

УДК 631.95:631.4:504.054:543, 275.2

© 2015

*Колеснікова Л. А., кандидат сільськогосподарських наук*

Полтавська державна аграрна академія

*Федюшко М. П., кандидат сільськогосподарських наук*

Таврійський державний агротехнологічний університет

## АНАЛІЗ ФІТОТОКСИЧНОСТІ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

*Рецензент – доктор сільськогосподарських наук П. В. Писаренко*

*Проведено аналіз токсичного впливу сирової нафти на анатомо-морфологічні показники листкової пластинки (далі – ЛП) проростків пшениці ярої, вирощених на ґрунті з модельованим забрудненням. Встановлено три основні ефекти впливу сирової нафти на морфологію ЛП модельної тест-культури: стимуляція анаболічних процесів хлоренхіми; резистентність (стійкість проростків пшениці ярої до впливу нафтового забруднення ґрунту); фітотоксичний ефект, що викликає розвиток атрофії та деструкції клітин хлоренхіми й призводить до загибелі проростків.*

**Ключові слова:** морфометрія, хлоренхіма, хлоропласти, листкова пластинка, нафта.

**Постановка проблеми.** За зведеними даними науковців Полтавської державної аграрної академії значні площі родючих земель Полтавщини, що зазнають техногенного навантаження, мають середній, високий і досить високий рівень забруднення нафтою і нафтопродуктами [3, 4, 5]. Внаслідок цього суттєво погіршився водний, повітряний та поживний режими ґрунтового покриву сільськогосподарських угідь Полтавщини. Враховуючи важливість екологічної проблеми, перед нами постає задача з вивчення і поліпшення токсико-екологічних ситуацій агроландшафтів Полтавської області.

**Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми.** Хімічне забруднення природного середовища в результаті добування нафти носить регіональний характер. У Полтавській області значний відсоток земель високої та середньої якості (68 % території). Це в основному родючі чорноземи типові та звичайні малогумусні і середньогумусні на лесових породах. На сьогодні вміст гумусу в ґрунтах області, починаючи з 60-х років минулого століття, зменшився з 4,3 до 3,3 % [2, 6]. Відбувається перерозподіл площ між різними класами за вмістом гумусу – землі з більш високого класу перейшли до більш низьких. До того ж на орних землях втрати даного показника децю вищі, ніж на природно-кормових угіддях.

Аналіз діючих на території України норматив-

них документів (ГОСТ 17.4.3.06-86. Охрана природы. Почвы. Общие требования к классификации почв по влиянию на них химических загрязняющих веществ; ГСТУ 41-00 032 626-00-007-97. Галузевий стандарт України. Охорона довкілля). Спорудження розвідувальних і експлуатаційних свердловин на нафту та газ на суші показав, що для оцінки рівня забруднення ґрунтів нафтопродуктами використовується тимчасово допустима концентрація (ТДК). Однак оцінка екологічної небезпеки забруднення здійснюється без урахування впливу нафтопродуктів на фітоагроценоз.

**Мета і завдання досліджень.** Ми поставили за мету дослідити зміну анатомо-морфологічних показників за наявності стресора (сирової нафти) ранньої стадії вегетації, зосередивши увагу на особливостях організації хлоренхімного компоненту.

**Завдання:** на підставі отриманих результатів морфометричного аналізу передбачалося виявити взаємозв'язок між вмістом сирової нафти в ґрунті та проявом тест-відгуків модельної рослини.

**Матеріали і методи досліджень.** Для мікроскопічних досліджень вирізали центральну частину ЛП шириною  $\approx 1-2$  мм по 5 проростків у кожній групі спостережень. Біозразки фіксували, обезвожували й заливали в епоксидні смоли згідно з класичною методикою приготування препаратів для електронної мікроскопії [1]. Із полімеризованих блоків за допомогою ультрамікротома УМТП-6 виготовляли серію напівтонких зрізів, які монтували на предметні скельця, забарвлювали метиленовим синім, поміщали в краплю епоксидної смоли, накриваючи склом. Мікроскопічні дослідження препаратів проводили за допомогою мікроскопа МБІ-15 за загального збільшення 700\*. Для морфометричних досліджень застосовували квадратно-сітчасту скляну вставку для вимірювального окуляра К 7.

**Результати дослідження.** Наведені дані переконливо свідчать про те, що за концентрації нафти у ґрунті 5 мл/кг визначається збільшення розмірів ЛП і вмісту хлоренхіми, об'ємна частка якої збільшується від 49,0 % (у нормі) до 59 % ( $m \pm 2,0$  %) (див. табл.).

## СІЛЬСЬКЕ ГОСПОДАРСТВО. РОСЛИННИЦТВО

### Кількісні показники хлоренхімного компоненту ЛП проростків

Показник	Концентрація сирової нафти у ґрунті, мл/кг						
	К (норма)	5	10	20	30	40	50
$S_{\text{хл}}, \text{мк}^2$	210000 $\pm 1000$	390000 $\pm 1000$	196600 $\pm 1000$	170000 $\pm 1000$	150000 $\pm 1000$	130000 $\pm 1000$	122000 $\pm 1000$
$S\bar{\sigma}_{\text{хл}}, \text{мк}^2$	350 $\pm 30$	500 $\pm 50$	351 $\pm 30$	340 $\pm 20$	326 $\pm 20$	325 $\pm 20$	320 $\pm 20$
$S_{\text{хп}}, \text{мк}^2$	40000 $\pm 1000$	110000 $\pm 1000$	36000 $\pm 1000$	23900 $\pm 1000$	20000 $\pm 1000$	17000 $\pm 1000$	16500 $\pm 1000$
$N_{\text{хл}}$	600 $\pm 50$	780 $\pm 50$	560 $\pm 50$	500 $\pm 40$	460 $\pm 40$	400 $\pm 40$	390 $\pm 40$
$Vv^{\text{хл}}, \%$	49,0 $\pm 2,0$	59,0 $\pm 2,0$	48,0 $\pm 2,0$	48,7 $\pm 2,0$	50,0 $\pm 2,0$	52,0 $\pm 2,0$	51,0 $\pm 2,0$
$Vv^{\text{хп}}, \%$	19,0 $\pm 2,0$	28,4 $\pm 2,0$	18,3 $\pm 2,0$	14,0 $\pm 1,0$	13,5 $\pm 1,0$	13,1 $\pm 1,0$	13,5 $\pm 1,0$

*Примітка:* площа хлоренхіми –  $S_{\text{хл}}, \text{мк}^2$ ; середня площа зрізів клітин хлоренхіми –  $S\bar{\sigma}_{\text{хл}}, \text{мк}^2$ ; кількість зрізів клітин хлоренхіми –  $N_{\text{хл}}$ ; сумарна площа хлоропластів –  $S_{\text{хп}}, \text{мк}^2$ ; об'ємна частка клітин хлоренхіми –  $Vv^{\text{хл}}, \%$ ; об'ємна частка клітин хлоропластів –  $Vv^{\text{хп}}, \%$ .

Ріст об'ємної частки хлоренхіми обумовлений збільшенням сумарної площі зрізів клітин хлоренхіми в ЛП від  $210,0 \times 10^3 \text{ мк}^2$  (у нормі) до  $390 \times 10^3 \text{ мк}^2$  ( $m \pm 10^3 \text{ мк}^2$ ). Отже, спостерігається стимуляція процесів анаболізму та збільшення вмісту асимілюючої паренхіми в ЛП відносно норми в 1,84 разу. За дози нафтового забруднення ґрунту 10 мл/кг відносно норми спостерігається незначне зменшення об'ємної частки хлоренхіми в ЛП і зменшення числових значень площі асимілюючої тканини від  $210,0 \times 10^3 \text{ мк}^2$  (у нормі) до  $196,6 \times 10^3 \text{ мк}^2$  ( $m \pm 10^3 \text{ мк}^2$ ). Під час збільшення дози нафтового забруднення ґрунту від 20 до 50 мл/кг спостерігається поступове зниження вмісту хлоренхіми в ЛП – від  $170,0 \times 10^3 \text{ мк}^2$  до  $122 \times 10^3 \text{ мк}^2$  ( $m \pm 10^3 \text{ мк}^2$ ). За максимальної концентрації сирової нафти в ґрунті у 50 мл/кг вміст хлоренхіми в ЛП, порівняно з нормою, зменшується в 1,7 разу.

Числові значення  $N_{\text{хл}}$  і  $S\bar{\sigma}$  у досліджуваному інтервалі доз нафтового забруднення ґрунту (5–50 мл/кг) вказують на синхронізацію та однонаправленість процесів спочатку росту, а потім зменшення морфометричних показників. Так, за малих доз нафтового забруднення ґрунту (5 мл/кг) морфометричні дані вказують на наявність процесів активної проліферації та водночас фізіологічної гіпертрофії клітин хлоренхіми в ЛП четвертого листка проростків пшениці ярої. Кількість зрізів цих клітин зростає від 600 (у нормі) до 780 ( $m \pm 50$ ). Водночас спостерігається також збільшення середньої площі їх зрізів від  $350 \pm 30 \text{ мк}^2$  (у нормі) до  $500 \pm 50 \text{ мк}^2$ . Ми вважаємо, що фізіологічна гіпертрофія клітин хлоренхіми обумовлена не тільки збільшенням вакуо-

лярного простору, але й, передусім, ростом вмісту кількості хлоропластів в цитоплазмі даних клітин. На це вказують дані морфометричних досліджень. Якщо в нормі об'ємна частка хлоропластів у клітинах асимілюючої тканини становить 19 %, то за нафтового забруднення ґрунту у 5 мл/кг вона суттєво збільшується (до  $28,4 \pm 2,0 \%$ ). За норми сумарна площа хлоропластів хлоренхіми ЛП четвертого прикореневого листка пшениці ярої дорівнює  $40 \times 10^3 \text{ мк}^2$ , за нафтового забруднення ґрунту у 5 мл/кг ця площа у ЛП зростає до  $110 \times 10^3 \text{ мк}^2$  ( $m \pm 10^3 \text{ мк}^2$ ).

В умовах нафтового забруднення ґрунту за концентрації нафти 10 мл/кг у хлоренхімному компоненті ЛП спостерігається певне зменшення числа зрізів клітин – від 600 (у нормі) до 560 ( $m \pm 50$ ). Під час збільшення концентрації нафти в ґрунті, від 20 мл/кг до 50 мл/кг, кількість зрізів клітин хлоренхіми повільно зменшується – від 500 до 390 ( $m \pm 40$ ). Відносно норми (600 клітин), в умовах максимального нафтового забруднення ґрунту число зрізів клітин хлоренхіми ЛП зменшується  $\approx$  в 1,5 разу. Результати досліджень свідчать, що за дози нафтового забруднення ґрунту від 10 мл/кг до 50 мл/кг спостерігається певна стабільність значень середньої площі зрізів хлоренхімних клітин. Так, у межах похибки вимірювань, середня площа зрізів клітин хлоренхіми становить  $351 \pm 30 \text{ мк}^2$  (10 мл/кг) до  $320 \pm 20 \text{ мк}^2$  (50 мл/кг), що близько норми ( $350 \pm 30 \text{ мк}^2$ ). Наведені дані дали змогу зафіксувати, що зниження вмісту в ЛП четвертого прикореневого листка проростків пшениці ярої домінуючого компонента хлоренхіми обумовлено зменшенням кількості клітин за відносно незмінного їх розміру.

Результати морфометрії хлоропластів у клітинах хлоренхіми свідчать про те, що зі збільшенням нафтового забруднення ґрунту (від 20 мл/кг до 50 мл/кг) несуттєво зменшується відносний об'єм цих органел (від  $14,0 \pm 1,0\%$  до  $13,5 \pm 1,0\%$ ). Однак у метричному вираженні сумарна площа хлоропластів значно знижується – від  $23,9 \times 10^3 \pm 10^3$  мк<sup>2</sup> (20 мл/кг) до  $17,0 \times 10^3 \pm 10^3$  мк<sup>2</sup> (40 мл/кг) та  $16,5 \times 10^3 \pm 10^3$  мк<sup>2</sup> (50 мл/кг).

### БІБЛІОГРАФІЯ

1. Барыкина Р. П. Основы микротехнических исследований в ботанике / Р. П. Барыкина, Т. Д. Веселова, А. Г. Девятков. – М. : изд-во каф. высших растений биол. ф-та МГУ, 2000. – 127 с.

2. Звіт про стан навколишнього природного середовища в Полтавській області у 2011 році. – Полтава : Державне управління екології та природних ресурсів у Полтавській області, 2012. – 117 с.

3. Колеснікова Л. А. Агроекосистема в умовах техногенного навантаження Решетняківського родовища Полтавської області / Л. А. Колеснікова // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2011. – №2. – С. 162–169.

**Висновок.** Таким чином, результати проведених морфометричних досліджень дали змогу встановити три основні ефекти впливу сирої нафти на морфологію ЛП: *перший ефект* – стимуляція анаболічних процесів; *другий ефект* – резистентність; *третій ефект* – фітотоксичний: поява локальних ділянок деструкції та лізису хлоренхіми за нафтового забруднення ґрунту ( $\geq 20$  мл/кг).

4. Матеріали Першої Міжнародної науково-практичної конференції [«На шляху до сталого розвитку регіонів. Екологічні та соціально-економічні аспекти»]. – Полтава, 2004. – 179 с.

5. Новоселова Е. И. Экологические аспекты трансформации ферментного пула почвы при нефтяном загрязнении и рекультивации : автореф. дис. на соиск. уч. степ. д. б. н. : спец. 03.00.27 «Почвоведение, 03.00.16 – «Экология» / Е. И. Новоселова. – Воронеж, 2008. – 20 с.

6. Писаренко П. В. Оцінка екологічного стану сільськогосподарських угідь Полтавської області / П. В. Писаренко, О. О. Ласло // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2009. – №2 – С. 23–25.