

ФІТОСТРЕСОРНІСТЬ ПОРОДНИХ ВІДВАЛІВ КАМ'ЯНОВУГІЛЬНИХ ШАХТ ЗА ВПЛИВУ ДОДАВАННЯ КАМ'ЯНОВУГІЛЬНОГО ПОПЕЛУ

Я. Шпак*, В. Баранов, О. Терек

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: qazw1992@ukr.net

Досліджено здатність кам'яновугільного попелу з Добротвірської ТЕС зменшувати вплив едафічних стрес-факторів породних відвалів кам'яновугільних шахт на рослинні організми. Для біотестування використовували суданську траву *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii* (Nees ex Steud.) в умовах екологічних мікрокосмів. З'ясовано, що кам'яновугільний попіл достовірно підвищує рН, що призвело до зниження стресорності субстратів породних відвалів для рослин. Виявлено достовірні відмінності між морфометричними і біохімічними параметрами рослин, вирощених на субстратах породних відвалів із додаванням кам'яновугільного попелу, та параметрами контрольних рослин, вирощених на субстратах без додавання попелу. Встановлено позитивний вплив попелу на ріст пагонів і коренів у довжину, вміст хлорофілів *a*, *b* та їхнього співвідношення у листках на фоні контрастного зниження загального вмісту фенольних сполук і антоціанів, що свідчить про зменшення стресорності для рослин. Результати дослідження показали, що кам'яновугільний попіл із відвалів Добротвірської ТЕС можна використати для меліорації породних відвалів кам'яновугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району.

Ключові слова: фітостресорність, породні відвали кам'яновугільних шахт, кам'яновугільний попіл, суданська трава, екологічні мікрокосми.

Породні відвали кам'яновугільних шахт (ПВКВШ) негативно впливають на здоров'я людей і стан екосистем прилеглих територій, оскільки гази, пил, стічні води, що з них виділяються, містять високі концентрації токсичних хімічних сполук. Під час горіння ПВКВШ у повітря виділяються гази, які спричиняють отруєння біоти, утворення кислотних дощів, руйнування озонового шару та підсилення парникового ефекту [10]. Рекультивация антропогенно порушених територій з утворенням родючого ґрунту і рослинного покриву призводить до розкладання чи стабілізації токсичних сполук [20, 23]. Однак субстрати ПВКВШ несприятливі для росту більшості рослин, оскільки мають низькі значення рН, провальну водопроникність, несприятливі мікрокліматичні умови, низький вміст поживних речовин у поєднанні з високими концентраціями токсичних хімічних елементів [10, 17, 21]. На жаль, стандартна рекультивация, яка потребує на гірничотехнічному етапі нанесення суцільного шару привозного ґрунту [7], є високозатратним заходом. Оптимальним способом рекультивации ПВКВШ є нейтралізація кислотності за допомогою промислових відходів з лужною реакцією та штучне ґрунтоутворення шляхом внесення меліорантів, мінеральних, органічних і бактеріальних добрив, стимуляторів росту рослин із подальшою фіторекультивациєю за допомогою фітомеліорантів [18]. На території Червоноградського гірничопромислового району (ЧГПР), розташованого в Сокальському р-ні Львівській обл., накопичено близько 85 млн м³ породних відвалів вугільних шахт, 14 млн м³ крупних і 12 млн м³ дрібних фракцій хвостів збагачення [33]. Породні відвали ЧГПР несприятливі для росту більшості рослин, оскільки їхні субстрати за даними [1] мають значення рН від 3,3 до 4,5. Кам'яновугільний

попіл (КВП), який накопичується під час роботи повітроочисного обладнання ТЕС, також забруднює довкілля, оскільки містить високі концентрації токсичних металів [2, 14, 31]. На відміну від породи з відвалів ЧГПР, кам'яновугільний попіл з відвалів Добровірівської теплоелектростанції (ДТЕС) характеризується слаболужними значеннями рН через наявність сполук кальцію у його складі. Попіл з відвалів ДТЕС доцільно використовувати для підвищення рН породних відвалів ЧГПР завдяки невеликій відстані та хорошему транспортному (зокрема, залізничному) сполученню між цими промисловими об'єктами [2].

Саме тому метою нашого дослідження було біотестування здатності кам'яновугільного попелу з ДТЕС знижувати фітостресорність породних відвалів ЧГПР.

Матеріали та методи

Зразки чорної (неперегорілої) та червоної (перегорілої) породи відбирали з відвалів Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ), розташованої у Сокальському р-ні Львівської обл., а кам'яновугільний попіл – з відвалів ДТЕС, розташованої в смт Добровір Кам'янка-Бузького р-ну Львівської обл. Рівень рН попелу з ДТЕС і породи з відвалів ЧГПР вимірювали на приладі «Иономер универсальный ЭВ-74» (Білорусь, «Гомельський завод измерительных приборов») у 5-кратній повторюваності за температури води +18,5 °С, рН дистильованої води 5,5 і вмісті твердої речовини 100 г/л.

Для біотестування використовували суданську траву *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii*, оскільки рослини роду *Sorghum* застосовували для фітомеліорації відходів гірничої промисловості з низькими значеннями рН у Бразилії, ПАР [18], Індії [24, 31] та Італії [25] завдяки толерантності до посухи, низькому рН [16] і високим концентраціям токсичних металів [4, 25].

Для вирощування суданської трави використовували різновид екологічних мікрокосмів «Земноводна колона» [13]. Екологічні мікрокосми – це зменшені та спрощені копії, які використовують для моделювання і прогнозування змін у реальних екосистемах [13, 15, 30]. Модель «Земноводна колона» складається з водного (пляшки з відрізаною конусоподібною верхівкою), наземного (повернутої горлечком донизу конусоподібною верхівкою пляшки з продірявленою кришечкою і гнотиком) та повітряного модуля (пляшки з відрізаним дном), вирізаних із прозорих ПЕТ-пляшок об'ємом 5 л. Для уникнення освітлення коренів рослин прозорі стінки наземних модулів покривають чорною поліетиленовою плівкою. Нейлоновий гнотик діаметром 4 мм, який притискають до стінок і протягують крізь отвір кришечки від дна водного модуля до поверхні субстрату, стабільно забезпечує водою субстрат наземного модуля. Наземний модуль, залежно від мети дослідження, прикривають повітряним модулем, який може бути герметично закритий для визначення емісії газів чи, навпаки, мати додаткові бічні отвори для покращення вентиляції [30].

У наземні модулі земноводних колон, взятих у 4-кратній повторюваності, висаджували по 15 проростків суданської трави. Рослини вирощували за природного освітлення у період з 9 червня по 17 серпня 2015 р. Як еталон для порівняння використовували рослини, вирощені за впливу сприятливих едафічних факторів ґрунтосуміші з торфу (25 %), листяного перегною (50 %) та піску (25 %). Контролем слугували рослини, вирощені на субстратах з ПВКВШ без додавання попелу. Дослідом були рослини, вирощені на субстратах з ПВКВШ, які містили 5 % попелу від загальної маси субстрату. Дану концентрацію використовували для запобігання перевищенню ГДК [32] токсичних металів у субстратах при додаванні КВП [1, 2].

Вплив дослідних субстратів на енергію проростання насіння *S. bicolor* subsp. *drummondii* визначали через 4 доби, а вплив на схожість – через 10 діб, згідно з ГОСТом [8]. Для цього в чашки Петрі (у 4-кратній повторюваності) поміщали фільтрувальний папір,

насипали 5 г субстратів з діаметром частинок < 1,5 мм, поливали 15-ма мл дистильованої води і закладали по 25 насінин. Насіння пророщували у темному термостаті при температурі +25 °С. Морфометричні параметри (висота пагона і довжина коренів) вимірювали на 68-му добу росту. Біохімічні параметри визначали на 69-ту добу росту. Вміст хлорофілів у листках визначали у витяжках гомогенізованих 96 %-ним етанолом [6]. Загальний вміст фенольних сполук визначали в тих самих етанольних витяжках, що й хлорофіли, за допомогою реактиву Фоліна-Деніса [11]. Вміст антоціанів визначали у витяжці з листків, гомогенізованих розчином, який містив 96 %-ний етанол і концентровану хлоридну кислоту в співвідношенні 99:1 [9]. Вимірювання оптичних густин проводили на фотоколориметрі КФК-3 (Росія, «Загорський оптико-механический завод»). Математичну обробку даних здійснювали за допомогою програми MS Excell 2007. Для перевірки статистично достовірних відмінностей між варіантами експерименту розраховували *t*-критерій Стьюдента [12]. Для узагальнення та візуалізації впливу едафічних факторів субстратів ПВКВШ на параметри *S. bicolor* subsp. *drummondii* будували пелюсткові діаграми за допомогою програми MS Excell 2007. Для цього значення параметрів рослин, які росли на субстратах ПВКВШ, ділили на значення параметрів рослин, які росли на субстратах еталона, та множили на 100 %. Значення еталона, взяті за 100 %, програма зобразила на діаграмі у вигляді симетричного шестикутника, оскільки для візуалізації обрали шість параметрів. Після розрахунків і введення всіх даних програма побудувала ще дві фігури, які показують вплив субстратів з ПВКВШ без додавання та з додавання КВП у % щодо рослин, які росли на субстратах еталона. Зміна форми і розмірів фігури різних дослідних варіантів щодо симетричної фігури еталона дає змогу наочно візуалізувати й узагальнити результати досліджень (рис. 5, 6).

Результати і їхнє обговорення

З'ясовано, що додавання 5 % КВП за масою з рН 7,4±0,1 достовірно (при $P \leq 0,05$ та $n=5$) підвищує рН субстратів ПВКВШ. Зокрема, рН чорної породи підвищився з 3,3±0,1 до 4,3±0,1, а червоної – з 4,1±0,1 до 4,8±0,1. Дану закономірність ми пов'язуємо з наявністю в попелі з ДТЕС кальцію, катіони якого зв'язують аніони оксидів сульфуру. За даними [2], взятий нами КВП містив близько 4,5 % CaO. Не виявлено впливу контрольних і дослідних субстратів на енергію проростання та схожість насіння *S. bicolor* subsp. *drummondii* щодо еталона (рис. 1), що узгоджується з дослідженням, за яким сульфурвмісні субстрати з ПВКВШ Південноафриканської республіки із рН=3,8 не вплинули на енергію проростання (4-та доба) та схожість (10-та доба) насіння іншого підвиду *Sorghum bicolor* L. – *S. bicolor* subsp. *bicolor* Moench [27].

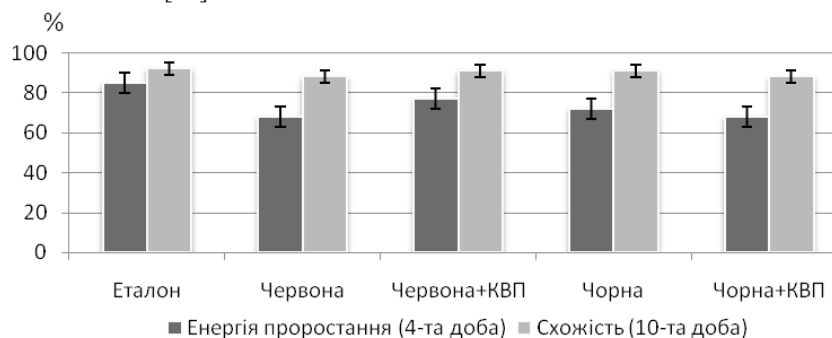


Рис. 1. Енергія проростання та схожість насіння *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii* за впливу додавання кам'яновугільного попелу (КВП) до породи з відвалів ЧГПР ($n=75$)

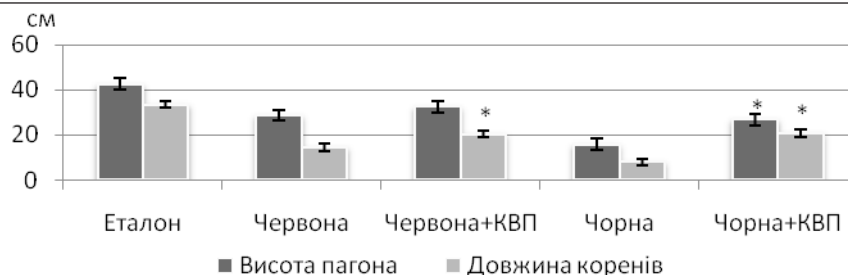


Рис. 2. Висота пагона та довжина коренів *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii* за впливу додавання КВП до породи з відвалів ЧГПР (n=20). Примітки: (*); (**); (***) тут і далі – достовірна відмінність значень параметрів рослин, що зросли на породи з додаванням КВП, від значень рослин, що зросли на породи без додавання КВП, при p (*): $\leq 0,05$; (**): $\leq 0,01$; (***) : $\leq 0,001$



Рис. 3. Рослини суданської трави *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii* за росту на субстратах еталона (зліва), червоної породи (посередині) та червоної породи з додаванням КВП (справа)

Відмічено зменшення розмірів суданської трави за росту на обох різновидах порід з ЧГПР щодо еталона. Додавання КВП до червоної породи не вплинуло на значення висоти пагона рослин, однак виявлено достовірний стимулюючий вплив КВП на довжину коренів (рис. 2, 3). Водночас додавання КВП до чорної породи достовірно збільшило значення обох вимірних морфометричних параметрів щодо контрольних рослин (рис. 2, 4).

Дослідники [5] спостерігали позитивний вплив попелу з ДТЕС на морфометричні параметри іншого виду роду *Sorghum* – *S. halepense* L. за росту на субстратах породних відвалів ЧГПР. У дослідженнях, проведених в Індії, відмічено позитивний вплив КВП на ріст *S. bicolor* subsp. *drummondii* [31] та *S. bicolor* subsp. *bicolor* (Moench) [24] при дода-

ванні КВП до відходів залізорудних шахт із низькими значеннями рН. З'ясовано, що за росту суданської трави на субстратах ПВКВШ знижується вміст хлорофілу *a* в листках, а це призводить до зменшення співвідношення хлорофілів *a/b* щодо еталона. Додавання КВП до субстратів ПВКВШ призвело до підвищення вмісту хлорофілу *a* та співвідношення хлорофілів *a/b*, яке є ознакою зменшення стресу для рослин (див. таблицю) [3, 19]. Виявлено зниження загального вмісту фенольних сполук у листках дослідних рослин щодо контролю, що також є ознакою зменшення фітостресорності [19, 26]. При цьому вміст антоціанів, які також належать до фенольних сполук, у клітинах рослин підвищується за дії стрес-факторів [19, 22, 28]. Додавання КВП до кислих субстратів призвело до підвищення їхнього рН і зниження вмісту антоціанів (див. таблицю), що теж є наслідком зменшення стресу.

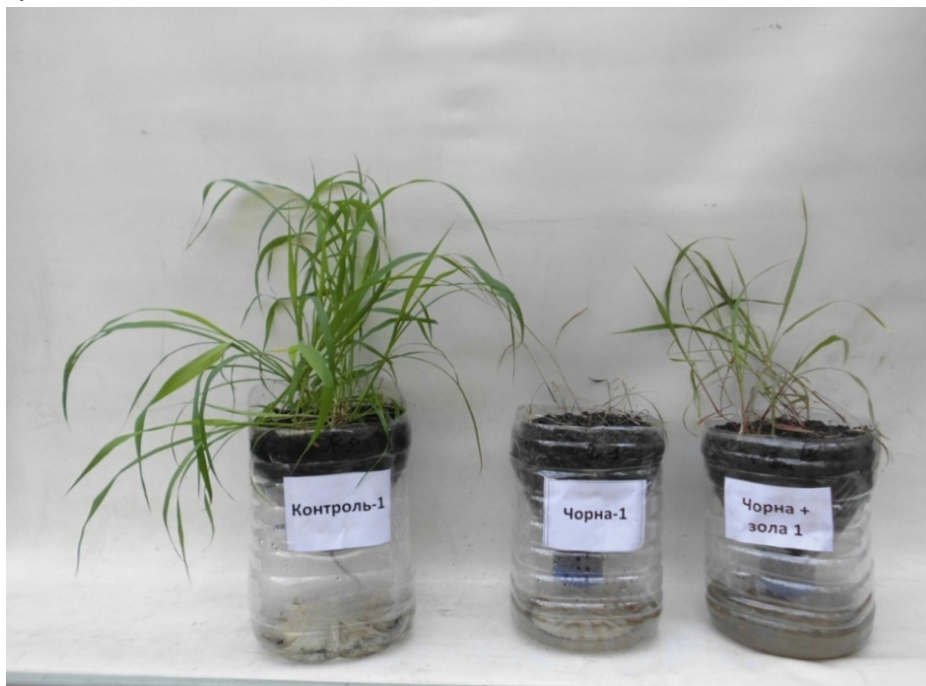


Рис. 4. Рослини суданської трави *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii* за росту на субстратах еталона (зліва), чорної породи (посередині) та чорної породи з додаванням КВП (справа)

Біохімічні параметри у сирій масі листків *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii* за впливу додавання попелу з ДТЕС до породи з відвалів ЧГПР (n=4)

Варіант експерименту	Хлорофіл <i>a</i> , мкг/г	Хлорофіл <i>b</i> , мкг/г	Хлорофіли <i>a/b</i>	Феноли, мг/г	Антоціани, мг/г
Еталон	965±8	379±16	2,55±0,09	151±6	2,23±0,09
Червона	617±18	518±8	1,19±0,04	280±14	3,70±0,1
Червона + КВП	729±16**	465±32	1,57±0,14*	216±27*	3,00±0,13*
Чорна	451±14	552±13	0,82±0,01	354±9	4,23±0,10
Чорна + КВП	693±10***	420±24**	1,65±0,10**	307±6*	3,53±0,11*

Загалом додавання кам'яновугільного попелу з ДТЕС до субстратів із породних відвалів кам'яновугільних шахт ЧГПР знизило їхню фітостресорність, що відображено на пелюсткових діаграмах (рис. 5, 6).



Рис. 5. Морфометричні та біохімічні параметри *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii* за впливу додавання КВП до червоної породи з відвалів ЧГПР щодо еталона

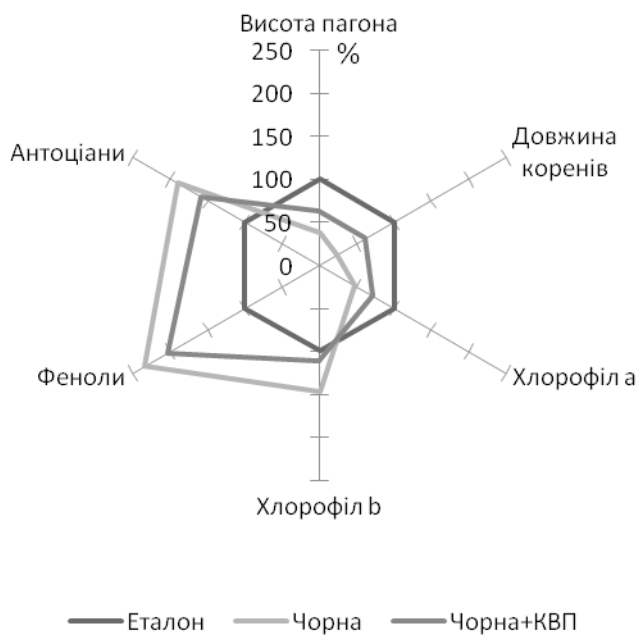


Рис. 6. Морфометричні та біохімічні параметри *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii* за впливу додавання КВП до чорної породи з відвалів ЧГПР щодо еталона

Отже, додавання кам'яновугільного попелу з відвалів Добротвірської ТЕС може виявитись екологічно й економічно доцільним заходом, що дасть змогу зробити породні

відвали кам'яновугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району придатними для подальшої фіторекультивациї.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Баранов В. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ «Львівсистеменерго» як суб'єкта озеленення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 172–178.
2. Баранов В., Баня А., Боднар Л. та ін. Токсикологічний аналіз води дренажних каналів і золи золовідвалів Добротвірської ТЕС // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2014. Вип. 65. С. 238–244.
3. Бессонова В. П. Вплив важких металів на пігментну систему листка // Укр. ботан. журнал. 1992. Т. 49. № 2. С. 63–66.
4. Бешлей З., Бешлей С., Баранов В., Терек О. Поглинання важких металів *Sorghum halepense* із субстратів породного відвалу // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. біол. 2014. № 2(32). С. 97–100.
5. Бешлей З., Бешлей С., Баранов В., Терек О. Порівняльний морфометричний аналіз рослин сорго алепського за умов росту на субстратах породного відвалу з додаванням нетрадиційних добрив // Modern Phytomorphology. 2015. С. 347–348.
6. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание: учеб. пособ. М.: Высшая школа, 1975. 392 с.
7. Глухов А. З., Хархота А. И., Прохорова С. И., Агурова И. В. Теоретические предпосылки популяционного мониторинга фиторекультивации техногенных земель // Экология та ноосферология. 2010. Т. 21. № 34. С. 50–56.
8. ГОСТ 12038-84. Методы определения всхожести и энергии прорастания // Семена сельскохозяйственных культур. Т. 1. 1984. М.: Изд-во стандартов. 57 с.
9. Егорова А. В., Куркин В. А., Каримова А. М. Изучение возможностей комплексного использования плодов черной смородины (*Ribes nigrum* L.) // Известия Самар. науч. центра РАН. 2012. Т. 14. № 1(9). С. 2215–2217.
10. Жуков С. П. Растения, устойчивые к повышению кислотности почв, в фитоценозах отвалов Донбасса // Проблемы экологии та охорони природи техногенного регіону. 2011. № 1 (11). С. 230–234.
11. Запромёттов М. Н. Определение суммы фенольных соединений с использованием реактива Фолина-Дениса. Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 191.
12. Лакин Г. Ф. Биометрия: учеб. пособ. для биол. спец. вузов. 4-е изд. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
13. Руденко С. С., Костишин С. С., Ситнікова І. О. Штучні екосистеми в екології. Чернівці: Рута, 2006. 200 с.
14. Belyaeva O. N., Haynes R. J. Chemical, microbial and physical properties of manufactured soils produced by co-composting municipal green waste with coal fly ash // Bioresour. Technol. 2009. N 100 (21). P. 5203–5209.
15. Beyers R. J., Odum H. T. Ecological Microcosms. New York: Springer-Verlag, 1993. 557 p.
16. Duncan R., Dobson J., Fisher C. Leaf elemental concentrations and grain yield of sorghum grown on an acid soil // Commun. Soil Sci. Plant Anal. 1980. Vol. 11. N 7. P. 699–707.
17. Escarry J., Raboyeau S., Dossantos A., Collin C. Heavy Metal Concentration Survey in Soils and Plants of the Les Malines Mining District (Southern France): Implications for Soil // Restoration. Water Air Soil Pollution. 2011. N 216. P. 485–504.

18. *Firpo B., Filho J., Schneider I.* A brief procedure to fabricate soils from coal mine wastes based on mineral processing, agricultural, and environmental concepts // *Minerals Engineering*. 2015. Vol. 76. P. 81–86.
19. *Gatao P., Polle A., Lea P., Azevedo R.* Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier // *Funct. Plant Biol.* 2005. Vol. 32. P. 481–484.
20. *Khan A., Kuek C., Chaudhry T.* et al. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation // *Chemosphere*. 2000. Vol. 21. P. 197–207.
21. *Kumar B. M.* Mining waste contaminated lands: an uphill battle for improving crop productivity // *Journal of Degraded and Mining Lands Management*. 2013. Vol. 1. N 1. P. 43–50.
22. *Kumchai J., Huang J., Lee C.* et al. The Induction of Antioxidant Enzyme Activities in Cabbage Seedlings by Heavy Metal Stress // *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*. 2013. Vol. 7. N 1. P. 41–46.
23. *Lorestani B., Yousefi N., Cheraghi M., Farmany A.* Phytoextraction and phytostabilization potential of plants grown in the vicinity of heavy metal-contaminated soils: a case study at an industrial town site // *Environ. Monit Assess.* 2013. N 185 (12). P. 10217–10223.
24. *Malti D., Malti S.* Eco-restoration Of Waste Dump By The Establishment Of Grass-Legume Cover // *IJSTR*. 2014. Vol 3. N 3. P. 37–41.
25. *Marchiol L., Fellet G., Perosa D., Zerbi G.* Removal of trace metals by *Sorghum bicolor* and *Helianthus annuus* in a site polluted by industrial wastes: A field experience // *Plant Physiol. Biochem.* 2007. Vol. 45. N 5. P. 379–387.
26. *Michalak A.* Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress // *Polish J. Environ. Stud.* 2006. Vol. 15. N 4. P. 523–530.
27. *Muller I.* Seed viability and re-growth of grasses used for mine waste rehabilitation. Dissertation for the degree Magister Scientiae in Environmental Sciences. Potchefstroom Campus of the North-West University. 2014. 143 p.
28. *Posmyk M., Kontek R., Janas K.* Antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2009. Vol. 72. N 2. P. 596–602.
29. *Pozo-Antonio S., Puente-Luna I., Laguela-Lopez S., Veiga-Rios.* Techniques to correct and prevent acid mine drainage: A review. *Dyna rev.fac.nac.minas.* 2014. Vol. 8. N 184. P. 73–80.
30. *Shpak Y., Rudenko S.* Modeling of chromium effect on ecophysiological parameters of soil-plant system // *Studia Biologica*. 2015. Vol. 11. N 2. P. 115–124.
31. *Srivastava A., Chhakar P.* Amelioration of coal mine spoils through fly ash application as liming material // *J. Sci. Ind. Res.* 2000. Vol. 59. P. 309–313.
32. Державні санітарні правила та норми // Державна санітарно-епідеміологічна служба України. 1999. [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=4010>.
33. Цивілізаційні виклики відходам // Державний департамент екології та природних ресурсів Львівської ОДА. 2009. [Електронний ресурс] Режим доступу: http://www.ekologia.lviv.ua/index.php?option=com_content&task=view&id=889.

Стаття: надійшла до редакції 24.06.16

доопрацьована 06.12.16

прийнята до друку 08.12.16

**STRESSOGENICITY OF COAL MINE ROCK DUMPS FOR PLANTS
UNDER THE EFFECT OF THE ADDITION OF COAL FLY ASH**

Y. Shpak, V. Baranov, O. Terek

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: qazw1992@ukr.net*

The study tested ability of coal fly ash from Dobrotvir TPP to reduce the effect of edaphic stress factors of waste rock dumps from Chervonograd coal mining region (Ukraine). Sudan grass *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii* (Nees ex Steud.) in conditions of ecological microcosms used for biotesting. Founded that coal fly ash significantly increases pH of substrates from waste rock dumps that reduce of their stressogenicity for plants. Established significant differences between parameters of plants which grew on substrates with fly ash' addition comparing to plants that grew on substrates of waste rock dumps without the addition of coal fly ash. The fly ash' addition positively effected on the growth of shoots and roots in length, content of chlorophylls *a*, *b* and their ratio in leaves. In contrast, observed decreasing of total phenolic compounds and anthocyanins content. The stimulation of growth, increasing of chlorophylls content with contrast decreasing of phenolic compounds content indicate reducing of plant' stress. Results of the study show that coal ash from Dobrotvir TPP may to become a potential conditioner for the reclamation of acidic waste rock dumps in Chervonograd coal mining region.

Keywords: stressogenicity for plants, waste rock dumps, coal fly ash, Sudan grass, ecological microcosms.