

В. А. Камская

**ОЦЕНКА ФИТОТОКСИЧНОСТИ ТЕХНОГЕННЫХ ОТХОДОВ ДО
И ПОСЛЕ ИХ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ**

Научный руководитель: канд. биол. наук, доцент А. М. Андриевский
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, г. Одесса, 65082, Украина,
e-mail: masslenisa38@gmail.com

Kamska V. O. Phytotoxicity assessment of technogenic waste before and after their bacterial leaching. By using of wheat seeds (cultivar *Bezostaya 1*) held phytotoxic evaluation technogenic waste of the central processing plant Lvov-Volyn coal basin before and after bacterial leaching.

Keywords: technogenic waste, leaching, assessment of phytotoxicity, wheat.

Введение

В настоящее время, в виду характерного для урбанизированных территорий высокого уровня техногенной нагрузки металлосодержащих отходов угольной промышленности актуальной является проблема токсического влияния их на живые организмы.

Как правило, оценку токсичности изучаемых техногенных отходов, проводят на растительных и животных тест-объектах. В данной работе в качестве тест-объекта были использованы семена пшеницы сорта *Безостая 1*. Относительная дешевизна использования растительных тест-объектов делает их очень удобными для мониторинга загрязнений окружающей среды [1]. В силу того, что растения являются важнейшей составной частью биосферы, от которой зависит благополучие как биосферы в целом, так и человека как её части, растительные тест-объекты рекомендуется использовать в качестве первого этапа в системе определения возможной токсической опасности техногенных отходов угольной промышленности [2].

Методом определения токсического влияния оцениваемых техногенных отходов центральной обогатительной фабрики Львовско-Волынского угольного бассейна до и после бактериального выщелачивания было выбрано фитотестирование. Данный метод, являющийся модификацией «Биотеста на проращивание семян» [3], позволяет изучить фитотоксическую активность техногенных отходов с различным химическим составом [4].

В связи с этим целью данной работы было определение влияния на используемый тест-объект техногенных отходов центральной

обогащительной фабрики Львовско-Волинского угольного бассейна до и после их бактериального выщелачивания.

Материалы и методы исследования

Материалом исследования были образцы отвалов центральной обогащительной фабрики Львовско-Волинского угольного бассейна до и после их бактериального выщелачивания. В качестве контроля была использована дистиллированная вода.

Согласно [5], минералогический состав породы отвала представлен следующими компонентами: аргиллит – 97 %, алевролит – 17-28 %, песчаник – 2-20 %, уголь – 1-17 %, пирит – 1 %, влага – 6-7 %. Химический состав породы (средний по 4 видам) следующий: SiO_2 – 56,2 %; Fe_2SO_4 – 10,18 %; Al_2O_3 – 23,7 %; CaO – 0,99 %; MgO – 0,73 %; K_2O – 2,44 %; Na_2O – 0,5 %; SO_3 – 7,55 %; TiO_2 – 1,09 %, Содержание (табл. 1 – 3) микро- и ультрамикроэлементов в исследуемых пробах отвалов до и после их бактериального выщелачивания определяли методом атомно-адсорбционной фотометрии [5].

В данной работе было исследовано влияние необработанных и обработанных микробиологическим методом проб отвалов на развитие зёрен озимой пшеницы. Для микробиологической обработки проб отвалов использовали выщелачивающие растворы, созданные на основе минерального стандартного фона бактериальной питательной среды 9К:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 3,0 г

MgSO_4 – 0,5 г

K_2HPO_4 – 0,5 г

KCl – 0,1 г

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – 0,01 г

В выщелачивающие растворы были добавлены различные источники энергии, в частности к раствору 2 – Fe_2SO_4 ; к раствору 3 – тиосульфат; к раствору 4 – тиомочевина; к раствору 5 – сера. К раствору 6 была добавлена водопроводная вода. Параллельно с вышеуказанными пробами, обозначенными как варианты – А, с таким же составом, были исследованы варианты проб Б, которые, отличались от вариантов А добавлением дрожжевого экстракта в бактериальную питательную среду в процессе выщелачивания.

Проращивание семян осуществляли в чашках Петри на фильтровальной бумаге, на которую наносили 3 г пробы отвала, помещали 30 семян пшеницы и добавляли 15 мл дистиллированной воды. Все подготовленные чашки помещали в термостат при +26 °С.

Таблица 1

Содержание микроэлементов в породе отвала (г / т)

Содержание элемента	Cu	Zn	Mn	Pb	Mo	Ni	Ba	Cr	Ti
Минимальное	12,59	0	86,78	7,638	0	16,53	106,80	31,19	2717,00
Среднее	89,04	35,70	2353,60	35,66	1,64	37,56	369,30	235,36	1234,20
Максимальное	244,16	62,10	4484,40	273,24	3,97	79,48	583,50	2159,00	4595,20

Таблица 2

Содержание редкоземельных элементов в породе отвала (г / т)

Содержание элемента	Be	Bi	Yb	Y	Sc	Ga	V	Sn
Минимальное	0,543	0	2,278	2,278	3,728	7,797	76,380	0
Среднее	2,645	9,435	4,650	44,110	15,020	25,430	151,880	4,480
Максимальное	4,566	24,300	10,870	108,700	53,980	48,880	387,950	36,930

Таблица 3

Экстракция металлов из проб отвалов в процессе бактериального выщелачивания

Выщелачивающие растворы	Степень извлечения металлов, %							
	Mn	Zn	Pb	Ni	Cu	Cd	Ge	Ga
Раствор 1	99,9	55,6	15,6	59,9	24,0	99,9	99,9	99,9
Раствор 2	99,9	92,7	21,8	99,9	36,6	99,9	99,9	99,9
Раствор 3	99,9	27,0	7,8	99,9	12,0	99,9	55,0	90,5
Раствор 4	99,9	66,0	15,6	99,9	30,1	99,9	99,9	90,5
Раствор 5	99,9	93,9	11,0	99,9	24,0	99,9	99,9	70,6
Раствор 6	99,9	93,1	22,1	99,9	32,8	99,9	99,9	98,2

По истечении 7-ми суток экспозиции путём проведения подсчёта определяли всхожесть семян; при помощи линейки измеряли длину побега, корня проростков в контрольных и опытных вариантах, причём у каждого семени измеряли корень максимальной длины [6].

Определение фитотоксического эффекта проб отвалов до и после их бактериального выщелачивания проводили путём сопоставления показателей тест-параметров контрольных и опытных семян: всхожести, длины побега, длины корня [7].

Критерием вредного воздействия считали ингибирование роста корней семян. При этом фитотоксическое действие считается доказанным,

если фитозэффект составляет 20 % и более. Опасным для развития растений считали фитотоксическую активность при которой угнетение тест-параметров составляло ≥ 50 % [8].

Величину показателя средней длины корней проростков L_{cp} контрольных и опытных семян вычисляли как среднее арифметическое из совокупности данных длины корней проростков, полученных в ходе эксперимента:

$$L_{cp} = \sum L_i / n ,$$

где L_i – длина максимального корня каждого семени, мм; \sum – сумма; n – общее количество семян, взятых в опыт.

При $L_{cp(O)} \geq L_{cp(K)}$ – отсутствие неблагоприятного действия пробы отхода.

Величину эффекта торможения определяли по формуле:

$$ET = \frac{L_k - L_o}{L_k} 100\% ,$$

где ET – эффект торможения, %; L_o – средняя длина корней в опыте, мм; L_k – средняя длина корней в контроле, мм.

Результаты и обсуждение

В таблице 4 представлено влияние проб отвалов центральной обогатительной фабрики Львовско-Волынского угольного бассейна до и после их бактериального выщелачивания.

Полученные результаты по всхожести в опытных вариантах сравнивали с результатами, полученными в контроле. Исходя из полученных данных, можно сказать, что наибольшее стимулирующее влияние оказывает тестируемая проба А3 (обработанная в присутствии тиосульфата). При этом всхожесть составила 80 %, что на 30 % превышает всхожесть семян выращенных на контроле, тогда как наибольшее ингибирующее действие наблюдалось у необработанного отвала. В целом, было установлено, что на процессы всхожести семян пшеницы три пробы из 14 по сравнению с контролем – оказывают ингибирующее влияние: С – необработанная проба отвала; Б5 – обработанная проба в присутствии серы и дрожжевого экстракта; Б6 – обработанная проба в присутствии водопроводной воды и дрожжевого экстракта.

По истечению 7-ми дней экспозиции были измерены длина побега и длина самого длинного корня, а также рассчитано отношение длины корня к длине побега. В процентном отношении длины корня к длине побега контроль был принят за 100 % . Результаты этих исследований приведены в таблице 5.

Таблица 4

**Влияние проб отвалов центральной обогатительной фабрики
Львовско-Волынского угольного бассейна до и после их
бактериального выщелачивания на всхожесть семян пшеницы**

Варианты образцов	Всхожесть семян, (<i>шт</i>)	Всхожесть семян, % ($M \pm m$)
Б6	16	53 \pm 9,11
Б5	10	33 \pm 8,58
Б4	7	23 \pm 7,68
Б3	17	57 \pm 9,04
Б2	14	47 \pm 9,11
Б1	8	27 \pm 8,11
А6	13	43 \pm 9,04
А5	19	63 \pm 8,81
А4	14	47 \pm 9,11
А3	24	80 \pm 7,30
А2	12	40 \pm 8,94
А1	12	40 \pm 8,94
С	6	20 \pm 7,30
К	15	50 \pm 9,13

Как видно из таблицы 5, соотношение длины корня к длине побега проростков семян пшеницы в контрольном варианте оказалось равным 0,8, что близко к единице. Это указывает на пропорциональное развитие корневой системы и надземных органов в ходе развития семян. В изученных вариантах наблюдалось значительное изменение данного соотношения от 1,08 до 0,19. Из полученных данных следует, что в наибольшей степени проба С (необработанная проба отвал) на 77 % по сравнению с контролем угнетает пропорциональное развитие корневой и надземной частей растений. В данном варианте опыта наблюдался активный рост побегов. В варианте опыта с пробой А3 (обработанный проботвал в присутствии тиосульфата) соотношение развития корневой системы и надземных органов равно 1,02, что говорит о положительном влиянии обработанного проб отвала на равномерное развитие тест-объекта. Так как по истечению 7-ми суток в отличие от необработанных проб отвала практически во всех обработанных пробах отвала наблюдается стимулирующий эффект, то вполне вероятно, что зафиксированное отставания на ранних этапах развития не существенны, поскольку по истечению времени они были нивелированы.

Таблица 5

**Влияние проб отвалов центральной обогатительной фабрики
Львовско-Волынского каменноугольного бассейна до и после их
бактериального выщелачивания на развитие вегетативных органов
пшеницы**

Варианты образцов	Длина корня, см	Длина побега, см	Длина корня / длина побега, см	Длина корня / длина побега, %
К	1,48	1,84	0,80	100
А1	1,84	2,70	0,68	85
Б1	2,90	3,10	0,94	116
А2	2,41	3,43	0,70	87
Б2	2,55	3,21	0,79	99
А3	6,34	6,20	1,02	127
Б3	3,47	3,73	0,93	116
А4	2,57	2,79	0,92	115
Б4	3,47	3,23	1,07	134
А5	2,13	2,22	0,96	119
Б5	1,33	3,16	0,42	52
А6	2,45	2,81	0,87	108
Б6	1,11	2,36	0,47	58
С	0,67	3,57	0,19	23

При сопоставлении влияния различных проб отвала на развитие корней и побегов видно, что в большей степени угнетается развитие корней, чем развитие побегов. Поэтому, фитозэффект был определён путём сравнения показателей тест-функции ($L_{ср}$ – средняя длина корней проростков) контрольных и опытных семян (табл. 6).

Таблица 6

Влияние проб отвалов на процесс проращивания семян пшеницы

Вариант опыта	Средняя длина корня ($L_{ср}$), мм	Средняя длина корней ($L_{ср}$), % к контр.	Фитозэффект, %	Тест-реакция
1	2	3	4	5
Контроль	1,48	100	0	норма
А1	2,41	163	+63	стимуляция
Б1	2,90	196	+96	стимуляция
А2	2,41	163	+63	стимуляция

продолжение табл. 6

Б2	2,55	172	+72	стимуляция
А3	6,34	428	+328	стимуляция
Б3	3,47	234	+134	стимуляция
А4	2,57	174	+74	стимуляция
Б4	3,47	234	+134	стимуляция
А5	2,13	144	+44	стимуляция
Б5	1,33	90	-10	норма
А6	2,45	166	+66	стимуляция
Б6	1,11	75	-25	угнетение
С	0,67	45	-55	угнетение

По результатам фитотестирования, представлями в таблице 6 уровень опасности и безвредности отходов по фитотоксическому действию подразделяется на: стимулирование, норму и ингибирование. Наибольший стимулирующий эффект оказывает проба А3 (обработанный отвал в присутствии тиосульфата), наибольший угнетающий – проба С (необработанный отвал).

Выводы

1. Анализ морфометрических параметров проростков семян пшеницы показал, что наибольшей длины побег и корень проростка при пропорциональном развитии корневой системы и надземных органов в ходе онтогенеза достигают при проращивании на образце А3 (обработанный отвал в присутствии тиосульфата).

2. Анализ морфометрических параметров проростков семян пшеницы показал, что необработанный отвал на 77 % оказывает угнетающее действие на пропорциональное развитие корневой системы и надземных органов в ходе развития семян.

3. По результатам фитотестирования тест-реакции: «Норма» наблюдается только в присутствии пробы Б5 (отвал подвергшийся бактериальному выщелачиванию на питательной среде 9К в присутствии серы и дрожжевого экстракта); «Эффект торможения» – в присутствии проб Б6 (отвал подвергшийся бактериальному выщелачиванию на питательной среде 9К в присутствии водопроводной воды и дрожжевого экстракта) и С (необработанный отвал); «Эффект стимуляции» – во всех остальных вариантах опыта.

4. Наибольший стимулирующий эффект по всем трем тест-функциям наблюдается при проращивании семян пшеницы на отвале, подвергнутому

бактериальному выщелачиванию на питательной среде 9К в присутствии тиосульфата (вариант опыта А3).

Литература

1. *Мирзоян А. В.* Создание и апробация генетико-биохимической тест-системы для мониторинга мутагенности окружающей среды с использованием листьев древесных растений: Дис. ... канд. биол. наук. – Ростов н/Д., 2001. – 125 с.
2. *Schairer L. A., Van't Hof J., Hayes C. G., Barton R.M., de Serres F. J.* Exploratory monitoring of air pollutants for mutagenic activity with the *Tradescantia stamen hair* system // *Environ. Health. Persp.*, 1978. Vol. 27. – P. 51 – 60.
3. *Методические рекомендации.* Гигиеническое обоснование ПДК химических веществ в почве. Москва, 1982. – 23 с.
4. *Методические рекомендации.* Почва. Очистка населенных мест. Бытовые и промышленные отходы. Санитарная охрана почвы. Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности МР 2.1.7.2297 – 07.
5. *Баранов В. І.* Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ "Львівсистеменерго", як об'єкта для озеленення // *Вісник Львівського університету. Сер. біол.* – 2008. – Вип. 46. – 76 с.
6. *Гродзинский А. М.* Экспериментальная аллелопатия. – Киев: Наукова думка, 1986. – 157 с.
7. *Методические рекомендации.* Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности МР 2.1.7.2297 – 07.
8. *Пиртахия Н. В.* Биоиндикация химического загрязнения в системе гигиенического мониторинга почвы // *Мат. пленума научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и МЗ Российской Федерации.* 17 – 19 декабря 2003. – 34 с.