



УКРАЇНА

(19) UA (11) 5104 (13) U

(51) 7 A01G7/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ТЕСТУВАННЯ ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТІВ НІКЕЛЕМ

1

(21) 20040705384

(22) 05.07.2004

(24) 15.02.2005

(46) 15.02.2005, Бюл. № 2, 2005 р.

(72) Глухов Олександр Захарович, Хижняк Ніна
Антонівна, Сафонов Андрій Іванович

(73) ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб тестування забруднення ґрунтів нікелем, який включає аналіз атипового поліморфізму листкових пластинок рослини-індикатора та одержання висновків за даними обліку й статистичної обробки про наявність структурно-

2

трансформуючого ефекту, а також застосування тест-системи за розробленою 10-бальною індикаторною шкалою, який відрізняється тим, що використовують додаткові, спеціально розроблені індикаторні шкали за показниками структурних елементів епідермісу та внутрішніх конформаційних тканин листкових пластинок, а саме показники ступеня ускладненості будови трихом ретортоподібного типу та індекси деформованості навколочувкової паренхіми, та за цими індексами визначають ступінь та специфіку забруднення ґрунтів нікелем.

Корисна модель відноситься до фітоіндикації, промислової ботаніки, фітотоксикології, охорони генофонду рослин природної флори та може бути використана для тестування токсичних ефектів високих рівнів нікелю на основі ідентифікування індукованого ним атипового поліморфізму структурних елементів епідермісу та конформаційних тканин листкової пластинки рослин, а також для визначення оптимальних концентрацій токсичного металу - нікелю та прогнозування наслідків токсикогенних трансформацій будови рослин природної флори.

За літературними свідченнями, у поверхневих горизонтах ґрунтів Ni присутній здебільшого в органічно зв'язаних формах, частина яких - легкорозчинні хелати. Вміст нікелю в ґрунтах часто залежить від материнської гірської породи [1, 2]. На сучасному етапі нікель вважається суперекотоксикантом, який надходить до оточуючого середовища з викидами металопереробних підприємств та внаслідок збільшення темпів спалювання вугілля та нафти [3, 4]. Використання осаду стічних вод та деяких фосфатних добрив також може бути важливим джерелом надходження нікелю у ґрунти [1]. Антропогенні джерела нікелю, зокрема, промислова діяльність, призводять до суттєвого збільшення його накопичення у ґрунтах. В природних умовах токсична дія Ni виявляється в районах розвитку серпентинитових або інших збагачених цим елементом ґрунтів [2]. За цією літературними даними [1-4] з'ясовано, що уривчасті свідчення про реакції

рослин на техногенне забруднення середовища не дозволяють у повному обсязі виявити дискретний вплив токсичного компоненту на певні структурно-функціональні зміни видів рослин з широкою екологічною амплітудою.

Відомі способи біоіндикації нікелю за допомогою визначення особливостей епікутикулярного воску листкових пластинок рослин, що зростають у контрастних геохімічних умовах [5], детально досліджено структуру асиміляційного апарату рослин в умовах техногенного навантаження [6], зроблені спроби з'ясування механізмів продигових рухів рослин, що пов'язується з особливостями виду та специфікою впливів екологічних факторів [7]. Також визначено, що структура і функції епідермісу листка залежать від умов зростання рослини [8]. Морфо-анатомічні особливості рослин, що зростають на збагачених важкими металами ґрунтах, було досліджено Н.С. Петруніною [9]. До того ж, фітоіндикаційне визначення з метою тестування екологічних факторів рекомендовано проводити за умов побудови індикаційних шкал, що продемонстровано у симфітоіндикаційному аспекті [10, 11]. Розроблені чисельні вимоги добору рослин в якості індикаторів [12]. Для аналізу забруднення ґрунтів важкими металами найбільш вдалими тест-об'єктами є рослини [12].

Найбільш близьким за технічною сутністю і досягненням результату є спосіб визначення забруднення ґрунтів важкими металами [13], де для визначення віддалених та безпосередніх наслідків

(19) UA (11) 5104 (13) U

впливу факторів середовища, зокрема важких металів, використовують в якості тест-системи індекс атиповості за розробленою 10-бальною індикаторною шкалою для структурних елементів дрібних жилок листових пластинок, а саме показники гетерогенності трахеальних елементів (ГТЕ) та деформованості термінальної флоєми (ДФ), та за цими індексами визначають ступінь та специфіку забруднення ґрунтів важкими металами

Недоліками цього способу є мала достовірність при визначенні забруднення ґрунтів певними токсичним елементом, адже визначається насамперед загальний сумарний ефект токсичних важких металів, а не специфічні реакції рослинного організму на певний чинник

В основу корисної моделі поставлена задача тестування забруднення ґрунтів саме нікелем та поліпшення методів оцінки факторів стресу навколишнього середовища за допомогою рослин природної флори на прикладі *Cichorium intybus* L., де об'єкти підлягають не впроваджені раніше показники змін будови листової пластинки, а рослинні збори проводять як з об'єктів, які сформовані у штучних умовах, так і з рослин природних місцезростають з посиленням нікелевим забрудненням ґрунтів, та за рахунок цього використання способу дозволить більш точно встановлювати ступінь забруднення нікелем в природних умовах, прогнозувати структурні трансформації рослин техногенних екотопів, оцінити специфіку нікелевого забруднення на антропогенно змінених територіях

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб тестування забруднення ґрунтів нікелем, який містить аналіз атипового поліморфізму листових пластинок рослини-індикатора та свідчення за даними об'єкту й статистичної обробки про наявність структурно трансформуючого ефекту, а також застосування тест-системи за розробленою 10-бальною індикаторною шкалою, згідно корисної моделі використовують додаткові, спеціально розроблені індикаторні шкали за показниками структурних елементів епідермісу та внутрішніх конформаційних тканин листових пластинок, а саме показники ступеня ускладненості будови трихом ретортоподібного типу (РТ) та індекси деформованості навколопучкової паренхіми (ДНП), та за цими індексами визначають ступінь та специфіку забруднення ґрунтів нікелем

Спосіб оснований на тому, що використовують додаткові, спеціально розроблені індикаторні шкали за показниками структурних елементів епідермісу та внутрішніх конформаційних тканин листових пластинок, а саме показники ступеня ускладненості будови трихом ретортоподібного типу (РТ) та індекси деформованості навколопучкової паренхіми (ДНП), та за цими індексами визначають ступінь та специфіку забруднення ґрунтів нікелем

Термінологічний апарат з'ясовано за літературними джерелами [8, 14, 15]

Приклад Вказаний спосіб визначення забруднення ґрунтів нікелем було проведено на рослині *Cichorium intybus* L., що вирощували на території промислових майданчиків Артемівського та Костянтинівського районів Донецької області у наступних пробних площах СЕРЕБ - сільський населе-

ний пункт Серебрянка, долина р Сіверський Донець (контроль), ЛУГ - населений пункт міського типу Луганське, ділянка степового типу рослинності (контроль), НОВ - сільський населений пункт Новогригорівка, ділянка степового типу рослинності (контроль), ЧАС - Часоварський вогнетривкий комбінат, ПТ - Артемівський машинобудівний завод "Победа труда", РК - рудеральний комплекс Артемівського центрального звалища сміття, ОКМ - Артемівський завод з обробки кольорових металів, АВТ - автовокзал м Артемівськ, АСЗ - Артемівський скляний завод, ПВД - рудник виробничого об'єднання "Південний", КСЗ - Костянтинівський механізований скляний завод, УКЦ - Костянтинівський завод "Укрцирк", КАВТ - автовокзал м Костянтинівка Обрані рослини з контрольних місць зростання додатково вирощували в лабораторних умовах на інтратних металонасних субстратах з концентраціями Pb-500, Zn-500, Cd-10, Ni-300, Cr-300, Mo-10, Fe-200, Mn-4000, Cu-300, Hg-5mg/kg Вміст металів у субстраті обумовлений гранично допустимими концентраціями [1, 16, 17] з поправкою на місцеві стандарти та фонові рівні [18] Повторність лабораторного експерименту дорівнювала 5

Для встановлення індикаторних індексів обиралися листові пластинки серединної формації в період квіткування особин (червень-липень) Для аналізу використовували 30 листових пластинок Препарати готували за загальноприйнятими цитологічними методиками [19, 20]

Увесь спектр атипового поліморфізму обраних ознак поділяли на 10 типових перехідних станів

РТ - спеціалізованість (ступінь ускладненості будови) трихом ретортоподібного типу Оскільки "трихома - це спеціалізована у функціональному відношенні епідермальна клітина, або клітини, а також виникаюча внаслідок поділу цих клітин структура" [15], то ті трихоми ретортоподібного типу, які зустрічалися нами при структурному аналізі будови листових пластинок *Cichorium intybus*, ми фракціонували за ступенем розвинення (диференціації, або спеціалізованості) Наявність трихом мінімальних значень зовсім не свідчить про те, що вони потім спеціалізуються, адже листові пластинки під час збору матеріалу були вже сформовані, до того ж більшість трихом, що зустрічаються для листової пластинки, являють собою мертві клітини Увесь діапазон варіації трихом цього типу був розподілений нами на 10 блоків, які якісно різнилися у напрямку спеціалізованості тип 1 (індекс 1) - найпростіший, для типів 2-4 відбувається ускладнення за збільшенням розмірів та формування верхівково звуженої частини, тип 5 - трихома являє собою 2-клітинний волосок, 6-3-клітинний, 7 - багатоклітинний волосок (за позадвожними перегородками), для типів 8-10 - характерне ускладнення структури завдяки появі поперечних перегородок та потовщення зовнішніх та внутрішніх оболонок трихоми (Фіг 1) На Фіг 1-10 зображено варіанти ускладненості будови трихом ретортоподібного типу (РТ) листових пластинок, де 1-10 - варіанти відповідно до індексів Ретортоподібні трихоми зустрічаються на периферії листової пластинки Індексуювання проводили таким чином пробні площі, де були проведені рослинні збори, надава-

ли відповідний за Фіг.1-10 індекс, максимальне значення спеціалізованості трихом якого зустрічалося під час структурного аналізу. Максимальні значення РТ для *Cichorium intybus* були зафіксовані нами у пробних площах, які територіально співпадають з місцями посиленого динамічного забруднення ґрунтів нікелем.

ДНП - індекс деформованості навколопучкової паренхіми, для встановлення якого ми використовували наступні ознаки: кількість та різноманітність клітин центрального ряду між двома пучками та гетерогенність клітин обкладки надпучкової зони (Фіг.11-20). Фіг.11-20 являють собою схематичне зображення ступенів деформованості навколопучкової паренхіми листової пластинки *Cichorium intybus* L. для встановлення відповідних індексів ДНП, де Н - елементи навколопучкової паренхіми листової пластинки, КС - ксилемні та ФЛ - флоє-

мні елементи. За ускладненням дослідної ознаки запропонували десять перехідних типів, з яких два перших можуть вважатися умовною нормою, а 3-10 - атиповими, тобто не характерними для рослин контрольних місцезростань (Фіг.2). Найбільші значення ДНП були зафіксовані нами для пробних площ, що в значній мірі співпадають з пробними площами, де зареєстровано максимальні значення спеціалізованості трихом ретортоподібного типу. До того ж ці місця характеризуються посиленням динамічним забрудненням ґрунтів нікелем.

Дослідження 1998-2002 рр. довели, що ці ознаки мають суто фенотипічний характер прояву та не спадкуються.

В таблиці 1 представлено індекси атипового структурного поліморфізму *Cichorium intybus* L. для показників РТ та ДНП за результатами натурального експерименту.

Таблиця 1

Ознаки	Пробні площі											
	СЕРЕБ	ЛУГ	НОВ	ЧАС	ПТ	РК	ОКМ	АВТ	АСЗ	ПВД	КСЗ	УКЦ
	Індекси											
РТ	1	1	1	8	10	9	9	1	1	1	7	9
ДНП	1	1	1	9	10	8	9	1	1	1	7	8

З таблиці 1 видно, що мінімальні індекси атипової будови відповідають контрольним зонам дослідження. Ступінь трансформованості структурних елементів покривних та внутрішніх тканин листової пластинки залежить від територіального

розташування особин та місця збору рослинного матеріалу.

В таблиці 2 представлені дані лабораторного експерименту - безпосереднього впливу важких металів на будову тест-рослини.

Таблиця 2

Ознаки	Метали									
	Pb	Zn	Cd	Ni	Cr	Mo	Fe	Mn	Cu	Hg
РТ	2	1	1	10	1	1	1	1	1	2
ДНП	1	2	1	10	1	1	1	1	3	2

З таблиці 2 видно, що поява деформованості специфічна в залежності від чинника - важкого металу. Здебільшого РТ та ДНП залежать від концентрації Ni у середовищі живлення.

Позитивний ефект проявляється в тому, що на відміну від відомого запропонований спосіб дозволяє диференційовано тестувати забруднення ґрунтів нікелем. Він може використовуватися у натурному (природному) біомоніторингу для експресдіагностики металопресингу, що дуже актуально для територій з посиленням антропогенним впливом техногенне трансформованих екотопів.

Використання способу дозволить більш точно виділяти зони саме нікелевого забруднення, проводити оцінку та постійний моніторинг стану доквілля природних та техногенне змінених територій цим токсичним елементом.

Джерела інформації:

1. Кабата-Пендіас А., Пендіас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. - М.: Мир, 1989. - 439 с.
2. Ковалевский А.Л. Биогеохимия растений. - Новосибирск: Наука, 1991. - 294с.
3. Aunter J.G., Vergnono O. Nickel toxicity in plants // Ann. App. Biol. - 1972. - №39. - P.279-284.
4. Effect of heavy metal pollution on plants / Ed.

by Lepp N.W. - I. Effect of Trace Metals on Plants Function. - London and New Jersey: Applied science publishers, 1981. - 352 p.

5. Кравкина И.М. Эпикуткулярный воск и кутикула листа растений Полярного Урала, произрастающих в контрастных геохимических условиях // Бот. журн. - 2000. - 85, №7. - С. 118-124.

6. Гетко Н.В. Растения в техногенной среде. Структура и функции ассимиляционного аппарата. - Минск: Наука и техника, 1989. - 205 с.

7. Журавлева Н.А. Механизм устьичных движений, продуктивный процесс и эволюция. - Новосибирск: Наука, 1992. - 141 с.

8. Мирославов Е.А. Структура и функция эпидермиса листа покрытосемянных растений. - Л.: Наука, 1974. - 184 с.

9. Петрунина Н.С. Морфолого-анатомические особенности растений, произрастающих на почвах, обогащенных тяжелыми металлами // Теоретические вопросы фитоиндикации. - Л.: Наука, 1971. - С. 142-148.

10. Дідух Я.П. Методологічні підходи до проблеми фитоіндикації екологічних факторів // Укр. бот. журн. - 1990. - 47, №6. - С. 5-12.

11. Дідух Я.П., Плюта П.Г. Фітоіндикація еколо-

гічних факторів. К.: Наук. думка, 1994.-280с.

12. Цаценко Л.В., Филипчук О.Д. Биоиндикация и "генетический скрининг" загрязнения компонентов агроценоза // Сельскохозяйственная биология. - 1997.-№5.-С. 33-47. визначення

13. Пат. 65772 А UA, МКИ 7 А01G7/00. Спосіб визначення забруднення ґрунтів важкими металами: Деклараційний патент на винахід. - 0.3. Глухов, Н.А. Хижняк, А.І. Сафонов. - № 2003054433; Заявл. 19.05.2003; Опубл. 15.04.2004. -Бюл. №4. - 4 с (прототип).

14. Анели Д.Н., Анели Н.А. Способ получения микроструктурных отпечатков эпидермы различных органов растений // Сообщ. АН СССР. - 1986. - 122, №3.-С. 589-592.

15. Джунипер Б.Э., Джефри К.Э. Морфология поверхности растений. - М.: Агропромиздат, 1986. - 160 с.

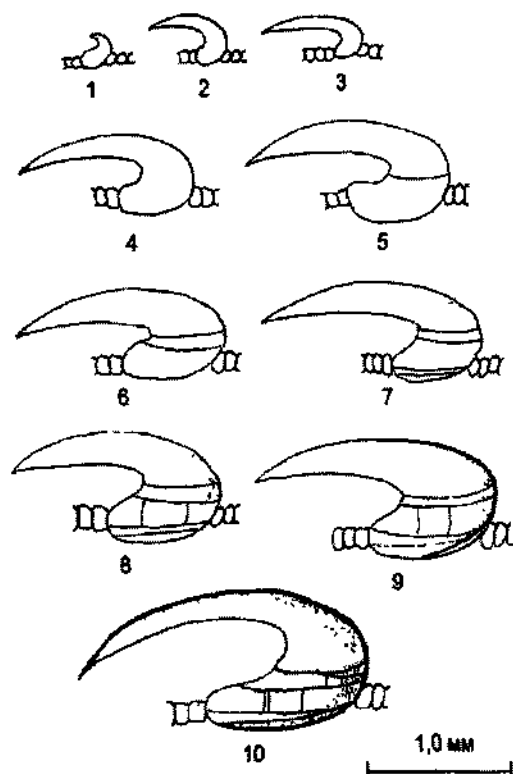


Fig.1-10

16. Дудик А.М. Временные методические рекомендации по геолого-экологическим работам в пределах горнопромышленных районов Украины. - Донецк: Б. и., 1992. - 105 с.

17. Дорошко Т.Ю. Предельно допустимые концентрации тяжелых металлов в почве и её защита от загрязнения // Медицинский журнал Узбекистана. -1991.-№7.-С. 40-42.

18. Сафонов А.И. Специфика локализации некоторых металлов в почвах северных промышленных узлов Донецкой области // Проблемы экологии. - 2003. - №1. - С. 36-47.

19. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. - М.: Агропромиздат, 1988.-271 с.

20. Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г. Основы микроскопических исследований в ботанике. - М.: Наука, 2000. - 128 с.

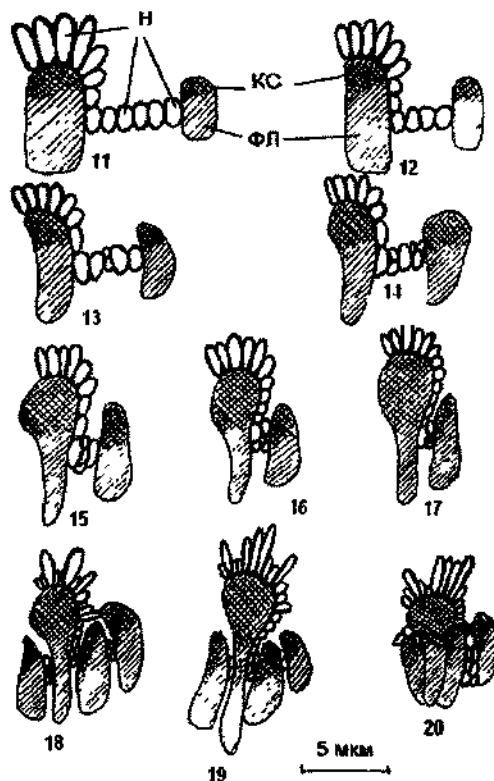


Fig.11-20