

УДК 615.9:[543.383.2:581.48]:632.911.2

ОЦЕНКА ФИТОТОКСИЧНОСТИ НЕФТЕПРОДУКТОВ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Рубин В.М., Ильюкова И.И.

ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены», Минск, Беларусь

Нефтепродукты, попадая в окружающую среду, оказывают негативное влияние на растительность. С целью изучения фитотоксического действия нефтепродуктов была проведена серия опытов в лабораторных условиях на семенах сельскохозяйственных растений: редис, ячмень и салат. В проведенных экспериментах установлена неодинаковая реакция семян к действию различных концентраций поллютанта, что свидетельствует о видоспецифичности и дозозависимости ответной реакции на загрязнение. Анализ динамики и энергии прорастания семян позволяет более полно провести оценку фитотоксического действия загрязнителя.

Ключевые слова: нефтепродукты, фитотоксичность.

Введение

Нефтепродукты являются распространенным техногенным загрязнителем окружающей среды. Попадая в почву, они приводят к ухудшению условий произрастания растений. В отношении влияния на прорастание семян в литературе имеются противоречивые сведения. Некоторые авторы считают, что нефть не влияет на прорастание семян растений, другие установили прямое токсическое действие воздуха, насыщенного легкими фракциями нефти [1, 2, 3]. В других исследованиях при изучении влияния нефтезагрязненных почв на растения выявлено выраженное фитотоксическое действие, приводящее как к гибели проростков, так и к гибели вегетирующих растений [4, 6].

Цель – оценить фитотоксическое действие нефтепродуктов на семена различных сельскохозяйственных растений в лабораторных условиях.

Материалы и методы

Для проведения экспериментальных исследований использовали смесь нефтепродуктов в соотношении 1:1:1 по массе: осветительный керосин марки КО-20 по ТУ 38.401-58-10-01 производства ОАО «Нафтан», топливо дизельное автомобильное марки ЕН 590 по ТУ 38.401-58-296-2005 производства ОАО «Мозырский НПЗ», масло индустриальное марки И-50А производства ОАО «Нафтан». Выбор данных нефтепродуктов был основан на предварительно проведенном выборочном фракционном разложении ряда почвенных образцов (анализ выполнялся методом пиролиза горных пород на базе масс-спектрометра). Из полученных данных следовало, что опробованные почвы в большинстве своём не содержат легколетучие углеводороды, извлекаемые при температурах до 300°C, максимальный выход отмечался при температурах от 413 до 428°C. На основании этого для проведения экспериментальных исследований была взята вышеуказанная смесь нефтепродуктов с содержанием углеводородов диапазона С10-С40, температура выхода (кипения) которых ориентировочно составляет от 175 до 500°C.

Изучение токсичности нефтепродуктов проводили согласно методическим рекомендациям «Ускоренное гигиеническое регламентирование экзогенных химических веществ в почве» [7] и инструкции по определению дифференцированных гигиенических нормативов загрязнения почв [5].

Опыты по изучению фитотоксического действия нефтепродуктов проводили в лабораторных условиях в чашках Петри ускоренным экспресс-методом. На дно чашки помещали 2 слоя фильтровальной бу-

маги и вносили по 12 мл дистиллированной воды с добавлением дозы вещества, которая рассчитывается на 50 г сухой земли. В серии опытов микропипеткой максимально равномерно вносили в каждую чашку по 0.012, 0.029, 0.048, 0.06 и 0.08 мл нефтепродуктов, что эквивалентно концентрациям в почве – 200, 500, 800, 1000 и 1330 мг/кг. Далее в каждую чашку помещали по 30 семян опытных растений: салат листовой сорт «Витаминный», ячмень яровой сорт «Сябра», редис сорт «Кармен». Данные фитопредтенденты были выбраны на основании предварительно проведенных экспериментов на всхожесть семян. Для каждой культуры исследовали по пять повторностей (чашек Петри) на дозу. Чашки ставили в термостат при температуре 22-25°C. Прорастание семян фиксировали на 1, 2, 3, 4, 5, 6 и 7-е сутки. В конце опыта делали замеры длины корня.

При оценке фитотоксического действия учитывали динамику прорастания, всхожесть и энергию прорастания семян, а также показатель интенсивности начального роста проростков, который наиболее полно характеризует жизнеспособность растений (длина корня) [8].

Результаты исследований подвергли статистической обработке. Характер распределения оценивали при помощи критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. В качестве характеристики группы для признаков с распределением, отличным от нормального, определяли медиану и интерквартильный размах (Ме (25%; 75%)). Для сравнения двух независимых выборок использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни, а различия считали достоверными с учетом поправки Бонферрони. За уровень значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты динамики прорастания семян салата листового сорта «Витаминный» представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Динамика прорастания семян салата листового сорта «Витаминный»

Вариант опыта, концентрация нефтепродуктов	Количество проросших семян, %						
	На 1 сутки	На 2 сутки	На 3 сутки	На 4 сутки	На 5 сутки	На 6 сутки	На 7 сутки
КОНТРОЛЬ (0 МГ/КГ)	14,00	77,33	79,33	81,33	84,00	87,33	87,33
200 МГ/КГ	26,67	81,33	81,33	83,33	88,67	89,33	89,33
500 МГ/КГ	19,33	73,33	76,00	79,33	82,00	85,33	85,33
800 МГ/КГ	12,00	56,00	59,33	60,67	61,33	64,00	64,00
1000 МГ/КГ	12,67	40,00	40,67	43,33	44,67	46,67	46,67
1330 МГ/КГ	16,67	33,33	33,33	34,00	35,33	36,67	36,67

Полученные данные свидетельствуют о постепенно возрастающем отрицательном воздействии нефтепродуктов на прорастание семян салата. На 1 сутки количество проросших семян в опытных вариантах не отличалось от контроля (14%) и варьировало в диапазоне 12,67-26,67%. Начиная со вторых суток в дозах 800, 1000 и 1330 мг/кг отмечено негативное влияние нефтепродуктов на прорастание семян. Процент прорастания составил 56,00%, 40,00% и 33,33%, соответственно (в контроле – 77,33%). Данная динамика сохранялась на протяжении всего опыта. На 7 сутки количество проросших семян по сравнению с контролем было ниже на 26,71%, 46,56% и 58,01% (в дозах 800, 1000 и 1330 мг/кг, соответственно). Нефтепродукты, вносимые в концентрациях 200 и 500 мг/кг, не оказали негативного влияния на динамику и энергию прорастания семян.

Всхожесть салата была оценена на 7 сутки. Нефтепродукты в концентрациях 200 и 500 мг/кг не повлияли на лабораторную всхожесть семян, которая составила 84,67% и 78%, соответственно (81,33% в контроле) (таблица 2). Более высокие испытанные концентрации оказали угнетающее действие, всхожесть салата была ниже по сравнению с контролем на 27,05%, 44,26% и 57,37% (в дозах 800, 1000 и 1330 мг/кг, соответственно).

Таблица 2 – Всхожесть салата листового сорта «Витаминный» на 7 сутки

	Вариант опыта, концентрация нефтепродуктов, мг/кг					
	Контроль	200	500	800	1000	1330
Всхожесть, %	81,33	84,67	78	59,33	45,33	34,67

Нефтепродукты в дозе 200 мг/кг оказали стимулирующее действие на развитие корня салата, его длина превысила длину корня в контроле на 9,76% ($p=0,0045$), при этом увеличение содержания нефтепродуктов приводило уже к уменьшению длины корня. Статистически значимые различия установлены в дозах 1000 и 1330 мг/кг (снижение показателя на 25,61% и 19,51%, соответственно). Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Длина корня салата листового сорта «Витаминный», Ме (25%; 75%)

	ВАРИАНТ ОПЫТА, КОНЦЕНТРАЦИЯ НЕФТЕПРОДУКТОВ, МГ/КГ					
	КОНТРОЛЬ N=122	200 N=127	500 N=117	800 N=89	1000 N=68	1330 N=52
ДЛИНА КОРНЯ, СМ	4,10 (3,30; 4,50)	4,50* (3,50; 5,20) P=0,0045	4,00 (3,00; 4,80) P=4,80	3,60 (2,00; 4,20) P=0,065	3,05* (2,00; 4,00) P=0,00	3,50* (2,95; 4,2) P=0,034

Примечание – * - различия статистически значимы при уровне доверия $p < 0,05$

Результаты, полученные при изучении влияния нефтепродуктов на лабораторную всхожесть семян и длину корня салата, дают основание заключить, что фитотоксическое действие поллютанта проявляется в дозе 800 мг/кг и выше.

При исследовании влияния нефтепродуктов на прорастание семян редиса с увеличением их концентрации отмечено снижение энергии прорастания, наиболее проявляющееся в первые дни эксперимента. Через 1 сутки количество проросших семян во всех испытанных концентрациях было ниже кон-

трольных данных на 26,5%, 33,33%, 29,91%, 50,42% и 55,55% (соответственно, в дозах 200, 500, 800, 1000 и 1330 мг/кг). Однако уже на вторые сутки ингибирование прорастания семян более чем на 20% было отмечено только в дозах 800 мг/кг и выше. В конце исследования во всех опытных группах количество проросших семян было незначительно снижено, но не отличалось от контроля более чем на 11% (диапазон 6,12%-10,89%) (таблица 4).

Таблица 4 – Динамика прорастания семян редиса сорта «Кармен»

Вариант опыта, концентрация нефтепродуктов, мг/кг	Количество проросших семян, %						
	На 1 сутки	На 2 сутки	На 3 сутки	На 4 сутки	На 5 сутки	На 6 сутки	На 7 сутки
Контроль	78,00	92,00	92,67	94,67	98,00	98,00	98,00
200	57,33	75,33	81,33	83,33	88,00	88,00	88,67
500	52,00	76,67	80,67	81,33	86,67	89,33	90,00
800	54,67	72,67	78,00	81,33	88,67	90,00	92,00
1000	38,67	69,33	74,67	79,33	84,67	86,00	87,33
1330	34,67	64,00	74,00	78,67	84,00	86,67	88,00

Обращает на себя внимание снижение всхожести семян редиса, которая определялась на 7 сутки, в опытных группах, содержащих нефтепродукты в концентрациях 500, 800, 1000 и 1330 мг/кг, относительно контроля (ингибирование на 20,67%, 20,00%, 23,30% и 24,00%, соответственно) (таблица 5). Низкая всхожесть в указанных опытных группах связана с гибелью проростка к концу эксперимента. Данный эффект может быть проявлением токсического действия нефтепродуктов: к концу опыта проросток начал питаться с помощью корня, что привело к поступлению поллютанта в растение и его гибели.

Таблица 5 – Всхожесть редиса сорта «Кармен» на 7 сутки

	ВАРИАНТ ОПЫТА, КОНЦЕНТРАЦИЯ НЕФТЕПРОДУКТОВ, МГ/КГ					
	КОНТРОЛЬ N=132	200 N=114	500 N=103	800 N=101	1000 N=97	1330 N=96
ДЛИНА КОРНЯ, СМ	6,00 (4,00; 8,00)	6,00 (3,20; 8,00) P=1,5	6,00 (3,00; 8,00) P=3,7	5,00 (3,00; 8,00) P=0,75	5,00 (3,50; 7,00) P=0,48	4,00* (3,00; 6,00) P=0,000

Негативное действие нефтепродуктов на длину корня проявилось только в максимальной концентрации. Длина корня составила 4,00 см, что на 33,33% ниже контрольного значения – 6,00 см ($p=0,00$) (таблица 6). В дозах 800 и 1000 мг/кг данный показатель ниже на 16,67%, однако различия статистически не значимы ($p=0,75$ и $p=0,48$, соответственно).

Таблица 6 – Длина корня редиса сорта «Кармен», Ме (25%; 75%)

	ВАРИАНТ ОПЫТА, КОНЦЕНТРАЦИЯ НЕФТЕПРОДУКТОВ, МГ/КГ					
	КОНТРОЛЬ N=132	200 N=114	500 N=103	800 N=101	1000 N=97	1330 N=96
ДЛИНА КОРНЯ, СМ	6,00 (4,00; 8,00)	6,00 (3,20; 8,00) P=1,5	6,00 (3,00; 8,00) P=3,7	5,00 (3,00; 8,00) P=0,75	5,00 (3,50; 7,00) P=0,48	4,00* (3,00; 6,00) P=0,000

Примечание – * - различия статистически значимы при уровне доверия $p < 0,05$

На основании полученных данных можно сделать вывод, что нефтепродукты главным образом оказывают свое негативное действие на

всхожесть семян редиса (в дозах 500 мг/кг и выше). Ингибирующее действие на длину корня проявляется только в максимальной дозе.

Влияние поллютанта на динамику прорастания семян ячменя имело дозозависимый характер (таблица 7). Через сутки процент проросших семян в дозе 200 мг/кг составил 16,67%, в более высоких дозах он был менее 7%. Такая тенденция сохранялась на протяжении всего опыта. На 7 сутки процент прорастания от контроля в дозах 500, 800, 1000 и 1330 мг/кг составил 56,56%, 50,01%, 45,09% и 26,23%, соответственно.

Таблица 7 – Динамика прорастания семян ячменя ярового сорта «Сябра»

Вариант опыта, концентрация нефтепродуктов, мг/кг	Количество проросших семян, %						
	На 1 сутки	На 2 сутки	На 3 сутки	На 4 сутки	На 5 сутки	На 6 сутки	На 7 сутки
Контроль	46,67	70,67	80,00	80,00	81,33	81,33	81,33
200	16,67	38,00	55,33	64,00	64,67	64,67	66,00
500	6,67	26,67	40,67	44,00	45,33	45,33	46,00
800	2,67	20,67	33,33	35,33	37,33	38,67	40,67
1000	2,67	22,67	30,00	35,33	36,67	36,67	36,67
1330	0,67	8,67	18,00	20,00	21,33	21,33	21,33

Установлено, что нефтепродукты оказали ингибирующее действие на всхожесть ячменя ярового в концентрациях 500-1330 мг/кг, которая составила менее 80% от контроля (таблица 8). В концентрации 200 мг/кг отрицательное действие не отмечено (всхожесть составила 81,0% по сравнению с контролем).

Таблица 8 – Всхожесть ячменя ярового сорта «Сябра» на 7 сутки

	Вариант опыта, концентрация нефтепродуктов, мг/кг					
	Контроль	200	500	800	1000	1330
Всхожесть, %	77,33	62,67	40,67	28,00	30,00	10,00

Как видно из таблицы 9, нефтепродукты в концентрациях 800 и 1000 мг/кг вызывают сниже-

ние длины корня ячменя на 17,81% (в дозе 800 мг/кг различия статистически значимы, $p=0,005$). Максимальная доза поллютанта вызвала торможение развития корня в 2 раза (5,6%, $p=0,00$).

Таблица 9 – Длина корня ячменя ярового сорта «Сябра», Ме (25%; 75%)

Длина корня, см	Вариант опыта, концентрация нефтепродуктов, мг/кг					
	Контроль n=116	200 n=94	500 n=61	800 n=42	1000 n=45	1330 n=15
	10,95 (7,80; 13,50)	9,20 (6,60; 12,00)	10,00 (7,00; 12,00)	9,00* (6,50; 10,40)	9,00 (7,80; 11,80)	5,60* (4,20; 7,20)
		$p=0,075$	$p=0,35$	$p=0,005$	$p=0,35$	$p=0,000$

Примечание. * - различия статистически значимы при уровне доверия $p < 0,05$

Как указано выше, выявлен ингибирующий эффект нефтепродуктов, начиная с концентрации 500 мг/кг, на динамику и энергию прорастания семян ячменя, всхожесть, а при более высоких концентрациях и на развитие первичного корня.

Выводы

Проведенная серия экспериментов в лабораторных условиях в чашках Петри позволила установить неодинаковую реакцию семян различных сельскохозяйственных растений к действию нефтепродуктов, что свидетельствует о видоспецифичности и дозозависимости ответной реакции на загрязнение. По чувствительности к нефтепродуктам изученные растения можно расположить в следующем порядке по убыванию: ячмень, редис, салат. Нефтепродукты не оказали фитотоксического действия на семена редиса и ячменя в концентрации 200 мг/кг, на семена салата – 200 и 500 мг/кг. При изучении фитотоксического действия поллютантов (в том числе и нефтепродуктов) в лабораторных условиях в дополнение к таким показателям, как всхожесть семян и длина корня проростка, необходимо учитывать также динамику и энергию прорастания, что позволит более полно оценить их негативное действие.

Literature

1. Биотестирование почвы и воды, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, с помощью растений / В.Н. Петухов [и др.] // Прикладная Биохимия и микробиология. - 2000. - Т. 36, № 6. - С. 652 - 655.
2. Биотрансформация ксенобiotиков в растениях / С. Дурмишидзе [и др.], ред.: О. Хачидзе / АН ГССР. Ин-т биохим. растений. - Тбилиси: Мецниереба, 1988. - 287 с.
3. Габов, Д.Н.. Полициклические ароматические углеводороды в почвах фоновых территории / Д.Н. Габов, В.А. Безносиков, Б.М. Кондратенко // Современные проблемы загрязнения почв: тез. докл. Междунар. науч. конф. - М.: Изд-во МГУ, 2004. С. - 36-38.
4. Дурмишидзе, СВ. Расщепление кольца некоторых экзогенных соединений в растениях / С.В. Дурмишидзе. - Тбилиси: Изд.-во АН ГССР, 1975. - 50 с.
5. Инструкция по определению дифференцированных гигиенических нормативов загрязнения почв / ГУ «Респ. науч. – практ. центр гигиены»; авт. проф. С.М. Соколов [и др.] : утв. гл. гос. сан. врачом Респ. Беларусь М. И. Римжей 27.04.2007 г., № 021-0407. – Минск, 2007. – 85 с.
6. Киреева, Н.А. Влияние загрязнения нефтью на фито-

1. Biotestirovanie pochvy i vody, zagryaznenny'x neft'yu i nefteproduktami, s pomoshh'yu rastenij / V.N. Petuxov [i dr.] // Prikladnaya Bioximiya i mikrobiologiya. - 2000. - T. 36, № 6. - S. 652 - 655.
2. Biotransformaciya ksenobiotikov v rasteniyax / S. Durmishidze [i dr.], red.: O. Xachidze / AN GSSR. In-t bioxim. rastenij. - Tbilisi: Mecniereba, 1988. - 287 s.
3. Gabov, D.N.. Policiklicheskie aromatische uglevodorody v pochvax fonovy'x territorii / D.N. Gabov, V.A. Beznosikov, B.M. Kondratenok // Sovremenny'e problemy zagryazneniya pochv: tez. dokl. Mezhdunar. nauch. konf. - M.: Izd-vo MGU, 2004. S. - 36-38.
4. Durmishidze, SV. Rasshheplenie kol'ca nekotory'x e'kzogenny'x soedinenij v rasteniyax / S.V. Durmishidze. - Tbilisi: Izd.-vo AN GSSR, 1975. - 50 s.
5. Instrukciya po opredeleniyu differencirovanny'x gigenicheskix normativov zagryazneniya pochv / GU «Resp. nauch. – prakt. centr gigeny'»; avt. prof. S.M. Sokolov [i dr.] : utv. gl. gos. san. vrachom Resp. Belarus' M. I. Rimzhej 27.04.2007 g., № 021-0407. – Minsk, 2007. – 85 s.
6. Kireeva, N.A. Vliyanie zagryazneniya neft'yu na

токсичность серой лесной почвы / Н.А. Киреева, А.М. Мифтахова, Г.Г. Кузяхметов // Агрохимия. - 2001. - № 5. - С. 64-69.

7. Ускоренное гигиеническое регламентирование экзогенных химических веществ в почве : метод. рекомендации / Белор. науч.-исслед. сан.-гиг. ин-т; авт.: А.Н. Котеленец [и др.] : утв. гл. гос. сан. врачом Респ. Беларусь В.П. Филоновым 13.11.2000 г., № 127-0010. – Минск, 2000. – 52 с.

8. Чеснокова, С. М., Биологические методы оценки качества объектов окружающей среды : учеб. пособие: в 2 ч. / С. М. Чеснокова, Н. В. Чугай ; Владим. гос. ун-т. – Владимир : Изд-во Владим. гос. ун-та, 2008. – Ч. 2: Методы биотестирования. – 92 с.

fitotoksichnost' seroj lesnoj pochvy' / N.A. Kireeva, A.M. Miftaxova, G.G. Kuzyaxmetov // Agroximiya. - 2001. - № 5. - S. 64-69.

7. Uskorennoe gigenicheskoe reglamentirovanie e'kzogenny'x himicheskix veshhestv v pochve : metod. rekomendacii / Belor. nauch.-issled. san.-gig. in-t; avt.: A.N. Kotelenec [i dr.]: utv. gl. gos. san. vrachom Resp. Belarus' V.P. Filonovy'm 13.11.2000 g., № 127-0010. – Minsk, 2000. – 52 s.

8. Chesnokova, S. M., Biologicheskie metody' ocenki kachestva ob'ektov okruzhayushhej sredy' : ucheb. posobie: v 2 ch. / S. M. Chesnokova, N. V. Chugaj ; Vladim. gos. un-t. – Vladimir : Izd-vo Vladim. gos. un-ta, 2008. – Ch. 2: Metody' biotestirovaniya. – 92 s.

PHYTOTOXICITY ASSESSMENT OF PETROLEUM PRODUCTS IN A LABORATORY SETTING

Rubin V.M., Ilyukova I.I.

State Institution «Republican Scientific-Practical Centre of Hygiene», Minsk, Belarus

Petroleum products, getting into the environment, have a negative impact on plants. In order to study phytotoxicity of petroleum products a series of experiments on seed crops (radish, lettuce and barley) has been carried out in laboratory conditions. In the conducted experiments the reaction of seeds varied according to pollutant concentrations thus testifying to the species-specificity and dose-dependent response to pollution. The analysis of dynamics and seed vigor allows more detailed assessment of phytotoxic effect of pollutants.

Key words: petroleum products, phytotoxicity.

Адрес для корреспонденции: e-mail: V.M.Rubin@mail.ru

Поступила 20.01.2014