меристемах коренів *Zea mays* L. (Poaceae) індукованого сумісною дією іонів кадмію, нікелю і цинку. *Екологічний Вісник Криворіжжя*. 2021. Вип. 6. С. 92–105.