

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА**

ДЕНЧИЛЯ-САКАЛЬ ГАННА МИХАЙЛІВНА

УДК 58.086:546.48:582.736.3

**ФІТОТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ
 Zn^{2+} ТА Cu^{2+} ЗА РЕАКЦІЯМИ *TRIFOLIUM PRATENSE* L.**

03.00.16 – екологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Дніпро – 2020

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі генетики, фізіології рослин і мікробіології біологічного факультету ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Гандзюра Володимир Петрович,
«Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
кафедра екології та зоології, професор

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Бессонова Валентина Петрівна,
Дніпровський державний аграрно-економічний університет,
кафедра садово-паркового господарства, завідувач

кандидат біологічних наук
Комарова Ірина Олександрівна,
Криворізький державний педагогічний університет
кафедра ботаніки та екології, старший викладач

Захист відбудеться «27» січня 2021 р. о 12.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 08.051.04 для захисту дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук у Дніпровському національному університеті імені Олеся Гончара за адресою: 49010, м. Дніпро, пр. Гагаріна, 72, корпус 17, біолого-екологічний факультет, ауд. 711.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара Міністерства освіти і науки України за адресою: 49010, м. Дніпро, вул. Казакова, 8.

Автореферат розісланий «24» грудня 2020 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
кандидат біологічних наук, доцент



А. О. Дубина

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Важкі метали (ВМ), порівняно з іншими компонентами промислових викидів, становлять найбільшу загрозу для екосистем (Burton et al., 1986). Потрапляючи в навколишнє середовище, вони включаються в біогеохімічний кругообіг, мігрують ланками трофічних ланцюгів, поступово нагромаджуючись в компонентах екосистеми. Особливо турбує забрудненість ВМ рослинницької продукції, яка є ланкою трофічних ланцюгів тварин та людини (Ильин, 1991). Частина ВМ за низьких концентрацій є життєво важливими структурними компонентами рослинної клітини і необхідні для процесів метаболізму, проте у високих концентраціях вони викликають низку порушень фізіологічних та біохімічних процесів (Гуральчук, 1994). Мідь і цинк належать до есенціальних мікроелементів, проте підвищення їх вмісту в клітині призводить до генерації оксидантного стресу (Bigne et al., 1995; Гащишин та ін., 2012; Воробець та ін., 2000).

Відомо, що рослини можуть проявляти певну резистентність та адаптивність до дії ВМ; встановлені суттєві відмінності у реакції різних видів рослин на дію ВМ (Бессонова, 1999). При цьому, адаптація рослин до їх токсичного впливу можлива лише у вузькому діапазоні концентрацій і в умовах зовнішнього середовища, коли природні фактори не створюють додаткових стресових ситуацій (Пацула, 2003). Ушкодження однорічних рослин ВМ обмежує їх використання в якості сенсорів підвищеного вмісту ВМ в екосистемах, а використання багаторічних рослин, у т.ч. – бобових, є мало дослідженим. Тому важливим завданням є пошук толерантних видів рослин, здатних акумулювати важкі метали, розподіляти їх у органах та тканинах і одночасно продукувати велику біомасу для зручного їх збору з забрудненої ділянки. При цьому актуальним є проведення досліджень на *Trifolium pratense* L. з метою розробки наукових основ постійного багаторічного моніторингу за рівнем ВМ в екосистемах, особливо при вирощуванні сільськогосподарських рослин на техногенно забруднених ґрунтах.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами. Дисертаційна робота виконана на базі кафедри генетики, фізіології рослин і мікробіології Державного вищого навчального закладу «Ужгородський національний університет» в рамках науково-дослідних програм «Вивчення механізмів локалізації, акумуляції та фітобіоремедіації важких металів рослинами, розробка наукових основ біологічного очищення ґрунтів» (№ державної реєстрації 0109007686) та «Розробка наукових засад нівелювання негативного впливу факторів довкілля на продуктивність багаторічних трав'янистих насаджень з застосуванням лядвенцю рогатого» (№ державної реєстрації 0109U000876).

Мета та завдання досліджень. *Мета дисертаційної роботи* – встановити вплив важких металів на рослини *Trifolium pratense* L., акумуляцію та локалізацію ВМ на різних рівнях організації рослинного організму та запропонувати оцінку рівня забруднення ґрунтів за реакціями *Trifolium pratense* L.

Для досягнення мети поставлені такі **завдання**:

- 1) дослідити вплив солей цинку та міді на морфо-фізіологічні показники *Trifolium pratense* L.;
- 2) встановити експресними методами вплив ВМ на розвиток асиміляційної поверхні рослин та вміст хлорофілу;

3) з'ясувати особливості міграції та акумуляції ВМ в системі ґрунт-рослина;

4) визначити локалізацію ВМ в тканинах і системах органів рослин *Trifolium pratense* L.;

5) з'ясувати шляхи запобігання прояву токсичної дії ВМ на рослини *Trifolium pratense* L.;

6) запропонувати оцінку рівня забруднення ґрунтів за реакціями *Trifolium pratense* L.

Об'єкт досліджень – реакції рослин *Trifolium pratense* L. на дію важких металів в системі «ґрунт-рослина».

Предмет досліджень – фізіолого-біохімічні адаптаційні реакції рослин *Trifolium pratense* L. за дії підвищеного вмісту Zn^{2+} та Cu^{2+} у середовищі.

Методи досліджень – фізіолого-біохімічні, ІСР та ААС-спектроскопія, лабораторні та натурні експерименти, стандартні статистичні методи з використанням пакетів програми «Microsoft Excel, 2010».

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше:

- проведено комплексні дослідження з визначення впливу Zn^{2+} та Cu^{2+} на рослини *Trifolium pratense* L., та отримано дані щодо впливу солей цинку та міді на проростання насіння і ріст проростків конюшини лучної. На основі визначення вмісту важких металів в компонентах екосистем з використанням ІСР та ААС-спектроскопії визначено доцільність використання дитизону для експрес-оцінки підвищеного вмісту металів у рослинах;

- розраховані коефіцієнти концентрації та коефіцієнти біологічного поглинання для ґрунтів та досліджуваних рослин для солей Cu та Zn з метою ведення біогеохімічного моніторингу забруднених екосистем. Експериментально підтверджено здатність рослин конюшини поглинати із субстрату важкі метали і нагромаджувати їх у тканинах своїх органів;

- з'ясовані особливості поглинання та тканинного розподілу Zn^{2+} і Cu^{2+} в різних органах рослин, зокрема показано, що Цинк в основному нагромаджується в тканинах коренів та листків; Мідь активніше поглинається коренями і активно переміщується у пагони;

- встановлена за умов позакореневого внесення антидотна активність нітрату кальцію (кальциніту), сульфату магнію та ізобіону до рослин *Trifolium pratense* L.

Практичне значення отриманих результатів. З огляду на встановлену нами високу акумулюючу здатність рослин конюшини до іонів цинку та міді є всі підстави запропонувати конюшину для біологічної очистки техногенно забруднених важкими металами ґрунтів. Уперше на основі результатів проведених нами досліджень запропоновано застосування нітрату кальцію (кальциніту), магнію сірчаноокислого та ізобіону позакоренево для підвищення токсикорезистентності *Trifolium pratense* L. до підвищеного вмісту важких металів. Отримані нами результати дозволяють запропонувати використовувати посіви *Trifolium pratense* L. протягом багатьох років у ролі біоіндикатора в системі біомоніторингу з метою індикації забруднення навколишнього середовища важкими металами.

Наукові положення дисертаційної роботи використовуються при викладанні

загальних курсів «Фізіологія рослин», «Біологічна експертиза», спецкурсів «Стійкість рослин», «Ріст рослин» і «Мінеральне живлення рослин», а також при виконанні курсових та дипломних робіт студентами на кафедрі генетики, фізіології рослин і мікробіології, біологічного факультету ДВНЗ «Ужгородський національний університет».

Особистий внесок здобувача. Здобувачка особисто опрацювала наукову літературу за темою дослідження, проаналізувала та узагальнила літературні дані, оволоділа сучасними методами досліджень, провела вегетаційні та лабораторні експерименти, результати яких обробила статистично, проаналізувала їх і зробила висновки. Особистий внесок у написанні кожної наукової публікації зазначено у «Списку наукових праць за темою дисертації».

Апробація результатів досліджень. Основні результати дисертаційної роботи представлено на наукових конференціях, а саме на Всеукраїнській конференції до 80-річчя професора Л. Г. Долгової (22-23 травня) (Дніпропетровськ, 2007), I, II і III регіональних конференціях молодих вчених та студентів «Проблеми збереження біорізноманіття Українських Карпат» (Ужгород, 2008-2012, 2017-2019), Регіональній науково-практичній конференції «Охорона та раціональне використання природних ресурсів Українських Карпат» (Колочава, 2008), Міжнародній науковій конференції «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології» (Донецьк, 2009), 14-Пушинській міжнародній школі-конференції молодих вчених «Біологія – наука XXI століття» (Пушино, Росія, 2010), Міжнародній конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери» (Харків, 2010), Міжнародній науковій конференції «Регуляція росту і розвитку рослин: фізіолого-біохімічні і генетичні аспекти» (Харків, 2008, 2011), Міжнародній науково-практичній конференції «Екзо- та ендоекологічні аспекти здоров'я людини» (Ужгород, 2011, 2016), Міжнародній науково-практичній конференції «Пермакультура та екологічно-безпечне землеробство» (Ужгород, 2018).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 23 наукові праці, із яких: одна стаття у науковому журналі, що входить до наукометричної бази даних Web of Science, шість – у наукових фахових виданнях України 16 тез доповідей вітчизняних і міжнародних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, переліку умовних позначень та скорочень, п'яти розділів з окремим переліком посилань після кожного розділу, висновків. Загальний список використаної літератури містить 280 джерела, з яких 87 – іноземними мовами. Повний обсяг дисертації становить 149 сторінок. Робота містить 10 таблиць, 31 рисунок та один додаток.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

ВАЖКІ МЕТАЛИ У ҐРУНТАХ ТА РОСЛИНАХ

У розділі систематизовано та узагальнено літературні дані про джерела забруднення навколишнього середовища важкими металами (Кабата-Пендіас, Пендіас, 1989, Гуральчук, 2006; Бойко та ін., 2008). Виявлено особливості міграції важких металів у системі ґрунт – рослина (Комарова, 2019; Цветкова, 2016; Гуральчук, 2006; Лихолат, 2005; Алексеенко, 2000). Представлено інформацію про

вплив важких металів на асиміляційну поверхню рослин (Бессонова, 1991, 1992, 2006). Розглянуто особливості накопичення та розподілу важких металів в органах, тканинах і клітинах рослин (Серегин, Иванов, 1997; Грабовський, 2002; Козловський, та ін., 2005; Валерко, 2009; Мислива, 2011; Чонка, 2011). Наведено стислу еколого-біологічну характеристику *Trifolium pratense* L. (Забарна, 2018; Коваленко, 2020).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Наведено коротку характеристику екологічних умов території Закарпаття, що включає опис особливостей рельєфу території, клімату ґрунтів (Вернандер, 1951; Руднева, 1960; Поп, 2002, 2009; Пересоляк, 2013; Бандурович, 2017).

Об'єктом дослідження були рослини конюшини лучної (*Trifolium pratense* L.) сорту Спарта. В модельних лабораторних і вегетаційних дослідах вивчали вплив різних концентрацій Zn^{2+} і Cu^{2+} (у вигляді сульфатів) на проростання насіння, ріст і розвиток (*T. pratense* L.); визначали вміст ВМ в різних органах, локалізацію їх в тканинах та шляхи запобігання прояву токсичної дії ВМ на *Trifolium pratense* L., а їхній вплив на проростання насіння та розвиток проростків досліджували в лабораторних умовах у водній культурі.

Підготовку проб ґрунту, рослинного матеріалу для аналізу елементного складу проводили у муфельній печі Multivave 3000 фірми Anton Paar, Австрія. Аналіз на вміст ВМ здійснювали за допомогою емісійного спектрометра ICAP 6300 Duo MFC (США). Вміст металів також визначали атомно-абсорбційним методом на спектрофотометрі С₁₁5М₁ у пропан-бутановому полум'ї з використанням дейтерієвого коректора неселективної абсорбції. Визначення біомаси рослин (листіків і стебел) та оцінку вмісту в них води проводили стандартним ваговим методом, фіксуючи рослинний матеріал протягом 30 хв. при 90 °С досушуючи його до постійної ваги при 60°С. Площу листкової пластинки визначали за А. А. Молчанов (1967), їхню пошкодженість – за В. С. Ніколаєвським (1979) біометричні показники – загальноприйнятими методами (Клейн, 1974).

Вимірювання вмісту фотосинтетичних пігментів в листках конюшини проводили за допомогою екстракції диметилсульфоксидом та польового хлорофіломіра Konica Minolta SPAD-502 (Японія). Перерахунок вмісту хлорофілу у мг/дм² листкової поверхні здійснювали, враховуючи кількість хлорофілу, визначену стандартним спектрофотометричним методом з диметилсульфоксидом (Ling, 2011; Markwell, 1995; Osterman Uddling, 2007). Розподіл іонів цинку та міді вираховували гістохімічно (Серегин, Иванов, 1997). Кожний дослід повторювали не менше 4 – 5 разів у 6-кратній повторності. Отримані експериментальні дані статистично обраховували за допомогою комп'ютерної програми Excel, 2010.

ВПЛИВ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ СУЛЬФАТУ ЦИНКУ ТА МІДІ НА РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН КОНЮШИНИ

Процес проростання насіння є досить стійким до дії важких металів (Shah, Dubey, 1998; Лянгузова, 1999; Холодова и др., 2005). Встановлено, що полив розчинами різних концентрацій цинку впливає на проростання насіння вже на початкових етапах онтогенезу. Проростки з'являлися у варіанті з 1 МДК сірчаноокислого цинку вже на четверту добу експерименту (у контролі воно тільки набубнявіло і почало проростати). Проростки мали більші розміри, ніж у контролі та

всіх інших варіантах. Найменше проростків було за концентрації 10 МДК. Стимулюючий ефект спостерігався за концентрації від 1 до 5 МДК.

На відміну від цинку, дія сульфату міді за 5 МДК викликала більше пригнічення проростання насіння. Водночас за низької концентрації сульфату міді мала місце статистично вірогідна стимуляція росту (на 14–30%) проростків. Як і в контролі, так і в досліді проростки починали з'являтися на четвертий день від початку експерименту. В залежності від концентрації солей спостерігається різний вплив на темп проростання насіння.

Вплив сульфату цинку та міді на ріст і розвиток *Trifolium pratense* L.

За 1 МДК, розміри рослин були більшими, ніж у контролі, однак, за 5 МДК спостерігалось пригнічення лінійного росту проростків, а за внесення 10 МДК проростки з'являлися із значним запізненням у строках проростання, були слабшими, меншими за розмірами, а через певний період часу й зовсім припиняли свій ріст. Найбільш чутливим органом до дії токсикантів (в тому числі й ВМ) є коренева система, тому що вона, в першу чергу, є одним з органів депонування останніх (Вакерич, 2010). Найбільш позитивний вплив спостерігався у варіанті з 1 МДК. За 5 МДК спостерігалось пригнічення кореневої системи, відносний приріст помітно знижувався при 5 МДК, а за 1 МДК вірогідно збільшувалася довжина кореня (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив сульфату цинку та міді на довжину стебла та кореня

| Варіант експерименту | Довжина стебла, см | | | Довжина кореня, см | | |
|---|--------------------|----------------|-------------------|--------------------|----------------|-------------------|
| | М | S _x | C _v ,% | М | S _x | C _v ,% |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O 10МДК | 6,94 | 2,17 | 31,33 | 6,14 | 1,43 | 23,31 |
| 5МДК | 18,92 | 3,42 | 18,11 | 9,15 | 2,42 | 26,52 |
| 1МДК | 20,61 | 2,71 | 13,12 | 11,8 | 1,04 | 8,81 |
| CuSO ₄ ·5H ₂ O 10МДК | 13,46 | 2,69 | 19,91 | 6,12 | 1,74 | 29,03 |
| 5МДК | 15,22 | 1,98 | 13,07 | 7,67 | 2,55 | 33,0 |
| 1МДК | 24,22 | 5,58 | 23,07 | 9,28 | 3,13 | 33,72 |
| Контроль | 15,58 | 3,81 | 24,83 | 7,89 | 2,93 | 37,11 |

Маса окремого органу або усієї рослини є інтегральним показником, що характеризує ростові процеси за різних умов навколишнього середовища (Гуральчук, 2006). Середнє значення маси проростків, вирощених за 1–5 МДК сульфату цинку, було вищим, ніж за дії міді та у контрольному досліді. Нами доведено, що найбільший токсичний ефект на ріст проростків викликали концентрації солей цинку понад 5 МДК. За умов дії цього металу більшою мірою пригнічується розвиток надземної частини, ніж кореневої системи проростків. Коефіцієнт варіації для стебла -31,3%, для кореня -23,3%. За дії солей міді найбільше пригнічується розвиток кореневої системи проростків, ніж надземної частини. Найбільші коефіцієнти варіації спостерігалися (19,92–9,03%) при

забрудненні ґрунту міддю в концентраціях рівних 10 МДК. Результати наших досліджень свідчать, що між впливом іонів цинку і міді на ростові параметри рослин конюшини простежується суттєва різниця (табл. 1). Найбільші зміни довжини пагонів та коренів проростків конюшини виявлені за умов впливу іонів цинку. Незначні зміни біометричних показників відбувалися при дії іонів міді.

Ріст і розвиток *Trifolium pratense* L. в умовах *in vitro*

Вже на 5 добу спостерігали формування листків проростків. На середовищі, яке містило ауксини, стебло формувалось одне, заввишки 1-2 см, тонке, пряме. Спостерігалось формування сім'ядольних листків проростків і закладання перших справжніх листків. Листки великих розмірів у кількості 1-3. На 12–14-у добу стебло сягало 10–11 см, кількість листочків збільшувалася до 9-15. На 21 добу припинявся ріст листочків. Стебло сягало до 15 см.

На середовищі з додаванням цитокинінів на 7 добу спостерігалось бічне галуження, формувалось декілька стебел розміром 1,2–1,5 см, на 14 добу стебло – 5-7 см, кількість листків – 35-40. На 21 добу формувалось 15-18 стебел довжиною 10-13 см, кількість листків – 80. На поживних середовищах з НУК у концентрації 1,0 мг/л досить часто спостерігали утворення не морфогенного калюсу, а з калюсної тканини відбувалася диференціація коренів. В результаті застосування зазначених комбінацій НУК та БАП установлено, що при мікророзмноженні *Trifolium pratense* L. оптимальними були концентрації фітогормонів 1–1,5 мг/л. При культивуванні на такому середовищі через 14–21 добу спостерігався активний ріст як центрального пагона, так і формування додаткових адвентивних пагонів (рис. 1, 2).

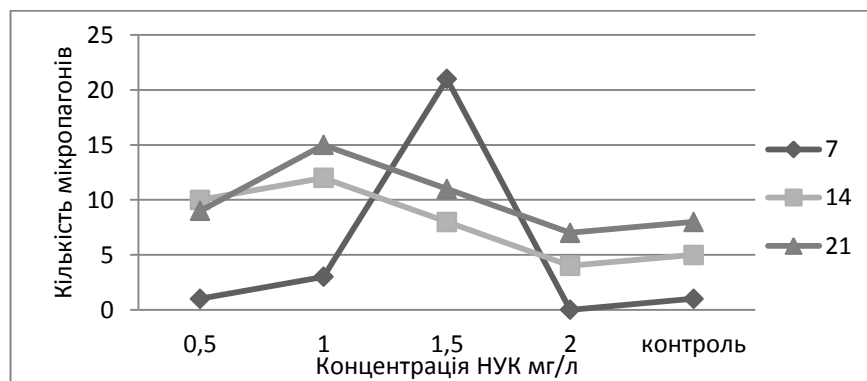


Рис. 1. Кількість мікропагонів за різної концентрації НУК

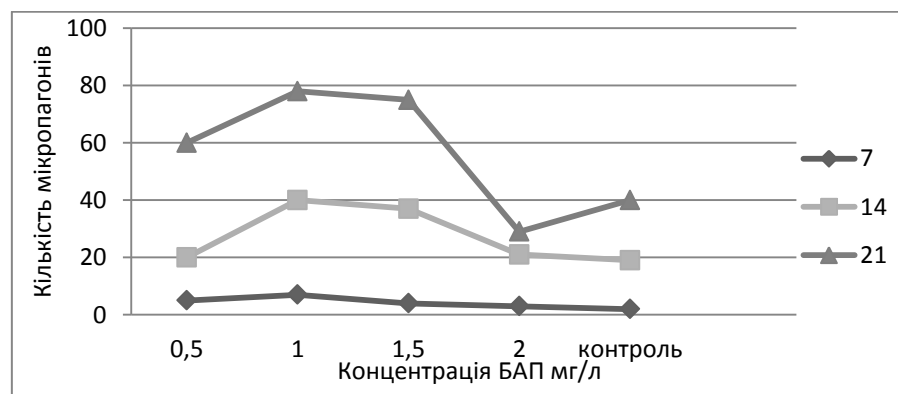


Рис. 2. Кількість мікропагонів за різної концентрації БАП

ВПЛИВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ФОТОСИНТЕЗ

Вплив важких металів на розвиток асиміляційної поверхні *Trifolium pratense* L.

За концентрації 1 МДК сульфату цинку ніяких видимих змін у зовнішньому вигляді листків не спостерігалось. За подальшого збільшення вмісту металу у ґрунті (5 МДК) на епідермі починали з'являтися точкові некрози у вигляді плям бурого кольору, що швидко темніли й засихали (рис. 3).



Рис. 3. Точкові некрози на епідермісі листків *Trifolium pratense* L. за концентрації цинку в ґрунті 5 МДК

При концентрації 10 МДК некроз вражав майже усю поверхню листків (рис. 4). Площа некротичних плям на деяких листкових пластинках досягала майже третини від загальних розмірів. Ділянки між плямами залишалися зеленими, але набували світлішого кольору. Спостерігалось незначне опадання листків.



Рис. 4. Точкові некрози на епідермі листків *Trifolium pratense* L. за концентрації цинку в ґрунті 10 МДК

При внесенні у ґрунт 15 гранично допустимих рівнів сульфату цинку основи листка біля черешка з'являлися характерні хлорози, мозаїчної форми. Площа некротичних плям зростала до 50%. Наступне підвищення концентрацій призводило до швидкого засихання рослин, листки починали жовтіти, скручуватися й масово опадати. На стеблі з'являлися засушені ділянки, які швидко збільшувалися в

розмірах. Через кілька днів усі піддослідні екземпляри особини конюшини відмирили.

Cu^{2+} Як і в попередньому варіанті досліду, незначні збільшення вмісту в ґрунті рухомих форм міді не впливали на забарвлення і стан листків конюшини лучної. Однак, вже за десятикратного перевищення МДК, були істотно помітні міжжилкові хлорози, що супроводжувалися одночасним некрозом краю листкової пластинки (рис. 5-6).



Рис. 5. Точкові некрози на епідермісі листків *Trifolium pratense* L. за концентрації міді в ґрунті 5 МДК

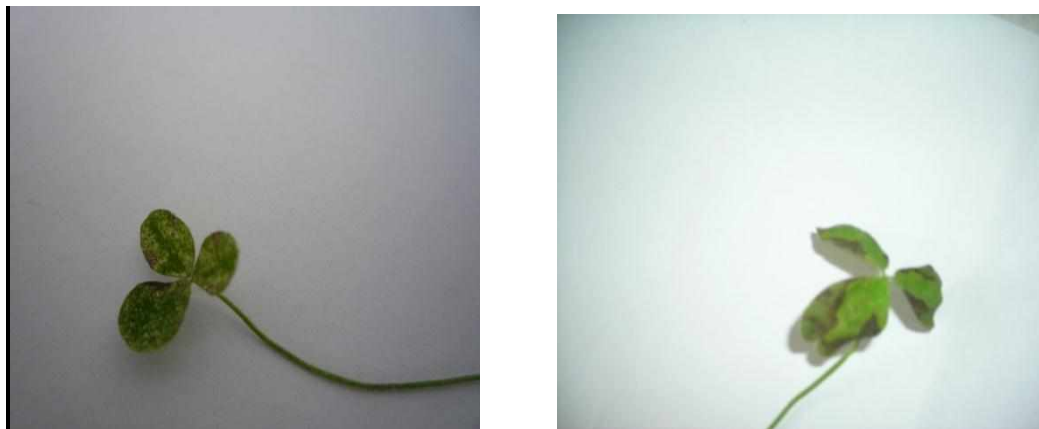


Рис. 6. Точкові некрози на епідермі листків *Trifolium pratense* L. за концентрації міді в ґрунті 10 МДК

Листки починали засихати в напрямку від верхівки до їх основи. Першими опадали верхівкові листки. За наступного підняття рівня забруднення, некротичні плями з'являлися на усій поверхні рослини. При досягненні у ґрунті 15 МДК, особини *Trifolium pratense* L. повністю скидали листкову масу, відмирили апікальні меристеми, рослини втрачали тургор і засихали.

Таким чином, при високих концентраціях досліджених нами металів листки втрачають тургор, в'януть і гинуть. Надлишок цинку в поживному середовищі викликає міжжилковий хлороз. Концентрації металів в експерименті понад 10 МДК повністю пригнічують життєздатність рослин.

Оцінка стану асиміляційного апарату рослин *Trifolium pratense* L. при забрудненні середовища ВМ

В усіх експериментах з підвищенням концентрації металу в ґрунті площа листових пластинок зменшується. За 10 МДК площа листків зменшувалася в порівнянні з контролем на 65–70%. Незважаючи на чітко виражений дозозалежний ефект, при одно- і п'ятикратному перевищенні МДК, реакції рослин на стрес відрізнялися залежно від типу полютанта, тоді як при десятикратному перевищенні допустимих рівнів забруднень, стрес-реакції вирівнювалися й абсолютні показники площі листків були 0,24 см² для Zn²⁺ (рис. 7).

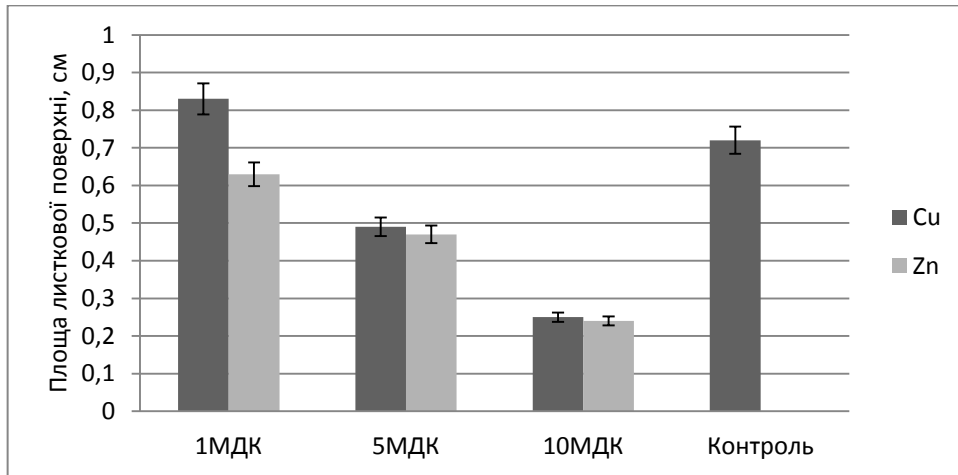


Рис. 7. Площа листової поверхні *Trifolium pratense* L. за різного рівня забруднення ґрунту цинком та міддю

При внесенні ВМ в надмірних концентраціях значення коефіцієнту варіації зростають, що свідчить про неоднакову реакцію рослин на сольовий стрес. Найбільші коефіцієнти варіації спостерігалися в ознак площа листової поверхні (28,34) при забрудненні ґрунту цинком в концентраціях рівних 10 МДК. При забрудненні ґрунту міддю найбільші коефіцієнти варіації спостерігали в ознак (при розрахунку кількості пагонів на 1 рослину) (рис. 8-9).

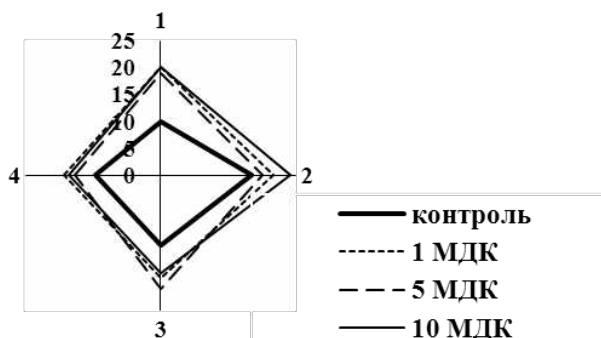


Рис. 8. Значення коефіцієнтів варіації досліджуваних ознак за різного рівня забруднення ґрунту солями міді

1 – кількість пагонів на 1 рослину; 2 – кількість листків на 1 пагін, 3 – довжина пагона, 4 – площа листової поверхні.

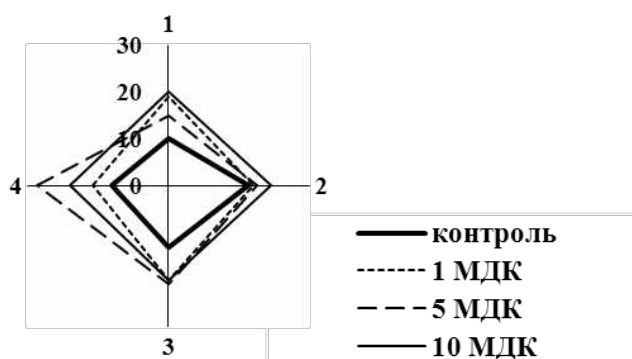


Рис. 9. Значення коефіцієнтів варіації досліджуваних ознак за різного рівня забруднення ґрунту солями цинку
 1 – кількість пагонів на 1 рослину; 2 – кількість листків на 1 пагін, 3 – довжина пагона, 4 – площа листкової поверхні

Встановлено досить щільний зв'язок між вмістом у ґрунті міді та цинку, а також кількістю листків, пагонів та площею листкової пластинки (табл. 2).

Таблиця 2

Коефіцієнт кореляції між вмістом у ґрунті ВМ, кількістю листків, пагонів та площею листкової пластинки у особин конюшини лучної

| Показник | Мідь | Цинк |
|--------------------------------|--------|--------|
| Кількість пагонів на 1 рослину | - 0,76 | - 0,83 |
| Кількість листків на 1 пагін | - 0,69 | - 0,82 |
| Площа листкової поверхні | - 0,86 | - 0,89 |

Узагальнюючи результати наших досліджень, можна відзначити доцільність використання таких параметрів, як кількість та довжина пагонів, кількість листків та їх площа для фітоіндикації забруднення середовища солями цинку та міді. Таким чином конюшину лучну варто рекомендувати як один з ефективних індикаторів забруднення ґрунтів ВМ. Найбільш репрезентативним показником доза – ефект є площа листкової поверхні.

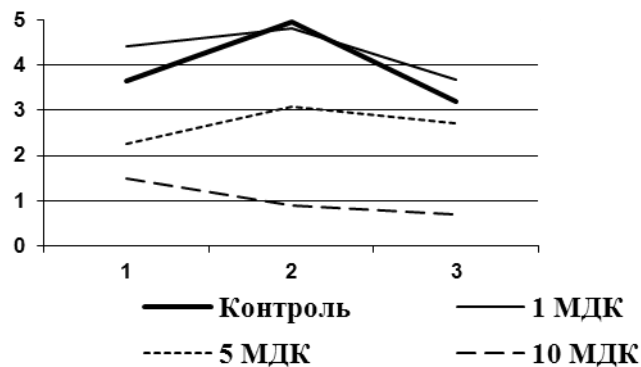
Вплив ВМ на вміст хлорофілу в *Trifolium pratense* L.

Вивчення сезонної динаміки кількості хлорофілів у листках виявило, що максимальна кількість хлорофілу $a+v$ спостерігається в період бутонізації, коли розвинулися усі листки і відбувається активна підготовка рослини до успішного здійснення найголовнішої життєвої стратегії – генеративного розмноження. Найнижчі сумарні показники хлорофілів $a+v$ у контролі нами спостерігалися під час цвітіння і плодоношення (табл. 3).

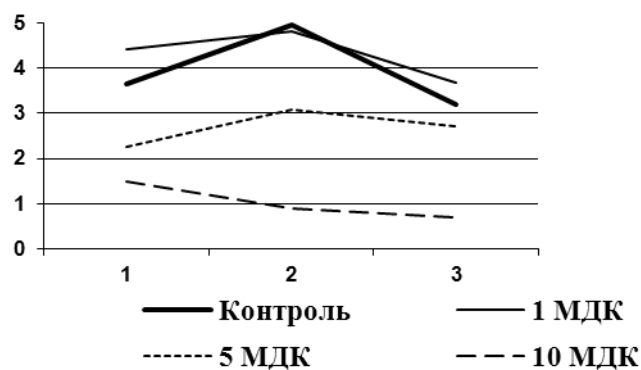
Вміст хлорофілу *a+b* у листках *Trifolium pratense* L.

| Варіант експерименту | Хлорофіл <i>a+b</i> , мг г ⁻¹ сирової ваги | | | | | | |
|--------------------------------------|---|-------------------|-------------|-------------------|----------|-------------------|-------|
| | Відростання листків | | Бутонізація | | Цвітіння | | |
| | М | C _v ,% | М | C _v ,% | М | C _v ,% | |
| CuSO ₄ ·5H ₂ O | 1 МДК | 4,83 | 25,75 | 4,90 | 23,93 | 4,21 | 30,28 |
| | 5 МДК | 2,99 | 20,16 | 3,62 | 30,82 | 3,29 | 26,49 |
| | 10 МДК | 0,80 | 31,62 | 0,87 | 35,06 | 0,76 | 27,61 |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 1 МДК | 4,41 | 25,91 | 4,83 | 16,33 | 3,68 | 26,36 |
| | 5 МДК | 2,25 | 35,02 | 3,07 | 18,82 | 2,70 | 27,94 |
| | 10 МДК | 1,50 | 37,71 | 0,94 | 15,91 | 0,79 | 14,55 |
| Контроль | 3,64 | 21,56 | 4,96 | 18,32 | 3,21 | 19,40 | |

В умовах експерименту, коли у ґрунт вносилися різні концентрації досліджуваних ВМ, вміст хлорофілу до певного рівня забруднення (1 МДК) практично не відрізнявся або перевищував контрольні значення (рис 10).



Мідь



Цинк

Рис. 10. Вміст пігментів у листках за забруднення ВМ *Trifolium pratense* L.
1 – період відростання листків; 2 – бутонізація; 3 – цвітіння

Тільки при перевищенні МДК у 5 і 10 разів спостерігалось різке зменшення вмісту пігментів у клітинах. При перевищенні ГДК ВМ у 10 разів вміст хлорофілів у порівнянні з контролем зменшувався на 60 – 80%.

В умовах експерименту було відмічено, що сезонна динаміка вмісту хлорофілу в листках конюшини лучної, яка чітко простежується у контролі, спостерігається тільки при перевищенні МДК у 1 і 5 разів. Внесення у ґрунт 10 МДК кожної з досліджуваних солей ВМ повністю нівелює цю закономірність і вміст пігментів або залишається незмінним протягом усього вегетаційного періоду, або закономірно зменшується. Очевидно, що зміни в кількісних характеристиках пігментної системи носять стрибкоподібний характер, хоча загалом і відзначаються більшою толерантністю до дії поллютантів. Критичні перебудови у структурі фотосинтетичного апарату листків конюшини лучної не виявляють чіткої залежності доза – ефект і наступають тільки після досягнення якогось критичного порогового навантаження.

ВМІСТ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ У ҐРУНТАХ ТА РОСЛИНАХ КОНЮШИНИ ЛУЧНОЇ

Проведені дослідження виявили істотне забруднення ґрунту в модельному експерименті. Вміст рухомих форм Zn і Cu у всіх варіантах експерименту перевищує фоновий рівень (82 мг/кг і 58,8мг/кг відповідно). Середній вміст рухомих форм цинку перевищує фоновий в 1,5-2 рази. Вміст рухомих форм цинку перевищує ГДК в 3,5–4 рази (табл. 4).

Таблиця 4

Вміст важких металів у ґрунті

| Варіанти досліджу | ZnSO ₄ ·7H ₂ O | | CuSO ₄ ·5H ₂ O | |
|-------------------|--------------------------------------|----------------|--------------------------------------|----------------|
| | мг/кг | K _c | мг/кг | K _c |
| 10 МДК | 82 | 1,32 | 58,8 | 2,53 |
| 5 МДК | 73,2 | 1,18 | 46,1 | 1,98 |
| 1 МДК | 65 | 1,04 | 29,4 | 1,26 |
| Контроль | 62 | - | 23,2 | - |

Коефіцієнт концентрації K_c у всіх варіантах експерименту перевищував одиницю і коливався в межах 1,0–2,6. Забруднення ґрунту цинком впливає на вміст та розподіл міді. При збільшенні концентрації цинку в ґрунті, збільшується вміст міді (рис 11).

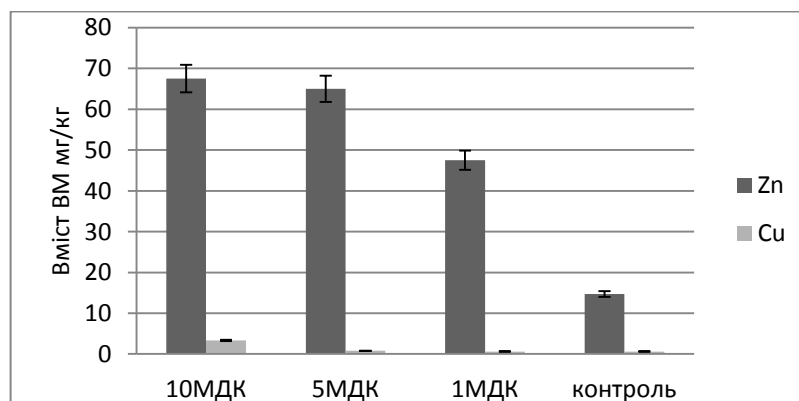


Рис. 11. Вміст рухомих (Zn²⁺ та Cu²⁺) в ґрунті із внесенням сульфату цинку

За дії солей міді (10 МДК) вміст іонів цинку зменшується. Максимальний вміст Zn^{2+} в ґрунті було відмічено за концентрації 5 МДК $CuSO_4 \cdot 5H_2O$. Аналіз зразків ґрунту виявив, що вміст досліджених важких металів у ґрунтах перевищує фонові (рис. 12).

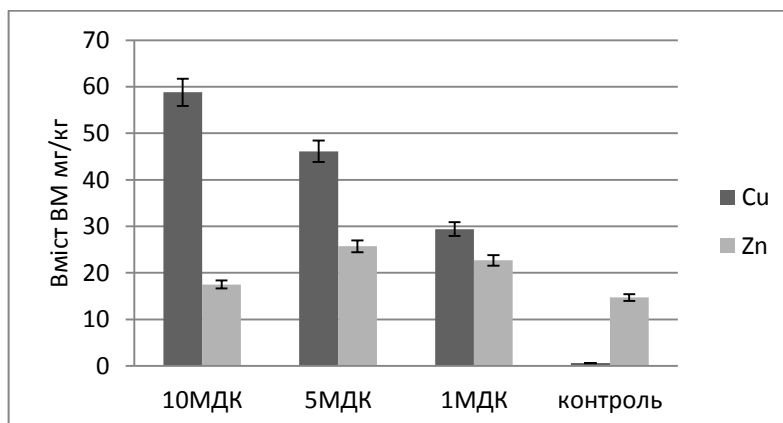


Рис. 12. Вміст рухомих (Zn^{2+} та Cu^{2+}) в ґрунті із внесенням сульфату міді

Вміст важких металів (Zn^{2+} та Cu^{2+}) в рослинах *Trifolium pratense* L.

Дослідження вмісту важких металів у рослинній сировині в залежності від валового в ґрунті не завжди відображують реальну міграційну рухомість в ланцюзі ґрунт-рослина, що пов'язане з наявністю різних форм елементів, що мають різну силу зв'язку та по різному поглинаються рослинами. Для більшої точності оцінок використовують коефіцієнти нагромадження в залежності від рухомої форми елементів. Проте внаслідок дії ґрунтових мікроорганізмів, процесів розкладання гумусу та рослинних решток, кислотністю атмосферних опадів, вилужування тощо баланс між розчинною і нерозчинною формами елементів може суттєво змінюватися як за роками, так і протягом вегетаційного періоду. Врахування цих чинників значно ускладнює проведення експерименту, тому використання валового вмісту може слугувати для оцінки загальної тенденції цих процесів. Надходження цинку в рослини супроводжувалось зменшенням вмісту міді (рис. 13).

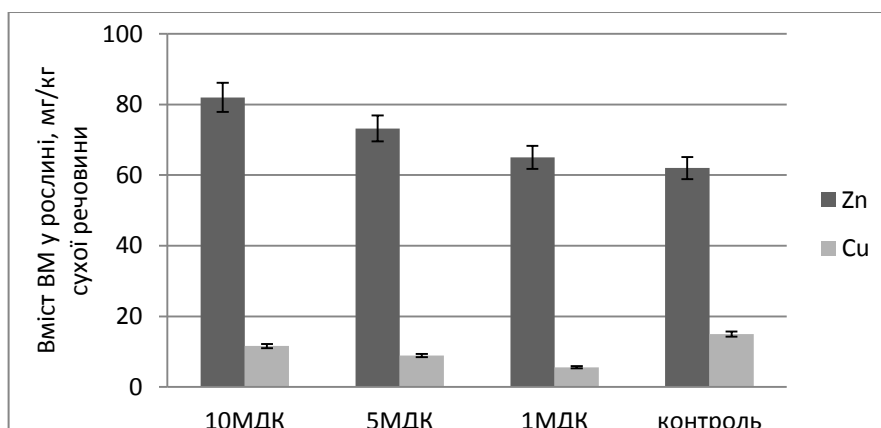


Рис. 13. Вміст Zn^{2+} та Cu^{2+} у рослині із внесенням сульфату цинку

Вміст Zn^{2+} в рослинах конюшини лучної в контрольному варіанті становив 62 мг/кг сухої речовини. При перевищенні 1 МДК солей цинку кількість металу перевищувала значення в контролі в 1,5 рази (рис. 14).

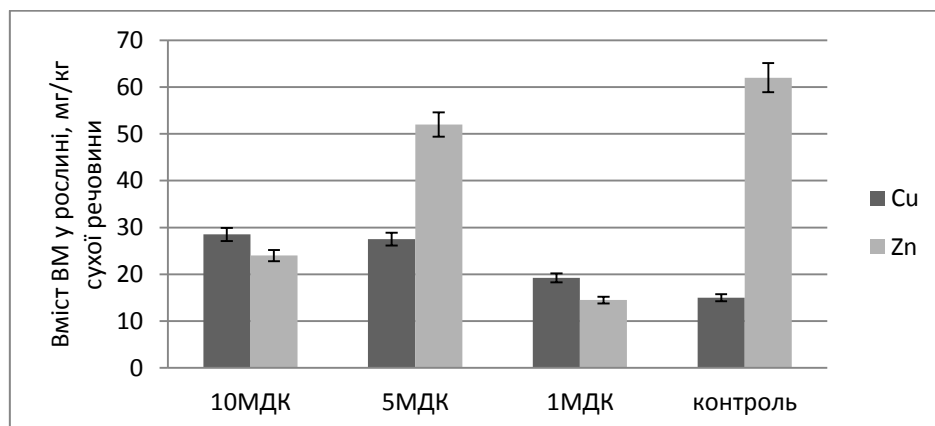


Рис. 14. Вміст Zn^{2+} та Cu^{2+} у рослині із внесенням сульфату міді

За дії солей міді особливо при 5 МДК вміст цинку зростає. Зниження вмісту Zn^{2+} за дії Cu^{2+} спостерігали при 1МДК.

Акумуляція важких металів у органах *Trifolium pratense* L.

При дослідженні нагромадження цинку рослинами конюшини ми виявили здатність рослин акумулювати досить значні кількості цього токсичного іону. При цьому спостерігається неоднаковий вміст цинку в надземній та підземній частинах. Найбільше він накопичується в корені та листках, порівняно з пагоном (табл. 5).

Таблиця 5

Вміст цинку в органах конюшини лучної

| Варіанти досліджу | Вміст в рослині, мг/кг | | | | | | | | |
|-------------------|------------------------|-------|----------|--------|-------|----------|--------|-------|----------|
| | корінь | | | стебло | | | листок | | |
| | мг/кг | K_c | $K_{бп}$ | мг/кг | K_c | $K_{бп}$ | мг/кг | K_c | $K_{бп}$ |
| 10 МДК | 128,6 | 5,35 | 1,56 | 62,5 | 4,92 | 0,76 | 110 | 5,32 | 1,34 |
| 5 МДК | 105,2 | 4,33 | 1,43 | 49,7 | 3,91 | 0,68 | 96 | 4,64 | 1,31 |
| 1 МДК | 56 | 2,3 | 0,86 | 25 | 1,96 | 0,38 | 47 | 2,27 | 0,72 |
| Контроль | 24,3 | - | 0,36 | 12,7 | - | 0,19 | 20,67 | - | 0,33 |

Важливим показником в оцінці біогенної міграції елементів є коефіцієнт біотичного поглинання (Козловський, Романюк, 2005). Коефіцієнт біологічного поглинання $K_{бп}$ свідчить, що органи конюшини лучної мають різні захисні властивості щодо поглинання Zn^{2+} . Zn^{2+} інтенсивно накопичували корінь та листок при концентрації 5–10 МДК – $K_{бп} > 1$, найменш інтенсивно – стебло, у всіх варіантах експерименту $K_{бп} < 1$ (табл.6). Нами встановлено, що при збільшенні концентрації елементів в ґрунті їх концентрація в рослині зростає до певної межі, а при низьких концентраціях зростає лінійно. Так, за концентрації цинку в ґрунті (1, 5, 10 МДК) його вміст у коренях зростає в 2–3, а в надземній частині – в 1,5–2 рази. Із

літературних джерел відомо, що ріст коренів є більш чутливим до дії важких металів у порівнянні з ростом пагонів (Алексеева-Попова, 1991; Серегин, Иванов, 1997). Це пояснюється тим, що важкі метали у більшості видів рослин накопичуються саме в коренях. Таким чином наші отримані дані узгоджуються з результатами досліджень інших авторів.

Результати наших досліджень свідчать, що головним органом накопичення міді є корені. Коефіцієнт біологічного поглинання міді з ґрунту – у межах 1,03–1,51 виявлено за дії всіх концентрацій (табл. 6).

Таблиця 6

Вміст міді в органах конюшини лучної

| Варіанти досліджу | Вміст в рослині, мг/кг | | | | | | | | |
|-------------------|------------------------|----------------|-----------------|--------|----------------|-----------------|--------|----------------|-----------------|
| | корінь | | | стебло | | | листок | | |
| | мг/кг | K _c | K _{бп} | мг/кг | K _c | K _{бп} | мг/кг | K _c | K _{бп} |
| 10 МДК | 89 | 3,7 | 1,51 | 52,5 | 2,18 | 0,89 | 76 | 3,16 | 1,29 |
| 5 МДК | 66,5 | 2,77 | 1,44 | 28,7 | 1,18 | 0,62 | 45 | 1,87 | 0,97 |
| 1МДК | 25,6 | 1,06 | 1,02 | 12,3 | 0,51 | 0,42 | 24,6 | 1,02 | 0,83 |
| Контроль | 24,3 | - | 1,03 | 12 | - | 0,51 | 20,7 | - | 0,89 |

Значно менше іонів у стеблах рослин конюшини $K_{бп} < 1$. Листки конюшини накопичували мідь у межах 0,89–1,29.

Низькі значення коефіцієнтів біологічного поглинання свідчать про низький рівень нагромадження елементів у ґрунті. Високі значення коефіцієнтів біотичного поглинання, свідчать про значний потенціал ґрунтів дослідження до самоочищення і, водночас, про загрозу накопичення у рослинах, що за критичних рівнів забруднення становить безпосередню небезпеку для нормального функціонування рослинного покриву. Отримані нами дані (табл.5-6) показують, що в коренях накопичується значно більше металу, ніж у пагонах.

Розподіл іонів цинку та міді у тканинах *Trifolium pratense* L.

Проведені нами дослідження виявили дитизонати ВМ у малих кількостях у коренях, клітинних стінках ризодерми і в шарах паренхіми (рис. 15. а, б).

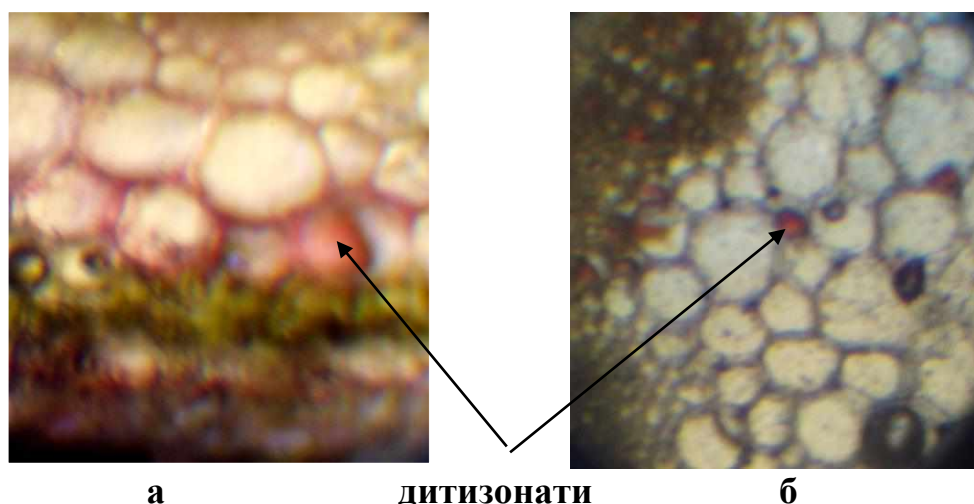


Рис. 15. а, б. Локалізація іонів Zn в коренях рослин *Trifolium pratense* L.

Показано, що Zn^{2+} проникає тільки через два-три шари клітин від поверхні зрізу (Серегин, 2009). У паренхімних клітинах усіх зон кореня також спостерігали відклади дитизонатів, але переважно в середині клітин. У контролі реакція з дитизоном була негативною. Встановлено, що у пагонах, порівняно з коренем, цинк локалізувався в провідній тканині, в епідермісі (16. а, б). Накопичення металу було досить низьким.

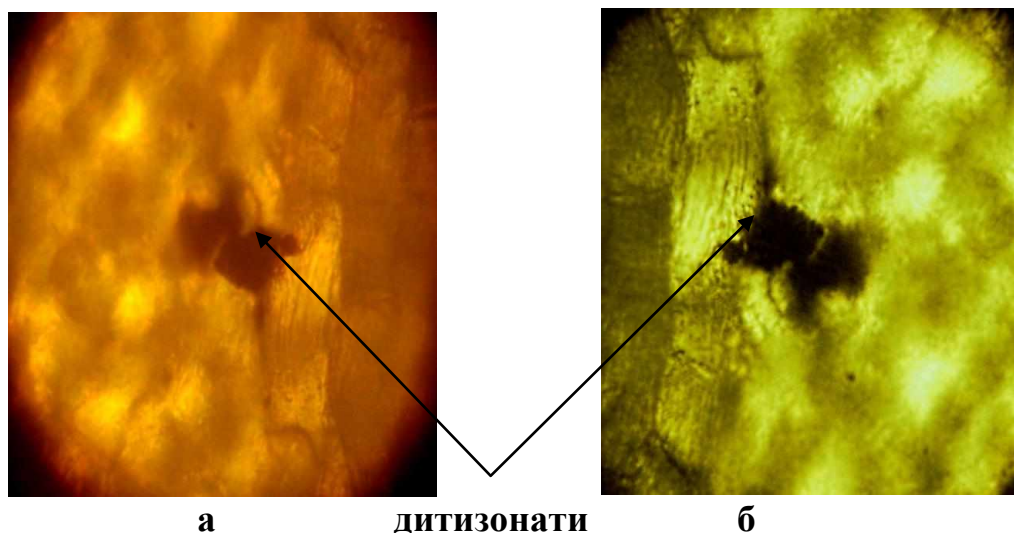


Рис. 16. а, б. Локалізація іонів Zn^{2+} в пагонах рослин *Trifolium pratense* L.

Червоно-бурий колір виявляли в окремих клітинах листкової пластинки, які втратили хлорофіл, або зазнали незначних морфо-фізіологічних змін (рис. 17. а, б).

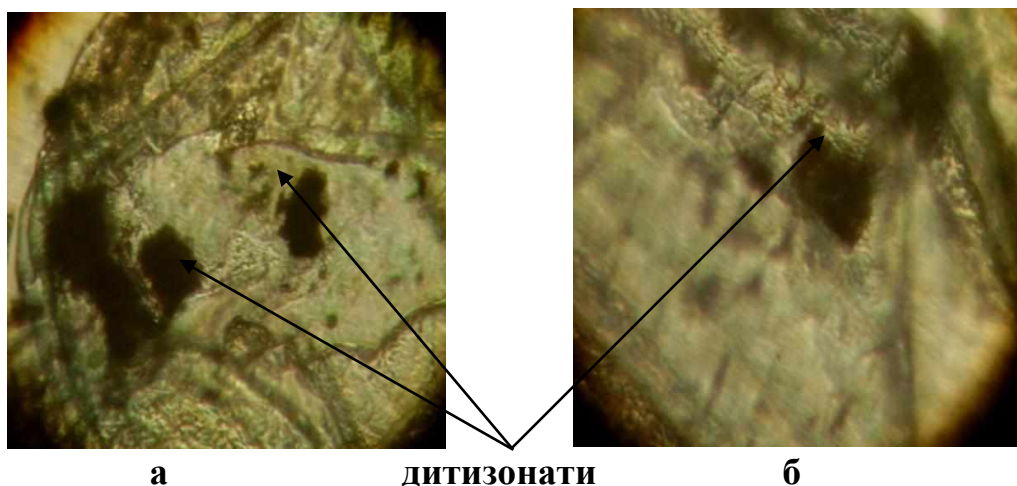


Рис. 17. а, б. Локалізація іонів Zn^{2+} в листках рослин *Trifolium pratense* L.

Це можна пояснити тим, що корені були занурені у водний розчин і тому цинк безпосередньо впливав на них. Тому реакція з дитизоном у коренях була більш виражена, ніж у пагонах. Гістохімічні дослідження показали, що Zn^{2+} розподіляється в листках нерівномірно. Поодинокі гранули дитизонатів виявлені в ксилемі.

За дії Cu^{2+} вже через 5 хв. від початку експерименту виявили червоне забарвлення комплексу катіонів з дитизоном (дитизонати) в коренях. Відомо, що максимальна кількість ВМ накопичується в коренях, бо на межі корінь-стебло існує

фізіологічний бар'єр, який пропускає до надземних частин лише невелику їх кількість, що надійшла до кореня (Серегин, Иванов, 1997). В усіх варіантах експерименту нами відмічено локалізацію важких металів у стеблі. Незалежно від рівня забруднення метал-дитизонатні комплекси ми спостерігали переважно в серцевинній паренхімі і ксилемі (рис. 18. а, б.).

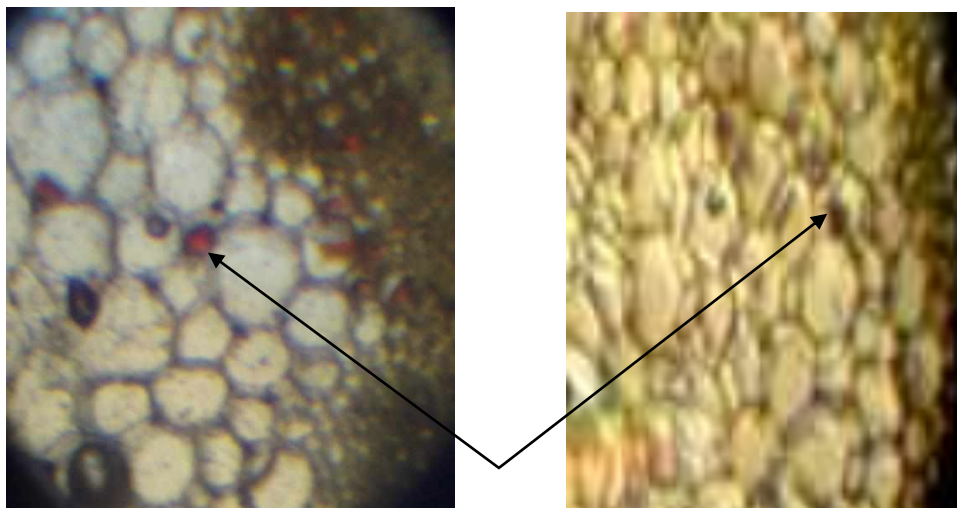
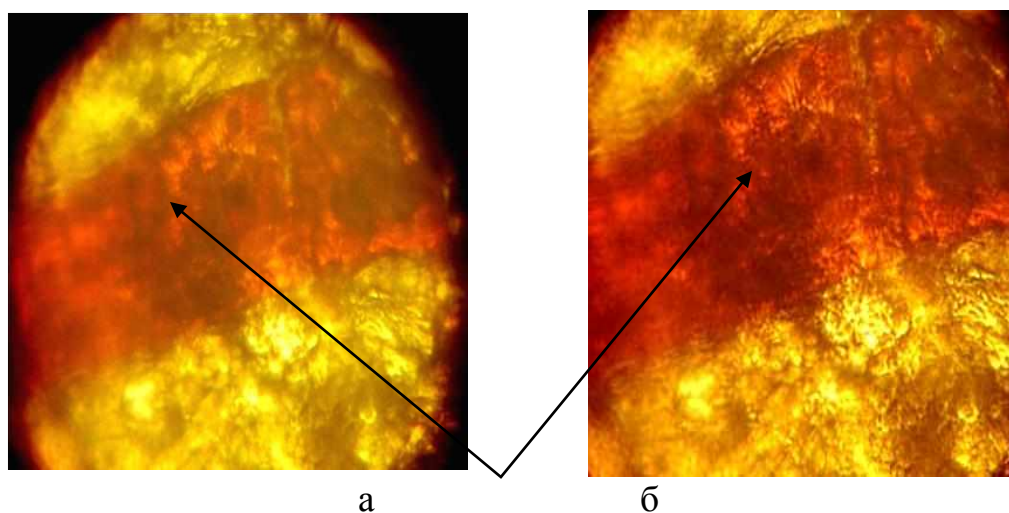


Рис. 18. а, б. Локалізація іонів Cu^{2+} в коренях *Trifolium pratense* L.

Усі зрізи стебла конюшини мали метал-дитизонатні комплекси. Відомо (Серегин, 2001; Wujcik, Tukiendorf, 1999), що такі забарвлені комплекси зосереджуються, головним чином, на зовнішній поверхні клітинної оболонки, вздовж її внутрішньої поверхні та безпосередньо всередині клітинної оболонки, що підтвердили і результати наших досліджень (рис. 19 а, б).



а

б

дитизонати

Рис. 19. а, б. Локалізація іонів Cu^{2+} в пагонах рослин *Trifolium pratense* L.

Вибіркове поглинання Cu^{2+} відбувалося переважно листками. Червоні відклади дитизонатів були виявлені в паренхімі та покривній тканині. Гістохімічна локалізація важких металів у тканинах надземних пагонів за допомогою дитизону дозволила виявити відмінності у рівнях їх акумуляції. Інтенсивність забарвлення

свідчить про кількість іонів важких металів у відкладах. Найвища концентрація іонів ВМ спостерігалась у покривних тканинах кореня і пагона (рис. 20 а,б).

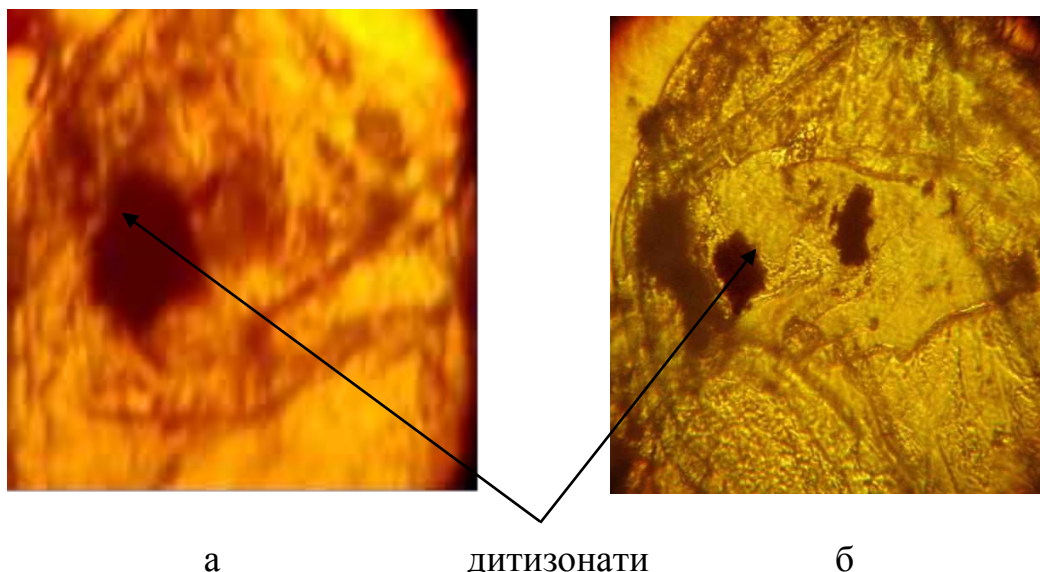


Рис. 20. а, б. Локалізація іонів Cu^{2+} в листках рослин *Trifolium pratense* L.

Шляхи запобігання прояву токсичної дії ВМ на *Trifolium pratense* L.

Конюшина активно поглинає і накопичує ВМ як в зеленій масі, так і в насінні, що насамперед пов'язано з доброю забезпеченістю азотними сполуками, що відбивається на високому вмісті білку, який зв'язує рухомі форми ВМ, які надходять по ксилемі (Бойко та ін., 2008). Встановлено, що при внесенні в ґрунт кальцію важкі метали (мідь та цинк) переходять у малорухомий стан. На важких ґрунтах рослини поглинають поллютанти значно менше, ніж на легких. Поглинання рослинами ВМ мінімальне при рН близько 6,5, при закисненні, або залуженні ґрунтів, поглинання токсичних речовин збільшується.

Підбираючи найбільш придатні для використання в фітореMediaції забруднених ділянок рослини, треба враховувати два фактори: толерантність різних видів та сортів до високих концентрацій ВМ, та коефіцієнти нагромадження ними ВМ в різних частинах. Всім цим вимогам відповідає конюшина лучна.

ВИСНОВКИ

Вперше проведено комплексні дослідження впливу різних концентрацій важких металів (Zn^{2+} та Cu^{2+}) на рослини *Trifolium pratense* L., запропоновано низку показників, за якими можна встановлювати рівень забруднення ґрунтів важкими металами та розроблені рекомендації з мінімізації шкідливого впливу підвищеного вмісту важких металів у ґрунті.

1. За низьких концентрацій цинк і мідь проявляли значний стимулюючий ефект, а негативний вплив спостерігався тільки за перевищення 5 МДК -500мг/кг для Cu^{2+} та 1500мг/кг для Zn^{2+} . Найбільші зміни довжини пагонів та коренів проростків конюшини виявлені за умов впливу іонів цинку. Незначні зміни біометричних показників відбувалися при дії іонів міді.

2. Зміни кількісних характеристик пігментної системи конюшини лучної відзначаються більшою толерантністю до дії ВМ, не виявляють чіткої залежності доза–ефект і настають тільки після досягнення певного критичного навантаження.

3. При концентраціях до 100 мг/кг Cu^{2+} -300мг/кг Zn^{2+} спостерігається лінійна залежність між акумуляцією ВМ у рослинах та їх концентрацією у ґрунті. При досягненні рівня забруднення ВМ 5-10 МДК змінюється характер накопичення металів – гальмується надходження елементів у рослину, що відбивається на змінах морфологічних показників рослини.

4. Встановлено, що при збільшенні концентрації елементу в ґрунті його концентрація в рослині зростає до певної межі, а при низьких концентраціях зростає лінійно. Так, при концентрації цинку в ґрунті 1(300мг/кг) 5(1500мг/кг), 10(3000мг/кг) МДК вміст ВМ в коренях зростає в 2-3, в надземній частині в 1,5-2 рази. Коефіцієнти біологічного поглинання свідчать, що Zn^{2+} інтенсивно накопичували корінь та листок при концентрації 5-10 МДК - $K_{\text{бп}} > 1$, найменш інтенсивно – стебло, у всіх варіантах експерименту $K_{\text{бп}} < 1$. Результати наших досліджень за дії солей міді свідчать, що головним органом накопичення Cu^{2+} є корені. Коефіцієнт біологічного поглинання міді з ґрунту – у межах 1,03–1,51 виявлено за дії всіх концентрацій. Значно менше іонів у стеблах рослин конюшини $K_{\text{бп}} < 1$. Листки конюшини накопичували мідь у межах 0,89–1,29.

5. Використання дитизону для визначення вмісту та розподілу іонів цинку та міді в тканинах *Trifolium pratense* L. забезпечує швидкий та ефективний спосіб аналізу вмісту полутантів у живих організмах, який можна застосовувати для попередньої оцінки нагромадження важких металів у рослині, а їх кількісний вміст визначати методом атомно-абсорбційного аналізу. З'ясовано, що Цинк в основному нагромаджується в тканинах коренів та листків; Мідь активніше поглинається коренями і активно переміщується у пагони.

6. Виявлені чіткі дозо-залежні симптоми змін морфологічної будови листової пластинки при забрудненні ґрунтів Cu^{2+} і Zn^{2+} дозволяють рекомендувати посіви *Trifolium pratense* L. в ролі багаторічного біоіндикатора в системі моніторингу забруднення навколишнього середовища ВМ.

СПИСОК ОСНОВНИХ ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

У виданнях, які включені до міжнародних наукометричних баз даних:

1. Denchylia-Sakal, H. M., Gandzyura, V. P., Kolesnyk, A. V. (2019). Accumulation of zinc and copper compounds and their effect on assimilation system in *Trifolium pratense* L. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(3), 247–254. doi:10.15421/2019_86 (Web of Science) (особистий внесок: опрацювання літератури, збирання та обробка фактичного матеріалу, написання статті).

Публікації у наукових фахових виданнях України

2. Денчиля-Сакаль, Г. М., Ніколайчук, В. І. (2010). Локалізація кадмію в органах і тканинах *Trifolium pratense* L. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 28, 87–89. (особистий внесок: опрацювання літератури,

моделювання експериментів, збір та аналіз отриманих результатів, написання статті).

3. Денчиля-Сакаль, Г. М., Ніколайчук, В. І. (2011). Вплив солей міді на проростання насіння *Trifolium pratense* L. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 30, 175–177. (особистий внесок: опрацювання літератури, моделювання експериментів, збір та аналіз отриманих результатів, написання статті).
4. Денчиля-Сакаль, Г. М., Ніколайчук, В. І., Терек, В. О. (2010). Мікроклональне розмноження *Trifolium pratense* L. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 28, 209–213. (особистий внесок: опрацювання літератури, моделювання експериментів, збір та аналіз отриманих результатів, написання статті).
5. Вакерич, М. М., Ніколайчук, В. І., Денчиля-Сакаль, Г. М., Гасинець, Я. С., Ткач, О. П. (2011). Протекторний ефект хлориду натрію при адаптації рослин до надлишку сульфату купруму. *Вісник Дніпропетровського університету: Біологія. Екологія*, 19(2), 19–24. (особистий внесок: опрацювання літератури, моделювання досліджень, збір та інтерпретація отриманих результатів).
6. Денчиля-Сакаль, Г. М., Ніколайчук, В. І., Колесник, А. В., Вакерич, М. М. (2012). Реакція рослин конюшини на забруднення ґрунту солями цинку. *Вісник Дніпропетровського університету: Біологія. Екологія*, 20(2), 8–24 (особистий внесок: опрацювання літератури, виконання практичних досліджень, аналіз результатів, написання статті).
7. Денчиля-Сакаль, Г. М., Ніколайчук, В. І., Колесник А. В., Вакерич, М. М., Ткач, О. П. (2012). Особливості акумуляції важких металів в рослинах *Trifolium pratense* L. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 33, 189–191. (особистий внесок: опрацювання літератури, виконання практичних досліджень, аналіз результатів, написання статті).

Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

8. Ніколайчук, В. І., Колесник, А. В., Кривцова, М. В., Денчиля, Г. М. (2007). Деякі аспекти дії важких металів у трофічному ланцюгу ґрунт – рослина – тварина. *Сучасні проблеми фізіології та інтродукції рослин: Матеріали Всеукраїнської конференції до 80-річчя професора Л.Г. Долгової*. (С. 96 – 97). Дніпропетровськ: ДНУ. (особистий внесок: виконання експериментальних досліджень).
9. Денчиля-Сакаль, Г. М., Колесник, А. В. (2008). Вплив солей міді на проростання насіння конюшини лучної. *Проблеми збереження біорізноманіття Українських Карпат: Матеріали регіональної конференції молодих вчених та студентів*. (С. 112–113). Ужгород. (особистий внесок: проведено постановку задачі дослідження, виконання практичних досліджень та аналіз результатів).
10. Денчиля-Сакаль, Г. М., Вакерич, М. М. (2008). Вплив іонів свинцю і кадмію на проростання та розвиток *Trifolium pratense* L. *Сучасні проблеми інтродукції та акліматизації рослин: Тези доповідей Міжнародної науково-практичної конференції*. (С. 40–42). Дніпропетровськ. (особистий внесок: проведено аналіз літературних джерел, моделювання досліджень, збір та аналіз отриманих

результатів).

11. Денчиля-Сакаль, Г. М. (2008). Особливості мікророзмноження *Trifolium pratense* L. Охорона та раціональне використання природних ресурсів Українських Карпат: Тези доповідей регіональної науково-практичної конференції. (С. 37–38). Ужгород.
12. Денчиля-Сакаль, Г. М. (2009). Стресові реакції рослин родини (Fabaceae) на забруднення ґрунтів солями цинку. *Проблеми збереження біорізноманіття Українських Карпат*: Матеріали регіональної конференції молодих вчених та студентів. (С. 76–77). Ужгород.
13. Денчиля-Сакаль, Г. М., Вакерич, М. М. (2009). Вплив солей заліза на проростання насіння конюшини лучної. *Фундаментальні та прикладні дослідження в біології*: Матеріали Міжнародної наукової конференції. (С. 228–229). Донецьк. (особистий внесок: проведено аналіз літературних джерел, моделювання досліджень, збір та аналіз отриманих результатів).
14. Денчиля-Сакаль, Г. М., Орос, М. Н. (2010). Морфогенез та особливості мікророзмноження *Trifolium pratense* L. *Проблеми збереження біорізноманіття Українських Карпат*: Матеріали регіональної конференції молодих вчених та студентів. (С. 77) Ужгород. (особистий внесок: проведено аналіз літературних джерел, моделювання досліджень, збір та аналіз отриманих результатів).
15. Денчиля-Сакаль, А. М., Вакерич, М. М. (2010). Локалізація іонів кадмія в тканинх *Trifolium pratense* L. *Біологія – наука ХХІ века*: Тези докладов 14-Международной Пушинской школы-конференции молодых ученых. Том 2, (С.25–26). Пушино. (особистий внесок: проведено аналіз літературних джерел, моделювання досліджень, збір та аналіз отриманих результатів).
16. Денчиля-Сакаль, Г. М., Вакерич, М. М. (2010). Вплив важких металів на асиміляційний апарат конюшини лучної. *Біологія: від молекули до біосфери*. Матеріали V Міжнародної конференції молодих науковців (С. 259–260). Харків. (особистий внесок: проведено аналіз літературних джерел, моделювання досліджень, збір та аналіз отриманих результатів).
17. Денчиля-Сакаль, Г. М., Вакерич, М. М. (2011). Механізми стійкості рослин до впливу важких металів та їх сполук. *Регуляція росту і розвитку рослин: Фізіолого-біохімічні і генетичні аспекти*: Матеріали міжнародної наукової конференції (С. 97). Харків. (особистий внесок: проведено огляд літературних джерел за тематикою та їх опрацювання).
18. Ніколайчук, В. І., Вакерич, М. М., Денчиля-Сакаль, Г. М. (2011). Похідні циклу нікотинаміду як регулятори фітоактивності важких металів. *Екзо- та ендоекологічні аспекти здоров'я людини*: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції. (413–415). Ужгород. (особистий внесок: проведено аналіз літературних джерел, моделювання досліджень, збір та аналіз отриманих результатів).
19. Денчиля-Сакаль, Г. М., (2012). Акумуляція іонів цинку та міді конюшиною лучною. *Проблеми збереження біорізноманіття Українських Карпат*: Матеріали регіональної конференції молодих вчених та студентів. (С. 72). Ужгород.
20. Денчиля-Сакаль, Г. М. (2016). Міграція та накопичення важких металів у

грунті і рослинах *Trifolium pratense* L. *Сучасні аспекти збереження здоров'я людини*: Збірник праць ІХ міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції. (С. 388). Ужгород.

21. Денчиля-Сакаль, Г. М., Канюк, Р. В. (2017). Накопичення важких металів у рослинах конюшини. *Проблеми збереження біорізноманіття Українських Карпат*: Матеріали регіональної конференції молодих вчених та студентів. (С. 116–117). Ужгород: ПП «АУТДОР -ШАРК». (особистий внесок: проведено моделювання експериментів, збір та аналіз отриманих результатів).
22. Денчиля-Сакаль, Г. М. (2018). Вплив ВМ на пластидний апарат *Trifolium pratense* L. *Пермакультура та екологічно-безпечне землеробство*: Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. (С. 59–61). Ужгород: Вид-во УжНУ. «Говерла».
23. Денчиля-Сакаль, Г. М., Голік, В. В. (2019). Особливості нагромадження іонів цинку рослинами *Trifolium pratense* L., вирощеної в умовах забруднення цим металом ґрунту. *Проблеми збереження біорізноманіття Українських Карпат*: Матеріали регіональної конференції молодих вчених та студентів. (С. 43–44). Ужгород: ДВНЗ «УжНУ». (особистий внесок: проведено моделювання експериментів, збір та аналіз отриманих результатів).

АНОТАЦІЯ

Денчиля-Сакаль Г. М. Фітотоксикологічна оцінка рівня забруднення ґрунту Zn^{2+} та Cu^{2+} за реакціями *Trifolium pratense* L. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.16 «Екологія». – Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро, 2021.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню впливу важких металів на рослини *Trifolium pratense* L., їх акумуляцію та локалізацію на різних рівнях організації рослинного організму та з'ясуванню можливості діагностики рівня забруднення ґрунтів важкими металами за реакціями *Trifolium pratense* L. Встановлено вплив Zn^{2+} та Cu^{2+} на морфо-фізіологічні показники конюшини лучної. За 5-10 МДК спостерігається істотне пригнічення, а стимулювання проростання проявлялось за дії 1 МДК. Встановлено суттєву різницю між впливом іонів цинку та міді на ростові параметри конюшини. Найбільші зміни довжини пагонів та коренів проростків виявлені за впливу іонів цинку. Установлено експресними методами вплив ВМ на розвиток асиміляційної поверхні рослин та вміст хлорофілу. Максимальна кількість хлорофілу $a+v$ спостерігається в період бутонізації. Найнижчі показники хлорофілів $a+v$ у контролі та під час цвітіння. З'ясовано особливості міграції та акумуляції ВМ в системі ґрунт-рослин. Проаналізовано процеси нагромадження іонів Zn^{2+} та Cu^{2+} в різних органах рослин *Trifolium pratense* L. за змодельованих рівнів забруднення ґрунту цими важкими металами. За концентрації цинку в ґрунті 1, 5, 10 МДК, його вміст в коренях зростає в 2, 3, в надземній частині в 1,5-2 рази. З'ясовані особливості поглинання та тканинного розподілу Zn^{2+} і Cu^{2+} в різних органах рослин, зокрема показано, що Цинк в основному нагромаджується в тканинах коренів та листків; Мідь активніше поглинається коренями і активно

переміщується у пагони. Встановлено, що при внесенні в ґрунт кальцію важкі метали (мідь та цинк) переходять у малорухомий стан. Поглинання ВМ мінімальне при рН 6,5, при закисненні, або залуженні ґрунтів поглинання ВМ збільшується. Виявлені чіткі дозо-залежні симптоми змін морфологічної будови листової пластинки при забрудненні ґрунтів Cu^{2+} і Zn^{2+} дозволяють рекомендувати посіви *Trifolium pratense* L. в ролі багаторічного біоіндикатора забруднення навколишнього середовища ВМ.

Ключові слова: забруднення ґрунтів важкими металами, конюшина лучна (*Trifolium pratense* L.), цинк, мідь, акумуляція, локалізація.

АННОТАЦИЯ

Денчиля-Сакаль А. М. Фитотоксикологическая оценка уровня загрязнения почвы Zn^{2+} и Cu^{2+} по реакциям *Trifolium pratense* L. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.16 «Экология». – Днепровский национальный университет имени Олеся Гончара», Днепр, 2021.

Диссертационная работа посвящена исследованию влияния тяжелых металлов на растения *Trifolium pratense* L., их аккумуляцию и локализацию на разных уровнях организации растительного организма и выяснению возможности диагностики уровня загрязнения почв тяжелыми металлами за реакциями *Trifolium pratense* L. Установлено влияние Zn^{2+} та Cu^{2+} на морфо-физиологические показатели клевера лугового. В зависимости от их концентрации наблюдается различное влияние на прорастания семян. Концентрации 5-10 МДК вызывают сильное угнетение, а стимулирование прорастания проявлялось при концентрации 1 МДК. Максимальные изменения длины побегов и корней проростков были при воздействии ионов цинка. Максимальное количество хлорофилла $a+b$ наблюдается в период бутонизации. Низкие суммарные показатели хлорофиллов $a+b$ в контроле нами наблюдались во время цветения. При концентрации цинка в почве (1, 5, 10 МДК,) его содержание в корнях возрастает в 2, 3, в надземной части в 1,5-2 раза. Установлено, что при внесении в почву кальция тяжелые металлы (медь и цинк) переходят в малоподвижное состояние. Поглощение минимальное при рН 6,5, при закислении или защелачивании почв поглощение ТМ увеличивается. Установленные четкие дозо-зависимые симптомы изменений морфологического строения листовой пластинки при загрязнении почвы Cu^{2+} и Zn^{2+} позволяют рекомендовать посевы *Trifolium pratense* L. в качестве многолетнего биоиндикатора загрязнения внешней среды ТМ.

Ключевые слова: загрязнения почв тяжелыми металлами, клевер луговой (*Trifolium pratense* L.), тяжелые металлы, цинк, медь, аккумуляция, локализация.

SUMMARY

Denchylya-Sakal H. M.– Phytotoxicological assessment of Zn^{2+} and Cu^{2+} soil contamination by reactions of *Trifolium pratense* L. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The thesis submitted for a dissertation on competition of a scientific degree of the candidate of biological sciences in specialty 03.00.16 «Ecology». – Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, 2021.

The dissertation is devoted to the research of the influence of Zn^{2+} and Cu^{2+} on the morpho-physiological parameters of meadow clover. It is shown that depending on the concentration of sulfuric acid salts, different effects on seed germination energy are observed. Concentrations of 5-10 MPC cause severe suppression. Stimulation of germination energy was manifested at a concentration of 1 MPC. It is established that there is a significant difference between the influence of zinc and copper ions on the growth parameters of clover plants. The largest changes in the length of shoots and roots of clover seedlings were found under the influence of zinc ions. Minor changes in biometric parameters occurred under the action of copper ions.

The seasonal dynamics of chlorophyll content in meadow clover leaves has been studied: the maximum amount of chlorophyll $a+b$ is observed during budding, when all leaves have developed and the plant is actively preparing for the successful implementation of the most important life strategy - generative reproduction. The lowest total values of chlorophyll $a+b$ in our control were observed during flowering and fruiting.

With increasing concentration of the element in the soil, their concentration in the plant increases to a certain limit, and at low concentrations increases linearly. Thus, when the concentration of zinc in the soil 1, 5, 10 MPC, its content in the roots increases by 2, 3, in the aboveground part of 1,5-2 times. It was found that the higher the content of humus in the soil, the lower the toxic effect of heavy metals. In the presence of calcium, most heavy metals (copper, zinc) become immobile, the mobility. The uptake of HM by plants is minimal at a pH of about 6,5, with the acidification or leaching of soils, the uptake of HM increases. The revealed clear dose-dependent symptoms of changes in the morphological structure of the leaf blade during soil contamination with Cu^{2+} and Zn^{2+} allow us to recommend crops of *Trifolium pratense* L. as a perennial bioindicator of HM environmental pollution.

Keywords: soil contamination with heavy metals, meadow clover (*Trifolium pratense* L), heavy metals, zinc, copper, accumulation, localization.

Підписано до друку: 22.12.2020
Формат 60x84/16. Умовн. друк. арк. 1,62. Зам. №81. Наклад 100 прим.
Видавництво УжНУ «Говерла»
88000, м. Ужгород, вул. Капітульна, 18. E-mail: hoverla@i.ua

*Свідоцтво про внесення до державного реєстру видавців, виготівників і
розповсюджувачів видавничої продукції –
Серія 3т № 32 від 31 травня 2006 року*