

## МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

---

---

УДК 581.5+631\*[41+42]

### ВИКОРИСТАННЯ РОСЛИННИХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ОЦІНКИ ТОКСИЧНОСТІ ТЕХНОГЕННО ЗАБРУДНЕНИХ СУБСТРАТІВ

© 2013 р. З. М. Бешлей<sup>1</sup>, С. В. Бешлей<sup>2</sup>,  
В. І. Баранов<sup>1</sup>, О. І. Терек<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет ім. Івана Франка  
(Львів, Україна)

<sup>2</sup>Інститут екології Карпат  
Національної академії наук України  
(Львів, Україна)

Апробовано рослинні тест-системи (*Allium cepa* L., *Raphanus sativus* var. *radicula* Pers. та *Lepidium sativum* L.) для оцінки токсичності субстратів породного відвалу вугільних шахт і нафтозабруднених ґрунтів. Встановлено, що найбільш чутливою тест-системою до токсичності нафтозабруднених ґрунтів і субстратів відвалів вугільних шахт є *A. cepa*, що дає змогу використовувати схожість його насіння як первинний тест-параметр для оцінки загальної токсичності ґрунту.

**Ключові слова:** *Allium cepa* L., *Raphanus sativus* var. *radicula* Pers., *Lepidium sativum* L., біотестування, породні відвали вугільних шахт, нафтозабруднені ґрунти, рівні токсичності

В індустріальних регіонах техногенні ландшафти є небезпечними новоутвореннями, які дестабілізують стан навколишнього середовища: забруднюють ґрунти, воду, повітря, погіршують якість середовища життя організмів (Маячкина и др., 2009). У західному регіоні України, як і в цілому в країні, проблема забруднення верхнього родючого шару ґрунту значно виявляється у районах добування, переробки і транспортування нафти, а також на територіях гірничо-видобувних підприємств, де на поверхні ґрунту нагромаджуються відходи промисловості: порода, нафта й нафтопродукти. Ці відходи характеризуються несприятливими хімічними та фізичними властивостями, що пригнічує ріст і розвиток рослин (Захаров, Кларк, 1993; Терек, 2007; Баранов, 2008; Шамраєв, Шорина, 2009; Бабаджанова, Гринчишин, 2010; Баранов та ін., 2010; Процько, 2010).

---

Адреса для кореспонденції: Бешлей Зоряна Михайлівна,  
Львівський національний університет ім. Івана Франка,  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна;  
e-mail: zirka\_blb2@ukr.net

У зв'язку з цим актуальним є пошук швидких методів оцінки придатності субстратів техногенно порушених ландшафтів для росту рослин. Перспективним є використання методів біотестування, які є достатньо універсальними, відносно швидкими і недорогими (Губачов, 2010; Джура, 2011). Вони дозволяють отримати інтегральну токсикологічну характеристику природних середовищ незалежно від складу забруднюючих речовин.

Одним із провідних біологічних методів оцінки стану навколишнього природного середовища є фітоіндикація. В основі фітотестування чутливість рослин до екзогенного хімічного впливу, що виявляється у зміні ростових і морфологічних характеристик. Основними вимогами до застосування методу фітотестування є: експресність, доступність і простота експериментів, відтворюваність і достовірність отриманих результатів, економічність.

Оперативну інформацію про фітотоксичність забрудненого ґрунту можна отримати, використовуючи тест-об'єкти (насіння і пророст-

ки рослин) і різноманітні тест-показники (динаміка проростання насіння, відсоток схожості, довжина головного і бічних коренів, висота пагона тощо) (Горон та ін., 2012). Проведення експериментів з впливу різних техногенних субстратів на рослинні об'єкти в контрольованих умовах дозволяє вирішувати багато завдань: встановити причини різної стійкості рослин і тенденції пристосування до токсикантів, виявити вплив конкретного фактора середовища, виключити дію інших чинників, з'ясувати летальну дозу поллютанту і т.ін.

Перевагою біоіндикації стану довкілля є те, що вона дає змогу визначити сумісну біологічну активність впливу фізико-хімічних факторів едафотопу на природне середовище. Інтегральна оцінка, зроблена методами біоіндикації, є досить об'єктивною, оскільки враховує і вплив невідомих забруднювачів, які неможливо визначити фізико-хімічними методами (Бешлей та ін., 2011).

Шахтні відвали та нафтозабруднені ґрунти являють собою унікальні «полігони» для проведення екологічних досліджень. Початковим їх етапом є оцінювання токсичності субстратів та визначення чутливості рослинних організмів до негативних факторів техногенних субстратів, що може слугувати важливим підґрунтям в теорії та практиці фіторекультиваци антропогенно порушених територій. Зміна величин тест-параметрів досліджуваних рослинних об'єктів дасть можливість оцінювати ступінь екологічної безпеки чи небезпеки існування живих організмів на досліджуваній території (Кузик, 2012).

Існує багато рекомендацій щодо використання того або іншого виду рослин для біоіндикації стану навколишнього середовища. На кафедрі агрохімії Московського державного університету апробований метод визначення сумарної токсичності ґрунту з використанням насіння редису посівного (*Raphanus sativus* var. *radicula* Pers.), що пов'язано з високою чутливістю насіння до токсичних речовин (Надточій, 2007). За літературними даними біотестування за допомогою крес-салату (*Lepidium sativum* L.) є інформативним як при забрудненні ґрунту поллютантами різних типів (важкими металами, вуглеводнями, радіоактивними речовинами тощо), так і за дії комплексного забруднення (Зейферт, 2011). У багатьох роботах вітчизняних і зарубіжних авторів показана ефективність застосування насіння цибулі ріпчастої (*Allium cepa* L.) як ефективної тест-культури (Çavuşoğlu et al., 2011). Саме тому було апробо-

вано використання насіння вище вказаних рослин для визначення чутливості організмів до токсикантів і комплексної оцінки токсичності субстратів породного відвалу вугільних шахт і нафтозабруднених ґрунтів.

## МЕТОДИКА

Визначення токсичності техногенно забруднених субстратів і чутливості класичних лабораторних тест-об'єктів (*Allium cepa* L., *Raphanus sativus* var. *radicula* Pers. та *Lepidium sativum* L.) здійснювали з використанням методики О.А. Берестецького (Берестецкий, 1971). Метод ґрунтується на пророщуванні насіння модельних видів рослин на різних субстратах. Використовували зразки порід Червоноградського гірничопромислового регіону, а саме терикони Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ), червоної (перегоріла порода зі зміненими структурно-текстурними особливостями) і чорної (неперегоріла, для якої характерний природний чорно-сірий колір) порід (Баранов, 2008) та нафтозабруднений ґрунт (нафту вносили у ґрунт в концентрації 2, 5, 8 %).

Для цього проби чорного і червоного субстратів, нафтозабрудненого ґрунту (її відповідну кількість вносили у ґрунт до потрібної концентрації і перемішували) вагою 50 г поміщали в чашки Петрі, вирівнювали поверхню та наносили на неї шар сухого піску товщиною 0,5 см, після чого зволожували однаковим (10 мл) об'ємом дистильованої води. Чашки закривали і витримували одну добу за кімнатної температури для дифундування токсичних речовин у пісок, після чого висівали насіння. Вологість субстратів із піском була в межах 70-80%. Контролем слугував пісок, зволожений до 70-80% від повної вологості. Насіння пророщували при 23-25°C в темряві протягом 7 діб. Тест-параметрами, які використовували для оцінки токсичності техногенно забруднених субстратів, було обрано схожість насіння та морфометричні параметри проростків. Фітотоксичний ефект (ФЕ, %) визначали у відсотках до довжини кореневої системи за формулою (Лозановская и др., 1998):

$$ФЕ = \frac{L_0 - L_x}{L_0} \cdot 100$$

де  $L_0$  – середня довжина кореня рослини, вирощеної на контрольному середовищі;  $L_x$  – середня довжина кореня рослини, вирощеної під впливом токсичного фактора. Оцінку токсичності субстратів проводили за п'ятибальною шкалою (табл. 1).

Таблиця 1. Шкала рівнів токсичності ґрунтів (Джура та ін., 2006)

Рівні пригнічення ростових процесів (фітотоксичний ефект), %	Рівень токсичності
0–20	Відсутність або слабкий рівень
20,1–40	Середній рівень
40,1–60	Вище середнього рівня
60,1–80	Високий рівень
80,1–100	Максимальний рівень

Отримані дані опрацьовували методами математичної статистики (Лакин, 1990).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

На основі визначення морфометричних параметрів тест-об'єктів встановлено, що відбувалось пригнічення ростових процесів досліджуваних проростків у всіх зразках. За росту на чорній та червоній породі довжина коренів зменшувалась відносно контролю у проростках цибулі ріпчастої на 73% і 69%, редису посівного – 69% і 68%, крес-салату – 48% і 42%, відповідно. Таку ж закономірність спостерігали і за висотою пагонів. При вирощуванні проростків на нафтозабрудненому субстраті із збільшенням концентрації нафти, відбувалось зниження морфометричних показників у всіх досліджуваних рослин (рис. 1).

Відомо, що насіння здатне адсорбувати нафту, що, у свою чергу, призводить до змін метаболічних реакцій, унаслідок чого зменшується схожість насіння або воно взагалі не проростає (Горова, Кулина, 2008). В наших дослі-

дах схожість насіння редису посівного та крес-салату за дії як нафтозабрудненого ґрунту, так і субстратів породних відвалів суттєво не відрізнялася від контрольних зразків, тоді як істотне зменшення схожості насіння цибулі ріпчастої спостерігали за дії практично всіх зразків. За впливу чорної породи цей показник становив 35%, червоної породи – 50% та 5% нафти – 55%, за дії 8% нафти насіння досліджуваного тест-об'єкта не проростало (рис.2). Отже, концентрація нафти 8% у ґрунті є летальною дозою для проростання насіння *A. сепа*.

У дослідженнях науковців кафедри фізіології та екології рослин ЛНУ ім. І.Франка (Горон, Джура, 2012) показано перспективність використання для експрес-методу оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів таких тест-об'єктів, як льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.) та соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.). Наші дослідження показали, що перспективним видом для фітоіндикації нафтозабруднених ґрунтів є також *A. сепа*.

На основі проведених вимірювань був обчислений фітотоксичний ефект (табл. 2). По-

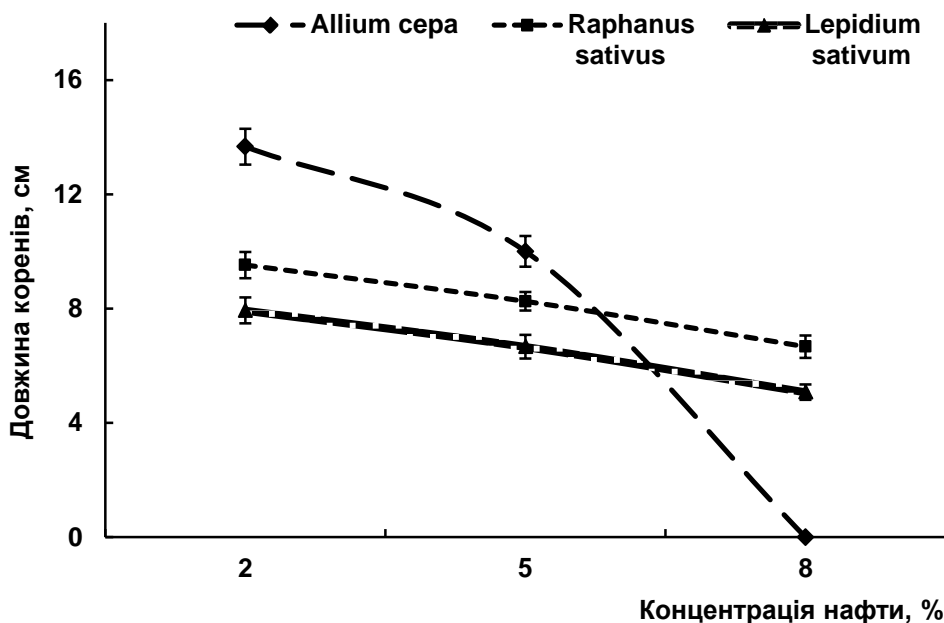
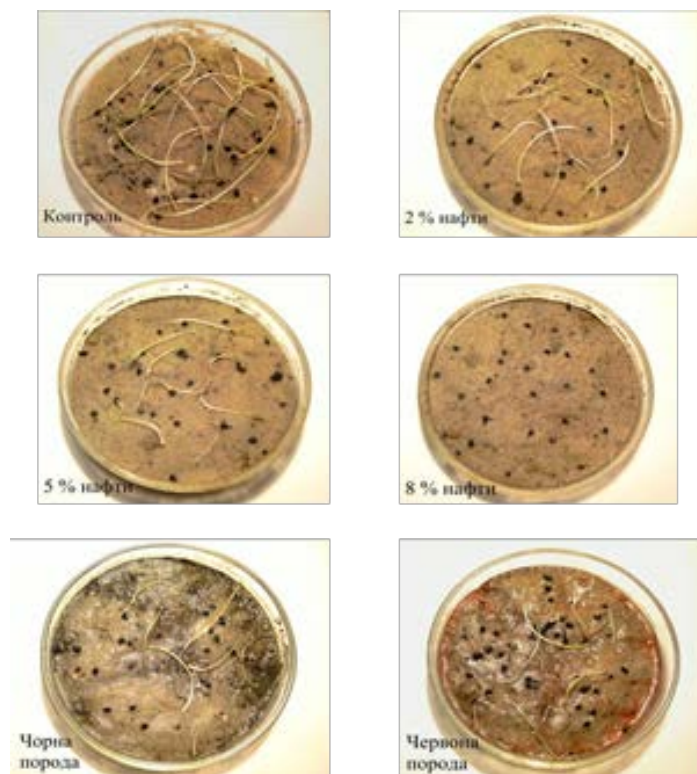


Рис. 1. Залежність довжини коренів рослин від концентрації нафти у ґрунті.

Таблиця 2. Фітотоксичний ефект субстратів породних відвалів та нафтозабруднених ґрунтів, %

Об'єкт	<i>Allium cepa</i> L.	<i>Raphanus sativus</i> var. <i>radicula</i> Pers.	<i>Lepidium sativum</i> L.
Чорна порода	73,61	30,00	36,65
Червона порода	68,75	30,00	30,62
2% нафта	71,53	25,00	24,59
5% нафта	79,17	35,00	36,65
8% нафта	100,00	47,50	51,73

Рис. 2. Рослинна тест-система *Allium cepa* L. за впливу нафтозабрудненого ґрунту та субстратів породних відвалів вугільних шахт.

казано, що найчутливішим тест-об'єктом в наших дослідженнях виявилась *A. cepa*. Фітотоксичний ефект субстратів породних відвалів та нафтозабруднених ґрунтів, окрім ґрунту з 8% нафти, обрахований для цього виду за величиною морфометричних показників коренів, становив 69-79%, що характеризує високий рівень токсичності. Пригнічення ростових процесів коренів інших тест-об'єктів – редису та кресалату – визначають рівень токсичності досліджуваних техногенних субстратів як середній та вищий від середнього.

В результаті досліджень стану ґрунтів у Червоноградському гірничопромисловому регіоні методами біоіндикації (Горова, Кулина, 2008) встановлено, що рівні пригнічення росто-

вих процесів фітоіндикатора гірчиці білої (*Sinapis* L.) були у межах від 43,6 до 59,6% і автори визначають токсичність ґрунтів на рівні вищому від середнього. Наші дослідження показали схожу тенденцію – *R. sativus* і *L. sativum* на рівні середньому та *A. Cepa* – високому, що свідчить про високу чутливість насіння цибулі ріпчастої до токсичних компонентів субстратів породних відвалів.

Таким чином, у результаті проведених досліджень встановлено, що найчутливішим тест-об'єктом є *A. cepa* який можна рекомендувати як для оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів, так і субстратів відвалів вугільних шахт. При збільшенні концентрації нафти у ґрунті до 8% проростання *A. cepa* не відбувалося, отже ця концентрація є летальною для росту

## ВИКОРИСТАННЯ РОСЛИННИХ ТЕСТ-СИСТЕМ

цибулі ріпчастої. Встановлено пряму залежність між пригніченням морфометричних показників досліджуваних рослин – *Allium cepa* L., *Raphanus sativus* var. *radicula* Pers. та *Lepidium sativum* L. – і концентрацією нафти у ґрунті в проміжку 2-8 %. Види *Raphanus sativus* var. *radicula* Pers. та *Lepidium sativum* L. родини капустяних (*Brassicaceae*) виявилися пристосованими до росту на нафтозабруднених ґрунтах і субстратах відвалів вугільних шахт. Подальші більш ґрунтовні фізіолого-біохімічні дослідження дадуть змогу встановити причини різної стійкості досліджуваних рослин і тенденції їх пристосування до негативних факторів техногенно забруднених субстратів.

### ЛІТЕРАТУРА

- Бабаджанова О.Ф., Гринчишин Н.М.* Роль сорбентів у ліквідації аварійних розливів нафтопродуктів на поверхні ґрунту // Вісн. Львів. держ. ун-ту безпеки життєдіяльності. – 2010. – № 4. – С. 75-81.
- Баранов В.І.* Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ «Львівсистеменерго» як об'єкта для озеленення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біологічна. – 2008. – Вип. 46. – С. 172-178.
- Баранов В.І., Гузь М.М., Гавриляк М.С., Ващук С.П.* Вивчення вмісту важких металів у деревних рослин на девастованих ґрунтах породного відвалу вугільних шахт // Науковий вісник Нац. лісотехнічного ун-ту України. – 2010. – Вип. 20 (1). – С. 68-72.
- Баранов В.І., Книш І.М., Блайда І.А., Ващук С.П., Гавриляк М.С.* Очерет звичайний – фіторемедіант важких металів у дренажних канавах породних відвалів вугільних шахт // Біологічні студії / *Studia Biologica*. – 2012. – Т. 6, №1. – С. 93-100.
- Берестецкий О.* Методы определения токсичности почв. – Киев: Урожай, 1971. – С. 139-243.
- Бешлей С.В., Баранов В.І., Ващук С.П.* Оцінка токсичності субстратів відвалів вугільних шахт методом біотестування // Науковий вісник Нац. лісотехнічного ун-ту України. – 2011. – Вип. 21. – С. 98-102.
- Горова А., Кулина С.* Оцінка токсичності ґрунтів Червоноградського гірничопромислового району за допомогою ростового тесту // Вісн. Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2008. – Вип. 48. – С. 189-194.
- Горон М., Джура Н., Романюк О., Шевчик Л., Сенечин Н., Терек О.* Фітотестування як експрес-метод оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів // Вісн. Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2012. – Вип. 58. – С. 185-192.
- Губачов О.І.* Особливості використання рослин для біотестування ґрунтів з метою визначення рівня екологічної безпеки промислових територій // Науковий вісник КУЕІТУ. Нові технології. – 2010. – № 3 (29) – С. 164-171.
- Джура Н.М.* Можливості використання рослинних тест-систем для біомоніторингу нафтозабруднених ґрунтів // Біологічні студії / *Studia Biologica*. – 2011. – Т. 5, № 3. – С. 183-196.
- Джура Н. М., Романюк О. І., Гонсьор Ян, Цвілюнюк О.М., Терек О.І.* Використання рослин для рекультивациі ґрунтів, забруднених нафтою і нафтопродуктами // Екологія та ноосферологія. – 2006. Т. 17, вип. 1-2. – С. 55-60.
- Захаров В.М., Кларк Д.М.* Биотест: интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов – М.: Биотест, 1993. – 68 с.
- Зейферт Д. В.* Научные основы биоэкологического мониторинга антропогенных воздействий при разных видах хозяйственной деятельности на примере территории южной промышленной зоны Башкортостана: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – М., 2011. – 43 с.
- Кузик І. М.* Вплив породних відвалів шахт на компоненти довкілля та визначення можливостей щодо його зменшення // Екологія і природокористування. – 2012. – Вип. 15. – С. 23-37.
- Лакін Г. Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
- Лозановская И.Н., Орлов Д.С., Садовникова Л.К.* Экология и охрана биосферы при химическом загрязнении. – М.: Высш. шк., 1998. – 287 с.
- Маячкина Н.В., Чугунова М.В.* Особенности биотестирования почв с целью их экотоксикологической оценки // Вестн. Нижегородск. ун-та им. Н.И. Лобачевского. – 2009. – № 1. – С. 84-93.
- Процько Я.І.* Вплив нафти та нафтопродуктів на ґрунтовий покрив // Вісн. Полтавськ. держ. аграрн. академії. – 2010. – Вип. 2. – С. 189-191.
- Терек О. І.* Ріст рослин. – Львів: Видавничий центр ЛНУ ім. І. Франка, 2007. – С. 24.
- Шамраев А.В., Шорина Т.С.* Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. – 2009. – Вып. 6 (100). – С. 642-645.
- Çavuşoğlu K., Yalçın E., Türkmen Z., Yapar K., Çavuşoğlu K., Çiçek F.* Investigation of Toxic Effects of the Glyphosate on *Allium cepa* // *Tarım bilimleri dergisi – J. Agricultural Sci.* – 2011. – V. 17. – P.131-142.

Надійшла до редакції  
04.12.2013 р.

**БЕШЛЕЙ**

**USE OF PLANTS TEST SYSTEMS  
FOR ASSESS THE TOXICITY OF POLLUTED SUBSTRATES**

Z. M. Beshley<sup>1</sup>, S. V. Beshley<sup>2</sup>, V. I. Baranov<sup>1</sup>, O. I. Terek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Ivan Franko National University of Lviv  
(Lviv, Ukraine)*

<sup>2</sup>*Institute of Ecology of the Carpathians  
of National Academy of Sciences of Ukraine  
(Lviv, Ukraine)*

*e-mail: zirka\_blb2@ukr.net*

The plant test systems (*Allium cepa* L., *Raphanus sativus* var. *radicula* Pers. and *Lepidium sativum* L.) to assess the toxicity of substrates of coal rock dumps and oil contaminated soils was probated. We have found that *A. cepa* is the most sensitive test system to study the toxicity of contaminated soils. This will allow the using of its seed germination as the primary parameter to assess the overall toxicity of the soil.

**Key words:** *Allium cepa* L., *Raphanus sativus* var. *radicula* Pers., *Lepidium sativum* L., biotesting, dumps of coal mines, oil polluted soils, level of toxicity

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ  
ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ТЕХНОГЕННО ЗАГРЯЗНЕННЫХ  
СУБСТРАТОВ**

З. М. Бешлей<sup>1</sup>, С. В. Бешлей<sup>2</sup>, В. И. Баранов<sup>1</sup>, О. И. Терек<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
(Львов, Украина)*

<sup>2</sup>*Институт экологии Карпат  
Национальной академии наук Украины  
(Львов, Украина)*

*e-mail: zirka\_blb2@ukr.net*

Апробированы растительные тест-системы (*Allium cepa* L., *Raphanus sativus* var. *radicula* Pers. и *Lepidium sativum* L.) для оценки токсичности субстратов породного отвала угольных шахт и нефтезагрязненных почв. Установлено, что наиболее чувствительной тест-системой к токсичности нефтезагрязненных почв и субстратов отвалов угольных шахт является *A. cepa*, что позволяет использовать сходство его семян как первичный тест-параметр для оценки общей токсичности почвы.

**Ключевые слова:** *Allium cepa* L., *Raphanus sativus* var. *radicula* Pers., *Lepidium sativum* L., биотестирование, породные отвалы угольных шахт, нефтезагрязненные почвы, уровни токсичности