

БИОЛОГИЯ

МРНТИ 34.31.27, 34.05.17

К.Р.Утеулин^{1,2}

¹Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы, Казахстан

²Научно-исследовательский центр «Ғарыш-Экология», г. Алматы, Казахстан

МЕТОД ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ ЛЕТУЧЕГО ТОКСИЧНОГО СОЕДИНЕНИЯ НА РАСТЕНИЯ

Аннотация. Разработан метод оценки влияния летучего токсичного соединения (на примере бензина А-76) на всхожесть семян и рост сеянцев в замкнутых, прозрачных, пластиковых емкостях. Объектами исследований служили семена и проростки полыни развесистой (*Artemisia diffusa*) и ряда видов злаков (*Gramineae*): пастбищный рейгас (*Lolium perenne*), овсяница красная (*Festuca rubra maxima*), мятлик луговой (*Poa pratensis*), мягкая пшеница (*Triticum aestivum*), сорт Саратовская-29. Смоделировано поступление летучего токсичного соединения в семена и растения из почвы и воздуха. Данный метод найдет применение в изучении влияния на растения широкого ряда летучих соединений первого, второго, третьего и четвертого класса опасности.

Ключевые слова: Замкнутые емкости, летучие соединения, семена, сеянцы.

...

Түйіндеме. Жабық, мөлдір, пластикалық ыдыстарда тұқымдардың өнуі мен кешеттердің есуіне ұшатын улы қосындылардың (мысалы, А-76 бензині) әсерін бағалау әдісі жасалды. Зерттеу нысандары ретінде, бұталы жусан (*Artemisia diffusa*) және дөңді дақылдардың бірқатар түрлері (*Gramineae*), жайылым рейгасы (*Loliumperenne*), қызыл бетегелі (*Festucarubramaxima*), шалғынды кегілдір (*Poapratensis*), жұмсақ бидай (*Triticum aestivum*) – Саратов-29 сорты, тұқымдары мен кешеттері пайдаланылды. Тұқымдар мен есімдіктерге ұшатын улы қоспалардың топырақ пен ауадан өнуі модельденді. Бұл әдіс қауіптіліктің бірінші, екінші, үшінші және төртінші кластарындағы кең келемді ұшатын қоспалардың есімдіктерге әсерін зерттеуде қолданылады.

Түйінді сөздер: Жабық ыдыстар, топырақ, ауа тасымалы, ұшатын қоспалар, тұқымдар, кешеттер.

• • •

Abstract. A method has been developed for assessing the effect of a volatile toxic compound (on the example of A-76 gasoline) on seed germination and seedling growth in closed, transparent, plastic containers. The objects of research were seeds and seedlings of *Artemisia diffusa* and a number of types of species *Gramineae*: *Lolium perenne*, *Festuca rubra maxima*, *Poa pratensis*, *Triticum aestiv*, variety Saratov-29. The penetration of the volatile toxic compound into seeds and plants from soil and air is simulated. This method will find application in studying the effect on plants of a wide range of volatile compounds of the first, second, third and fourth hazard classes.

Keywords: Closed containers, volatile compounds, seeds, seedlings.

Введение. Летучие токсичные соединения (ЛТС) - это химические вещества, которые могут находиться в воздухе в газообразном состоянии. В связи с этим для оценки действия ЛТС на растения в лабораторных условиях был использован метод замкнутых емкостей, подобный методам исследования газоустойчивости растений. Известно, что для изучения газоустойчивости в лабораторных условиях используются «газовые» камеры (замкнутые емкости). В емкость помещают растение или его части, вводят газы (например, двуокись серы, фтористый и хлористый водород), затем контролируют изменения реакций растений. В качестве диагностических признаков используют: изменение всхожести и энергии прорастания семян, скорости роста и формирования отдельных элементов, изменение сроков и длительности прохождения фаз развития и органогенеза и другие. В случае действия сублетальных и летальных концентраций газов устойчивость растений может определяться по степени некрозообразования при повреждаемости листьев или по изменению водного режима [1-4].

Как известно, по степени воздействия на организм человека вредные вещества подразделяются на четыре класса опасности: 1-й — чрезвычайно опасные; 2-й — высокоопасные; 3-й — умеренно опасные; 4-й — малоопасные [5]. Так, например, если ракетное топливо гептил относится к 1-му опасности (чрезвычайно опасное органическое соединение) [6], то бензин, топливо для автомобилей к 4-му классу опасности (малоопасное органическое соединение) [5].

Для отработки метода оценки влияния ЛТС на растения в замкнутых емкостях был использован бензин А-76: органическое, малоопасное летучее соединение [5]. Бензин - представляет собой смесь углеводородов состоящих в основном из предельных 25-61 %, непре-

дельных 13-45%, нафтеновых 9-71 %, ароматических 4-16 % углеводородов с длиной молекулы углеводорода от C 5 до C 10 и числом углеродных атомов от 4-5 до 9-10 со средней молекулярной массой около 100 Д. Так же в состав бензина могут входить примеси: серо-, азот- и кислород содержащих соединений. Бензины имеют высокую летучесть [7].

Цель работы. Изучить влияние летучего, токсичного соединения (бензина А-76) на прорастание семян, рост сеянцев в замкнутой емкости. Моделировать почвенный и воздушный перенос летучего токсичного соединения в растения в замкнутой емкости.

Объекты исследований. Полынь развесистая (*Artemisia diffusa*). Травосмесь злаков (*Gramíneae*) Johnsons Lawn seed, в состав которой входят: пастбищный рейгас (*Lolium perenne*) (30 %), овсяница красная (*Festuca rubra maxima*) (55%), мятлик луговой (*Poa pratensis*) (15 %). Окультуренный злак: мягкая пшеница (*Triticum aestivum*), сорт Саратовская-29.

Методы исследования. В работе использован готовый грунт универсальный, для всех видов овощных, зеленых, цветочных культур и рассады, экологически чистый продукт «Сам себе агроном». Производство Россия, АгроСнабРитейл.

Грунт универсальный сушили при комнатной температуре в течение 2-х недель, песок тщательно промыли и высушили. Готовили смесь грунта и песка при весовом отношении 2\3 грунта и 1\3 песка. Песок добавляли для лучшей аэрации почвы. Затем готовили образцы почвы с влажностью - 40 %. Использовался прибор влагомер DELMHORST. Instrument Co. Прозрачные, пластиковые бутылки (коммерческие, бытовые, использованные для питьевой воды) на 5,0 л разрезали по горизонтали по центру, помещали в емкости по 0,5 кг приготовленные образцы почвы. Проводили сев семян, емкости склевали скотчем и плотно закрывали пробкой. Таким образом, готовились замкнутые емкости для исследований.

В качестве загрязняющего вещества использован бензин (АИ-76). Проращивание семян проводилось при температуре + 23°C. Использованы известные методы прорастания семян [8]. Каждый вариант каждой серии проводился в трехкратной повторности с последующей статистической обработкой [9].

Результаты и обсуждение. Метод оценки влияния на всхожесть семян и рост сеянцев летучего токсичного соединения, включенного в образцы почвы.

Исследована всхожесть семян окультуренного злака (*Triticum aestivum*), сорта Саратовская-29, смеси злаков: пастбищный рейгас (*Lolium perenne*), (30 %), овсяница красная (*Festuca rubra maxima*), (55%), мятлик луговой (*Poa pratensis*), (15%), а также дикорастущей полыни развесистой (*Artemisia diffusa*) на образцах почвы с внесенным бензином А-76. Исследования проводились в замкнутых прозрачных ёмкостях в течение 30 сут. Использованы три концентрации бензина, внесенного в образцы почвы: 0,14; 0,28; 0,71; 1,42 %. Данные о всхожести семян и высоте сеянцев на 14-е сутки наблюдений представлены в таблице 1.

Бензин в концентрации 0,14 % ингибировал на 50 % всхожесть семян пшеницы на 4-е сутки, но позже на 14-е и 30-е сутки всхожесть опытных семян уже была равна всхожести контрольных семян. Средняя высота сеянцев на 14-е и 30-е сутки была ниже высоты контрольных сеянцев. То есть, часть семян пшеницы устойчива к бензину и всхожесть семян, а также рост сеянцев не отличается от контроля. Другая часть семян (примерно 50 %) чувствительна к бензину, бензин «тормозит» во времени их прорастание, поэтому сеянцы отстают в росте от контроля на 14-е и 30-е сут., поскольку проросли позже. Вероятно, имеет место внутрисортная изменчивость пшеницы Саратовская -29 по устойчивости к абиотическому стрессу – ЛТС, бензину А-76. Подобные результаты получены на образцах почвы с содержанием бензина 0,21 и 0,28 % . На этих образцах почвы семена пшеницы не прорастали на 4-е сутки, однако на 14-е сутки всхожесть семян составила 65 % и 41 %. На 30-е сутки всхожесть семян не увеличивалась, была такой же как и 14-е сутки наблюдений. На образцах почвы с содержанием бензина 0,21 и 0,28 % высота сеянцев ниже контрольных сеянцев, поскольку семена проросли позже.

Исследовано влияние бензина на всхожесть и рост сеянцев дикорастущей полыни развесистой (*Artemisia diffusa*) и смеси злаков Johnsons Lawn seed. Использованы замкнутые емкости на 5л. На 14-е сутки бензин в относительно низких концентрациях (0,07 и 0,14%) стимулирует и в концентрациях 0,21 и 0,28 % уже ингибирует всхожесть семян полыни и смеси злаков. На образцах почвы с содержанием бензина, обеспечивающего увеличение всхожести семян, количество сеянцев выше контрольных и при этом сеянцы мельче контрольных. То есть, большая часть семян полыни и злаков прорастают позже контрольных, бензин обеспечивает про-

растание той части семян дикорастущих видов растений, которые в отсутствие бензина не прорастают.

**Таблица 1 – Рост и развитие сеянцев мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*), сорт Саратовская-29, травосмеси злаков, полыни развесистой (*Artemisia diffusa*) в замкнутых емкостях в (5 л).
14-е сутки наблюдений**

Содержание бензина в почве, %	Мягкая пшеница (<i>Triticum aestivum</i>), сорт Саратовская-29		Травосмесь злаков, Johnsons Lawn seed		Полынь развесистая, (<i>Artemisia diffusa</i>)	
	Всхожесть, %	Высота сеянца, см	Всхожесть, %	Высота сеянцев, см	Всхожесть, %	Высота сеянцев, см
Контроль	100	16-25	100	5-11	100	1,5-2,0
0,07	100	16-25	135	3-11	155	1,1-2,5
0,14	100	15-23	123	3-11	158	1,0-2,4
0,21	65	14-22	78	3-9	72	0,7-2,1
0,28	41	14-20	48	3-7	47	0,5-1,8
0,57	0		0		0	

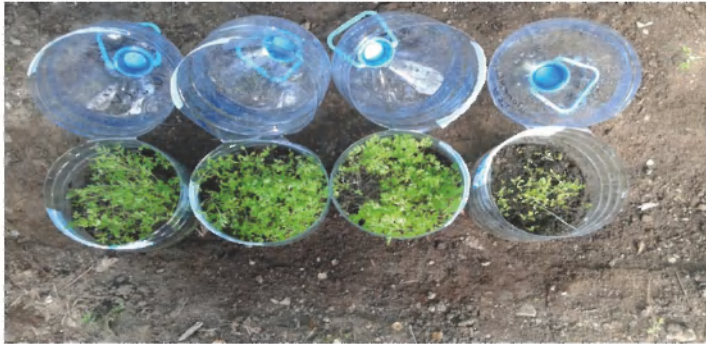
Вероятно, имеет место внутривидовая изменчивость дикорастущей полыни развесистой и испытанных злаков по устойчивости к абиотическому стрессу – ЛТС, бензину А-76. Как видно из данных представленных в таблице 1, порог фитотоксичности к бензину А-76 для окультуренного злака Саратовская-29, дикорастущей полыни развесистой и ряда смеси злаков Johnsons Lawn seed находится в пределах концентрации 0,21 %. Как известно, порог фитотоксичности – это концентрация в которой вещество ингибирует всхожесть семян, рост сеянца и корней на 20 % и более от контроля [10].

Следует отметить отличия влияния бензина на испытанные растения. Дикорастущий вид полыни (*Artemisia diffusa*) и смесь злаков Johnsons Lawn seed более устойчивы к бензину А-76, в сравнении с окультуренным злаком Саратовская-29. Через 30 сут. характер действия бензина на рост сеянцев полыни не изменялся. Контрольные сеянцы были крупнее опытных, количество сеянцев полыни выше контрольных на образцах с содержанием бензина 0,07 и 0,14 % и большая часть опытных сеянцев мельче контрольных. На образцах почвы с содержанием бензина 0,21 % сеянцы мельче контрольных и их количество снижено (рисунок 1-2).



1 2 3 4 5
Контроль (1), 0,07% бензина (2), 0,14 бензина (3), 0,21% бензина (4),
0,28% бензина (5)

Рисунок 1 – Сеянцы полны на почве загрязненной бензином в замкнутых емкостях 5 л



1 2 3 4

Рисунок 2 - Сеянцы полны на образцах почвы: 1-контроль, 2- загрязнение бензином 0,07%, 3 - 0,14%, 4 -0,21%. 30-е сутки наблюдений

Характер действия бензина на рост сеянцев травосмеси злаков также сохранялся на 30-е сутки наблюдений. Так, количество опытных сеянцев на образцах почвы с содержанием бензина 0,07 и 0,14 % выше контроля. На образцах почвы с содержанием бензина 0,21% количество сеянцев снижено, и с содержанием бензина 0,28% семена не проросли (рисунок 3).



1 2 3 4 5
Рисунок 3 - Сеянцы травсмеси злаков на образцах почвы: 1-контроль, 2- загрязнение бензином 0,07%, 3 - 0,14%, 4-0,21%, 5-0,28%. 30-е сутки наблюдений.

Метод оценки воздушного переноса летучего токсичного соединения в семена и растения. Для исследований воздушного переноса ЛТС на семена и растения, в емкости на 5 л, с 0,5 кг образцами почвы, семенами пшеницы Саратовская-29 были помещены стаканы с бензином: 1; 2; 5 и 25 мл, при этом в образцы почвы бензин не вносили (рисунок 4).



Рисунок 4 - Модель аэрогенного переноса ЛТС на семена мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*), сорт Саратовская-29. Емкость показана открытой

В результате исследований, установлено, что на 14-е сутки наблюдений аэрозоль бензина из 1 мл не влияет на прорастание семян пшеницы, из 2 мл ингибирует на 47 % и из 5 мл полностью ингибирует прорастание семян пшеницы. Далее, исследован воздушный перенос бензина на сформировавшиеся формы дикорастущих видов растений. В замкнутые емкости на 5 л были помещены образцы дикорастущих растений Полынь развесистая (*Artemisia diffusa*), Овсяница красная (*Festuca rubra maxima*). Образцы растений взяты из открытого грунта степной зоны. В емкости были помещены стаканы с бензином: 5 мл, 10 мл и 25 мл, в почву бензин не вносили. В результате исследований, установлено:

На 3-е сутки наблюдений. В контроле растения развиваются нормально. Из стакана с 5 мл бензина, бензин испарился, при этом 20% растений приобрели коричневый цвет. Из стакана с 10 мл бензина, бензин частично испарился, растения повреждены на 34%, приобрели бурый цвет. Из стакана с 20 мл бензина, бензин частично испарился, все растения погибли, высохли.

На 6-е сутки наблюдений. В замкнутой емкости с аэрозолем бензина 5 мл, 27% растений зеленые, остальные растения погибли. В замкнутой емкости с аэрозолем бензина 10 мл, 12% растений зеленые, остальные растения погибли. В замкнутой емкости с аэрозолем бензина 20 мл все растения погибли.

На 8-е сутки наблюдений. В замкнутой емкости с аэрозолем бензина 5 мл все растения погибли. В замкнутой емкости с аэрозолем бензина 10 мл все растения погибли. В замкнутой емкости с аэрозолем бензина 20 мл все растения погибли (рисунок 5).



Рисунок 5 – Вскрытые емкости на 8-е сутки наблюдений влияния ЛТС на формы дикорастущих видов растений: полынь развесистая (*Artemisia diffusa*), овсяница красная (*Festuca rubra maxima*).

Таким образом, при воздушном переносе ЛТС, его угнетающее действие на растения зависит как от концентрации ЛТС, так и от времени его действия на растения. При высоких концентрациях бензина (20 мл) растения гибнут уже в первые сутки наблюдений, при относительно низких концентрациях бензина (5 мл) в первые сутки угнетающее действие незначительно и на 8-е сутки уже все растения гибнут.

Основные результаты. Выводы.

1. В изолированных емкостях, бензин А-76, внесенный в образцы почвы в относительно низких концентрациях стимулирует и в больших концентрациях ингибирует всхожесть семян и рост сеянцев: дикорастущего вида полыни развесистой (*Artemisia diffusa*), злаков: пастбищный рейгас (*Lolium perenne*), овсяница красная (*Festuca rubra maxima*), мятлик луговой (*Poa pratensis*). Бензин А-76 в относительно низких концентрациях не влияет и в больших концентрациях ингибирует всхожесть семян и рост сеянцев окультуренного вида злака (*Triticum aestivum*), сорт Саратовская-29;

2. Дикорастущий вид полыни в сравнении с окультуренным видом злака имеет более высокую устойчивость к токсичному действию бензина А-76;

3. Для окультуренного злака установлена внутри сортовая и для дикорастущего вида полыни внутривидовая изменчивость устойчивости к токсическому действию бензина;

4. При воздушном переносе бензина, его угнетающее действие на растения усиливается с увеличением времени действия;

5. Создана модель почвенного и воздушного переноса летучего токсичного соединения в семена и растения;

6. Разработан метод оценки влияния летучего токсичного соединения на всхожесть семян и рост сеянцев в замкнутых емкостях. Разработан метод оценки порога фитотоксичности летучего токсичного соединения.

Источник финансирования исследований. Республиканская бюджетная программа 008 «Прикладные научные исследования в области космической деятельности». Научно-технический проект «Исследование природы загрязнения растений несимметричным диметилгидразином и токсичными продуктами его трансформации». Республиканское государственное предприятие. Научно-исследовательский центр «Фарыш-Экология». Министерство цифрового развития, инноваций и аэрокосмической промышленности Республики Казахстан.

Список литературы

1 SU 1266490 А1. Способ оценки газоустойчивости растений/ Ю.Н.Юдин, А.Я.Безменов, Л.К.Клюкина, О.Д.Миронов. 1982.

2 *Еремеева В.Г., Денисова Е.С.* Газоустойчивость древесных растений Сибири. Сибирский экологический журнал.- 2011.-Т.18.- № 2.- С.263-271

3 *Федорова А.И., Никольская А.Н.* Практикум по экологии и охране окружающей среды. М.: ВЛАДОС, 2003. -286 с.

4 *Федулов Ю.П.* Методы определения устойчивости растений: курс лекций. – Краснодар : КубГАУ, 2015. – 39 с.

5 ГОСТ 12.1.005-76 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны. Утвержден 29.09.88 № 3388

6 *Панин Л.Е., Перова А.Ю.* Медико-социальные и экологические проблемы использования ракет на жидком топливе (гептил). Бюллетень СО РАМН, 2006.- № 1 (119). – С. 124-131.

7 *В.Е. Емельянов, И.Ф. Крылов.* Автомобильный бензин и другие виды топлива: свойства, ассортимент, применение / - М.: Ас-трель: АСТ: Профиздат, 2005. - 207 с.

8 *Карпин В.И., Перепрраво Н.И., Золотарев В.Н., Рябова В.Э., Шамсутдинова Э.З., Козлова Т.В.* Методика определения силы роста семян кормовых культур М.: Изд-во РГАУ – МСХА, 2012. — 16 с

9 *Лакин Г.Ф.* Биометрия - М.: Изд. «Высшая школа», 1990.- 352 с

10 Методические рекомендации МР 2.1.7.2297-07. «Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности» (МР 2.1.7.2297-07). – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008.-15 с

Утеулин К.Р., доктор биологических наук, ассоциированный профессор,
e-mail: gen_uteulink@mail.ru