

ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ ЗАКОНОМІРНОСТЕЙ ВПЛИВУ НАФТИ НА ПОЧАТКОВІ РОСТОВІ ПАРАМЕТРИ РОСЛИННИХ ТЕСТ-ОБ'ЄКТІВ

Л. Шевчик, О. Романюк

*Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії
і вуглехімії імені Л.М. Литвиненка НАН України
вул. Наукова, 3а, Львів 79053, Україна
e-mail: lesyashevchik@gmail.com*

Проведено вивчення закономірностей впливу нафти на початкові ростові параметри рослинних тест-об'єктів. Встановлено, що нафта, в більшості, пригнічує схожість насіння та ріст рослин, хоча виявлено і такі, на які нафта при певних концентраціях має стимулюючу дію. Показано, що найбільш чутливими до нафтового забруднення є *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*, тест-показники яких монотонно знижуються зі зростанням концентрації нафти у ґрунті. Встановлені залежності між концентрацією нафти і початковими ростовими параметрами є близькими до лінійних і можуть бути використані для біотестування та біоіндикації нафтових забруднень ґрунтів.

Ключові слова: нафтозабруднені ґрунти, токсичність, *Linum usitatissimum* L., *Helianthus annuus* L., *Fagopyrum vulgare* St.

Нафта є найпоширенішим техногенним забруднювачем ґрунтів. При її розливах на довгий період часу порушується нормальне функціонування ґрунтової екосистеми: погіршується родючість, різко змінюються інтенсивність і спрямованість окисно-відновних процесів, пригнічується активність ґрунтової мікробіоти, порушується баланс ґрунтових ферментів. У процесі трансформації вуглеводнів утворюються нові сполуки, які часто не менш токсичні, ніж вихідні компоненти нафти.

Традиційна аналітична оцінка ступеня екологічної небезпеки, що здійснюється шляхом визначення у довкіллі концентрації окремих потенційно шкідливих речовин і порівняння отриманих результатів із гранично допустимими, є не завжди достатньою. Полікомпонентність нафтового забруднення, його трансформація у часі потребує комплексного підходу, який не лише включає визначення рівня нафтохімічного забруднення, але й враховує токсичну дію цього забруднення на живі організми. Тому актуальною проблемою є розробка ефективних методів екотоксикологічної оцінки стану ґрунтової екосистеми при нафтових розливах. Розробка таких методів неможлива без системного вивчення закономірностей впливу нафти на початкові ростові параметри рослинних тест-об'єктів.

Літературні дані про характер впливу нафти на початкові ростові параметри рослин є нечисленними і значною мірою суперечливими. Деякі автори вважають, що нафта не впливає на проростання насіння рослин [13], інші вважають її вплив на проростання позитивним [2, 4, 7, 12, 15]. Проте в більшості експериментальних досліджень, як стверджують автори Н.А. Киреева, В.М. Невзоров, В.Н. Седих, Е. Домінгес-Росадо [1, 6, 8–10, 12, 14, 16], нафта гальмує проростання насіння та різко знижує ріст проростків. Очевидно, така суперечливість пов'язана з неоднаковим рівнем забруднення досліджуваних ґрунтів і застосуванням рослин із різною біологічною стійкістю. Крім того, досліджувані рослини вивчалися як фітотормедіанти, а не як рослинні тест-об'єкти.

Метою наших досліджень було вивчити закономірності впливу нафти на початкові ростові параметри рослинних тест-об'єктів, що необхідно для подальшої розробки нових методів біотестування та біоіндикації.

Матеріали та методи

При дослідженні закономірностей впливу нафти на початкові ростові параметри рослинних тест-об'єктів на першому етапі ми проводили пошук об'єктів, чутливих до нафтового забруднення. Нами були опробовані рослини: льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.), соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.), ріпак озимий (*Brassica napus* L.), просо дике (*Panicum miliaceum* L.), крес-салат (*Lepidium sativum* L.), огірок звичайний (*Cucumis sativus* L.), кріп городній (*Anethum graveolens* L.), конюшина лучна (*Trifolium pratense*), овес посівний (*Avena sativa* L.), гречка посівна (*Fagopyrum vulgare* St.), насіння яких пророщували на нафтозабрудненому ґрунті.

Ґрунт забруднювали сирою нафтою (густиною 0,86 г/мл) так, що її вміст у ньому становив 0,4; 1; 2,5; 5; 8; 10; 15; 17; 20%. Контролем слугував ґрунт без нафти. Приготовлений нафтозабруднений ґрунт у кількості 20 г поміщали у чашки Петрі, зволожували 10 мл води (до вологості 33,3%), розкладали насіння тест-об'єктів, закривали чашки і ставили в термостат при температурі +24°C. Через 3 доби визначали схожість насіння, а через 5 діб вимірювали довжину коренів, висоту пагонів, сиру та суху масу рослин.

Серії дослідів проводили не менше ніж у трикратній повторності, при кількості об'єктів вимірювання не менше ніж 60 для кожної концентрації. Статистичну обробку даних здійснено за критерієм Стьюдента [5, 11] з достовірністю $\geq 0,95$ ($P < 0,05$). Отримані показники представлено у вигляді середнього арифметичного, довірчого інтервалу, величини інструментальної похибки та середньоквадратичної похибки середнього арифметичного, а також відносними величинами:

- Відносна схожість насіння (ВСН) = (Кількість пророслого насіння в досліді / Кількість пророслого насіння в контролі) \times 100%;
- Відносна довжина кореня (ВДК) = (Середня довжина кореня в досліді / Середня довжина кореня в контролі) \times 100%;
- Відносна висота пагона (ВВП) = (Середня висота пагона в досліді / Середня висота пагона в контролі) \times 100%;
- Відносна маса сирих рослин = (Середня маса сирової рослини в досліді / Середня маса сирової рослини в контролі) \times 100%;
- Відносна маса сухих рослин = (Середня маса сухої рослини в досліді / Середня маса сухої рослини в контролі) \times 100%.

Результати і їхнє обговорення

Нами встановлено, що такі тест-об'єкти, як ріпак озимий (*Brassica napus* L.), просо дике (*Panicum miliaceum* L.), крес-салат (*Lepidium sativum* L.), огірок звичайний (*Cucumis sativus* L.) є вразливими до дії нафти у ґрунті, дають неоднозначну реакцію, а також для них характерна висока мінливість ростових параметрів усередині вибірки [3].

Подібні ознаки спостерігаються і для конюшини лучної (*Trifolium pratense*) (рис. 1). Нафта пригнічує схожість насіння конюшини від 100 до 72% при зростанні забруднення ґрунту нафтою від 0 до 10%. У той же час при забрудненні ґрунту нафтою менше 5% відбувається стимуляція росту кореня, а при концентраціях вище 5% – пригнічення. Відносна висота пагона зі збільшенням концентрації нафти від 0 до 5% монотонно знижується, а на проміжку 5–10% нафти у ґрунті подальше зменшення висоти пагона не відбувається. Таким чином, нафта в цілому пригнічує ростові параметри конюшини лучної, але цей вплив є неоднозначним.

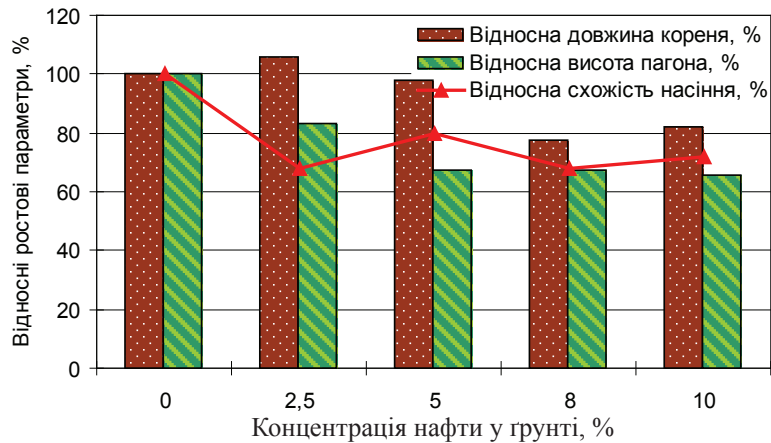


Рис. 1. Залежність ростових параметрів конюшини лучної (*Trifolium pratense*) від концентрації нафти у ґрунті.

Нами встановлено, що нафта стимулює початкові ростові параметри кропу городнього (*Anethum graveolens* L.) (рис. 2). Відносна схожість насіння *A. graveolens* при зростанні забруднення ґрунту нафтою від 0 до 15% підвищується таким чином:

- 0 – 2,5% (нафти у ґрунті) – незначно (близька до контролю);
- 2,5 – 10% (нафти у ґрунті) – зростає від 100 до 144%;
- 10 – 15% (нафти у ґрунті) – змінюється від 144 до 119%.

Нафта у концентрації 1–10% також позитивно впливає на ріст довжини кореня та висоти пагона *A. graveolens*: тест-показники перевищують контроль у 1,18–1,2 разу для кореня та у 1,15–1,4 разу для пагона (рис. 2). Проте вже при вищих концентраціях нафти, більше 15%, відбувається пригнічення довжини кореня щодо контролю на 27,83%, довжини пагона – на 37,43%.

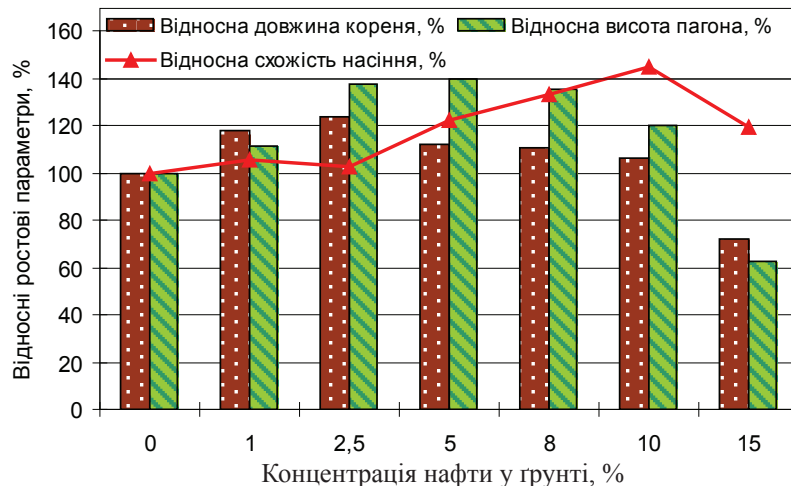


Рис. 2. Залежність ростових параметрів кропу городнього (*Anethum graveolens* L.) від концентрації нафти у ґрунті.

Виявлено, що достатньо чутливим до дії нафти є овес посівний (*Avena sativa* L.). При зростанні концентрації нафти у ґрунті від 0 до 10% відносна схожість насіння по-

ступово зменшується від 100 до 61%, відносна висота пагона від 100 до 58,34% (рис. 3). Як показали наші дослідження, більш чутливим ростовим показником вієса посівного до нафтового забруднення є довжина кореня. Так, при забрудненні ґрунту в кількості 2,5% відносна довжина кореня зменшується до 49,51%, в той час як відносна висота пагона – лише до 72,79%. При вмісті нафти від 5 до 10% подальшого зменшення довжини кореня та висоти пагона не спостерігається (рис. 3). Таким чином, при високих концентраціях нафти у ґрунті (більше 5%) реакція тест-показників *A. sativa* є маловираженою.

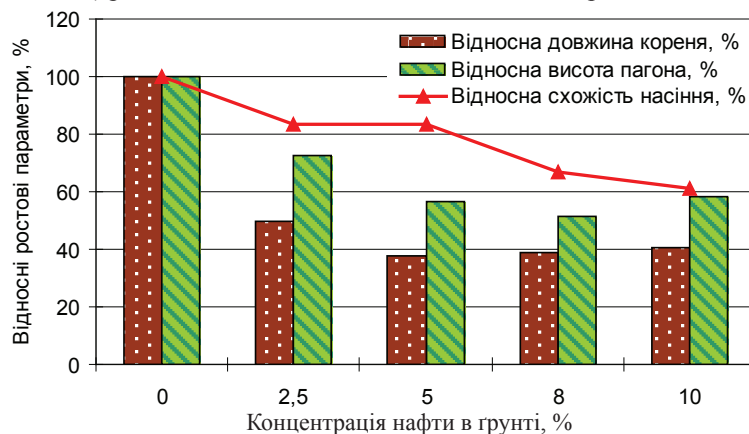


Рис. 3. Залежність ростових параметрів вієса посівного (*Avena sativa* L.) від концентрації нафти у ґрунті.

Встановлено, що чутливими до дії нафти є: льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.), соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.) та гречка посівна (*Fagopyrum vulgare* St.), які реагують на наявність низьких концентрацій нафти у ґрунті, навіть на рівні тимчасово-допустимої (ТДК=0,4%). Зі зростанням концентрації нафти у ґрунті схожість насіння та досліджувані ростові параметри цих рослин суттєво знижуються (див. таблицю, рис. 4, 5).

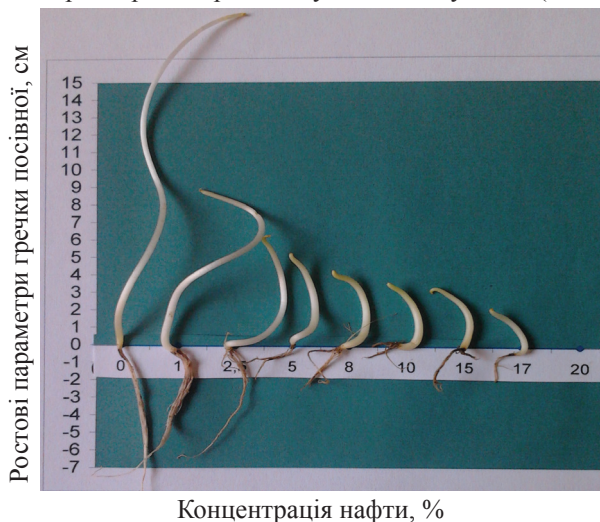


Рис. 4. Проростки гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) за дії різних концентрацій нафти у ґрунті.

Залежність ростових параметрів досліджуваних рослин від концентрації нафти у ґрунті (достовірність $\geq 0,95$ ($P < 0,05$), коефіцієнт Ст'юдента – 2,0)

Ростові параметри досліджуваних рослин		Концентрація нафти у ґрунті, %									
		0	0,4	1	2,5	5	8	10	15	17	20
Льон звичайний	Довжина кореня, мм	52,15	40,13	36,02	30,38	31,64	29,15	26,94	20,10	14,19	12,17
	ΔX	4,8	3,5	2,9	3,1	2	1,8	2	1,9	1,1	1,7
	S_x	2,4		1,4	1,5	1,0	0,9	1,0	0,9	0,6	0,8
	Висота пагона, мм	74,15	57,74	57,80	52,25	52,25	42,35	41,48	26,93	10,50	8,62
Соняшник однорічний	Довжина кореня, мм	89,21	83,00	49,25	63,91	52,25	50,21	41,32	36,76	18,21	13,17
	ΔX	11,7	12,4	10,6	12,4	7,9	8,0	11,5	6,9	4,4	5,1
	S_x	5,3	5,9	5,0	6,0	3,8	3,9	5,5	3,3	2,1	2,3
	Висота пагона, мм	45,13	44,65	30,29	27,92	22,86	20,42	16,57	14,87	9,07	6,38
Гречка посівна	Довжина кореня, мм	68,17	60,39	48,24	46,08	45,11	41,68	38,56	26,47	14,67	0
	ΔX	4,9	5,7	5,1	6,2	4,1	4,6	4,3	4,4	4,3	0
	S_x	2,4	2,8	2,5	3,1	2,0	2,3	2,2	2,1	2,0	0
	Висота пагона, мм	65,31	32,97	23,03	22,74	14,27	17,13	13,23	13,23	10,13	0
Гречка посівна	ΔX	6,7	5,8	3,7	2,7	1,9	2,3	1,7	2,0	1,1	0
	S_x	3,3	2,9	1,8	1,4	1,0	1,2	0,8	1,0	0,5	0

Примітки: ΔX – межі довірчого інтервалу; S_x – середня квадратична похибка середнього арифметичного; інструментальна похибка $\pm 0,5$ мм.

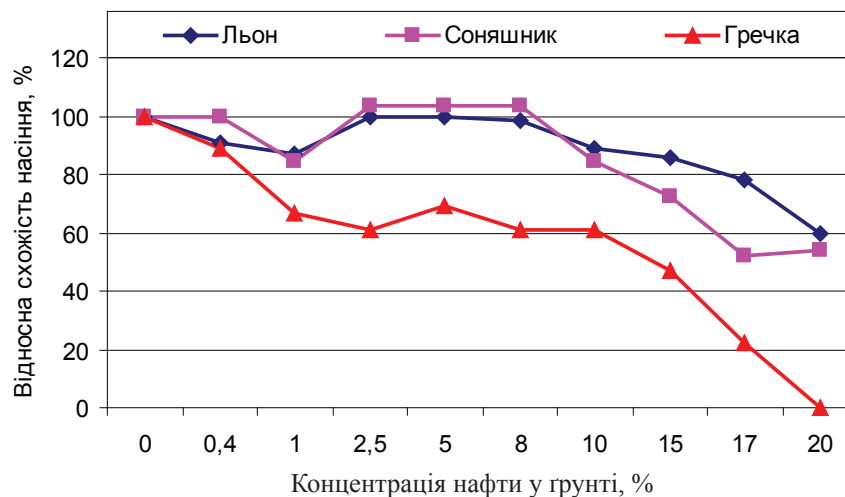


Рис. 5. Залежність схожості насіння льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) від концентрації нафти у ґрунті.

Встановлено, що гречка має більш високу чутливість до дії нафти, ніж соняшник і льон. Для неї виявлено різке зниження схожості насіння до 60% при концентрації нафти у ґрунті 8%, в той час як для льону та соняшника, при цій же концентрації, схожість насіння практично не змінюється. При вмісті нафти у ґрунті 17% схожість гречки падає до 22% (соняшника – до 51%, льону – до 78%), а при концентраціях більше 20% насіння гречки не проростає (рис. 5).

Результати дослідження свідчать також про більш виражену реакцію пагона гречки на вміст нафти у ґрунті. Так, при низькій концентрації нафти, на рівні ТДК (0,4%), відносна висота пагона гречки знижується до 50,48%, в той час як для льону – до 77,87%, а для соняшника залишається на рівні контролю (рис. 6). При зростанні концентрації нафти у ґрунті від 0 до 10% відносна висота пагона гречки знижується від 100 до 20,26%, для соняшника – до 36,72%, а для льону – до 55,94%. Подальше збільшення концентрації нафти у ґрунті веде до поступового зниження росту пагона досліджуваних рослин, і при концентрації 17% нафти у ґрунті їх відносні значення стають близькими: відносна висота пагона льону становить 14,16%, соняшника – 20,10%, гречки – 15,51% (рис. 6).

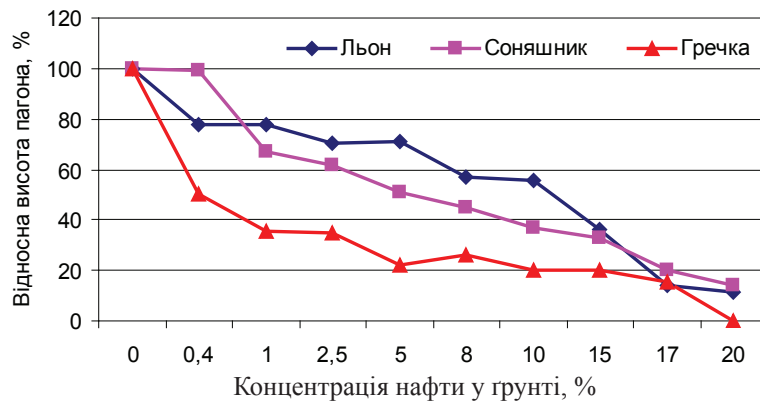


Рис. 6. Залежність висоти пагонів льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) від концентрації нафти у ґрунті.

Нами встановлено, що зростання забруднення ґрунту нафтою веде також до поступового зменшення довжини коренів *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*, і відповідні залежності для досліджуваних рослин є близькими (рис. 7).

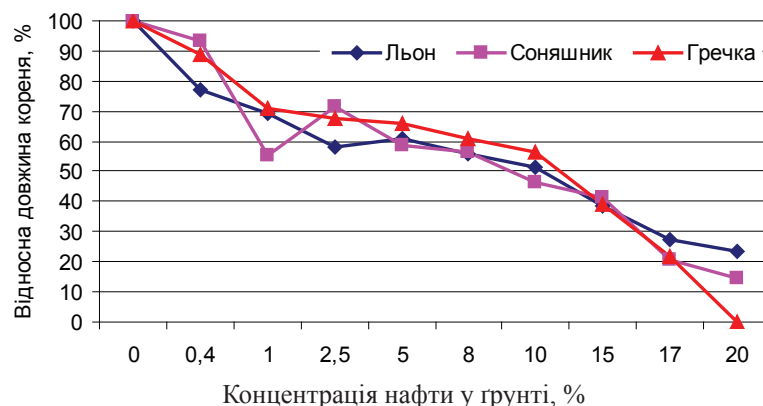


Рис. 7. Залежність довжини коренів льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) від концентрації нафти у ґрунті.

Таким же є характер залежностей відносної маси сирих і сухих рослин від концентрації нафти у ґрунті (рис. 8, 9). Зі збільшенням концентрації нафти маса сирих і сухих рослин *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare* зменшується. Для гречки ці залежності мають більш стрімкий характер, ніж для соняшника і льону, що перегукується з відповідними залежностями для відносної висоти пагона (рис. 6).

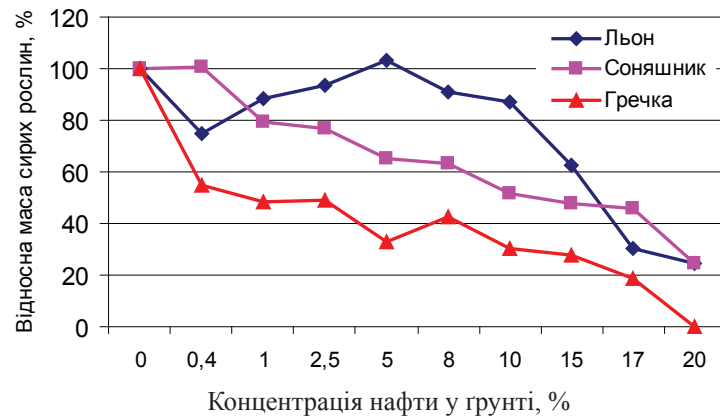


Рис. 8. Залежність сирої маси рослин льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) від концентрації нафти у ґрунті.

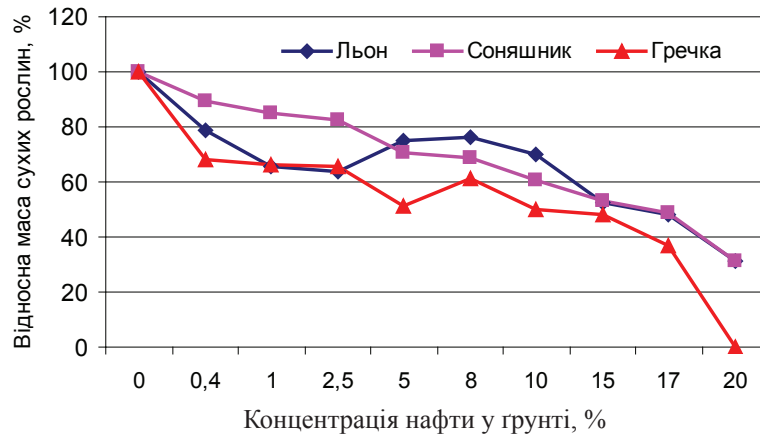


Рис. 9. Залежність сухої маси рослин льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) від концентрації нафти у ґрунті.

Отже, при вивченні закономірностей впливу нафти на початкові ростові параметри рослинних тест-об'єктів нами встановлено, що нафта, в більшості, пригнічує схожість насіння та ріст рослин, хоча є і такі, на які нафта при певних концентраціях має стимулюючу дію. Так, нами встановлено, що нафта у кількості 10–15% у ґрунті стимулює схожість насіння та ростові показники кропу городнього (*Anethum graveolens* L.), проте пригнічує схожість насіння та ростові параметри таких рослин: ріпаку озимого (*Brassica napus* L.), проса дикого (*Panicum miliaceum* L.), крес-салату (*Lepidium sativum* L.), огірка звичайного (*Cucumis sativus* L.), конюшини лучної (*Trifolium pratense*), льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.), гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.), вівса посівного (*Avena sativa* L.).

Досліджені рослини, початкові ростові параметри яких під впливом нафти пригнічуються, ми поділяємо на такі групи:

- рослини, які неоднозначно реагують на зміну концентрації нафти у ґрунті та характеризуються високою мінливістю даних усередині вибірки: ріпак озимий, просо дике, крес-салат, огірок звичайний, конюшина лучна, овес посівний;
- рослини, які мають добре виражену реакцію на зміну концентрації нафти у ґрунті, а також характеризуються однорідністю реакції всередині вибірки: льон звичайний, соняшник однорічний, гречка посівна.

Встановлені залежності між концентрацією нафти і початковими ростовими параметрами льону звичайного, соняшника однорічного, гречки посівної є близькими до лінійних і можуть бути використані для біотестування нафтозабруднених ґрунтів.

Уперше виявлена висока чутливість гречки посівної та льону звичайного до низьких концентрацій нафти, на рівні тимчасово-допустимої (0,4% нафти у ґрунті) пропонується до використання для біоіндикації нафтового забруднення ґрунтів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Алиев С. А., Гвозденко Д. В., Бабаев М. П., Гаджаев Д. А. Рекомендации по рекультивации нефтезагрязненных земель. Баку: Элм, 1981. 26 с.
2. Аниськина М. В. Мутагенный и токсический эффекты у растений *Tradescantia* (clon 02) и *Arabidopsis thaliana* (L.) Neunh., индуцированные нефтью и нефтепродуктами: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Сыктывкар, 2006. 20 с.
3. Горон М. З., Джюра Н. М., Романюк О. І. та ін. Фітотестування як експрес-метод оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 58. С. 185–192.
4. Давыдова И. Ю., Пахненко-Дурынина Е. П. Реакция сельскохозяйственных растений на загрязнение почвы нефтью. Моск. гос. ун-т им. М.В. Ломоносова / conf.stavsu. ru/_WordDocs/76.doc
5. Зайцев Г. Н. Методика биометрических расчетов: математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1973. 256 с.
6. Киреева Н. А., Мифтахова А. М., Кузяхметов Г. Г. Рост и развитие сорных растений в условиях техногенного загрязнения почвы // Вестн. Башкир. ун-та. 2001. № 1. С. 32–34.
7. Киреева Н. А., Мифтахова А. М., Салахова Г. М. Рост и развитие растений яровой пшеницы на нефтезагрязненных почвах и при биоремедиации // Агрехимия. 2006. № 1. С. 85–90.
8. Киреева Н. А., Тарасенко Е. М., Бакаева М. Д. Детоксикация нефтезагрязненных почв под посевами люцерны (*Medicago sativa* L.) // Агрехимия. 2004. № 10. С. 68–72.
9. Назаров А. В., Иларионов С. А., Азизова Э. А. Формирование растительности на экспериментальных загрязненных площадках // Вестн. Пермск. ун-та. 2000. № 2. С. 80–84.
10. Невзоров В. М. О вредном воздействии нефти на почву // Известия вузов. Лесной журнал. 1976. № 2. С. 164–165.
11. РМГ 29 – 99 Государственная система обеспечения измерений. Метрология. Основные термины и определения. М., 2008. 45 с.
12. Седых В. Н., Игнатъев Л. А. Влияние отходов бурения и нефти на физиологическое состояние растений // Сибирский эколог. журнал. 2002. № 1. С. 47–52.
13. Blankenship D. W., Larson R. A. Plant growth inhibition by the water extract of a crude oil // Water, Air and Soil Pollut. 1978. Vol. 10. N 4. P. 471–472.
14. Dominguez-Rosado E., Pichtel J., Coughlin M. Phytoremediation of soil contaminated with used motor oil: I. Enhanced Microbial Activities from Laboratory and Growth Chamber Studies // Environ. Engineering Sci. 2004. Vol. 21. N 2. P. 157–168.

15. Radwan S., Sorkhoh N., El-Nemr I. Oil biodegradation around roots // Nature. 1995. Vol. 376. N 27. P. 302.
16. Sharifi M., Sadeghi Y., Akbarpour M. Germination and growth of six plant species on contaminated soil with spent oil // Int. J. Environ. Sci. Tech. 2007. N 4 (4). P. 463–470.

Стаття: надійшла до редакції 28.02.14

доопрацьована 01.07.14

прийнята до друку 16.09.14

RESEARCHING REGULARITIES OF INFLUENCE OF OIL ON THE INITIAL GROWTH PARAMETERS OF TEST-OBJECTS PLANTS

L. Shevchik, O. Romaniuk

*Physical Chemistry of Combustible Minerals Department Institute of Physical Organic Chemistry and Carbon Chemistry named after L.M. Lytvynenko, NAS of Ukraine
3^a, Naukova St., Lviv 79053, Ukraine
e-mail: lesyashevchik@gmail.com*

Researching regularities of influence of oil on the initial growth parameters of test-objects plants was carried out. It was established the oil, in majority, suppresses viability and growth of plants, but detected those to which oil has a stimulating effect at certain concentrations. The most sensitive to oil pollution are *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*. Test-parameters of these plants monotonously decrease with increasing concentration of oil in the soil. The dependence between concentration of oil in the soil and initial growth parameters of plants are close to the linear. Established dependences can be used for biotesting and bioindication of oil-contaminated soils.

Keywords: oil-contaminated soils, toxicity, *Linum usitatissimum* L., *Helianthus annuus* L., *Fagopyrum vulgare* St.

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ВЛИЯНИЯ НЕФТИ НА НАЧАЛЬНЫЕ РОСТОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

Л. Шевчик, О. Романюк

*Отделение физико-химии горючих ископаемых Института физико-органической химии и углехимии имени Л. М. Литвиненко НАН Украины
ул. Научная, 3^a, Львов 79053, Украина
e-mail: lesyashevchik@gmail.com*

Исследованы некоторые закономерности влияния нефти на начальные ростовые параметры растительных тест-объектов. Показано, что нефть в большинстве случаев подавляет всхожесть и рост растений. Обнаружены и такие, на которые нефть при определенных концентрациях оказывает стимулирующее влияние. Показано, что наиболее чувствительными к нефтяному загрязнению являются *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*, тест-показатели которых монотонно снижаются с увеличением концентрации нефти в почве. Установленные зависимости между концентрацией нефти и начальными ростовыми параметрами близки к линейным и могут быть использованы для биотестирования и биоиндикации нефтяных загрязнений почв.

Ключевые слова: нефтезагрязненные почвы, токсичность, *Linum usitatissimum* L., *Helianthus annuus* L., *Fagopyrum vulgare* St.