

ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ДЕНЧИЛЯ-САКАЛЬ ГАННА МИХАЙЛІВНА

УДК 58.086:546.48:582.736.3

ДИСЕРТАЦІЯ

ФІТОТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ

Zn²⁺ ТА Cu²⁺ ЗА РЕАКЦІЯМИ *TRIFOLIUM PRATENSE* L.

03.00.16 – екологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів має посилання на відповідне джерело

_____ Г. М. Денчиля-Сакаль

Науковий керівник: Гандзюра Володимир Петрович,
доктор біологічних наук, професор

Дніпро – 2021

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. Досліджено вплив солей цинку та міді на морфо-фізіологічні показники *Trifolium pratense* L. Установлено експресними методами вплив ВМ на розвиток асиміляційної поверхні рослин та вміст хлорофілу. З'ясовано особливості міграції та акумуляції ВМ в системі ґрунт-рослина. Проаналізовано процеси нагромадження іонів Zn^{2+} та Cu^{2+} в різних органах рослин *Trifolium pratense* L. за змодельованих рівнів забруднення ґрунту цими важкими металами. Визначено локалізацію ВМ в тканинах і системах органів рослин *Trifolium pratense* L. Встановлено шляхи запобігання прояву токсичної дії ВМ на рослини *Trifolium pratense* L. Запропоновано оцінку рівня забруднення ґрунтів важкими металами за реакціями *Trifolium pratense* L.

У дисертації проведено огляд і аналіз робіт вітчизняних та закордонних учених, що стосуються проблеми екологічної оцінки рівня забруднення ґрунту Zn^{2+} та Cu^{2+} . На підставі аналізу літературних джерел висвітлено особливості міграції та акумуляції важких металів в системі ґрунт-рослина.

У роботі застосовано методи комплексних екологічних фізіолого-біохімічних досліджень, ІСР та ААС-спектроскопія, лабораторні та натурні

експерименти, стандартні статистичні методи з використанням пакетів програми «Microsoft Excel, 2010».

Проведено комплексні дослідження з визначення впливу (Zn^{2+} та Cu^{2+}) на рослини *Trifolium pratense* L. Уперше отримано дані щодо впливу солей цинку та міді на проростання насіння та ріст проростків конюшини лучної. Показано, що в залежності від концентрації сірчаноокислих солей спостерігається різний вплив на проростання насіння. Концентрації 5–10 МДК спричиняють пригнічення. Стимулювання проростання проявлялось за концентрації 1 МДК. Встановлено суттєву різницю між впливом іонів цинку та міді на ростові параметри рослин конюшини. Максимальні зміни довжини пагонів та коренів проростків конюшини виявлені за умов впливу іонів цинку. Незначні зміни біометричних показників відбувалися за дії іонів міді.

Встановлено зміни площі листової поверхні *Trifolium pratense* L. за різного рівня забруднення ґрунту цинком та міддю: зі зростанням їх концентрації в ґрунті площа листових пластинок зменшується. Максимальні 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 кількості пагонів на 1 рослину. Виявлені чіткі дозо-залежні симптоми змін морфологічної будови листової пластинки при забрудненні ґрунтів Cu і Zn дозволяють рекомендувати посіви *Trifolium pratense* L. в ролі багаторічного біоіндикатора забруднення навколишнього середовища ВМ.

З'ясовано сезонну динаміку вмісту хлорофілів у листках конюшини лучної: максимальна кількість хлорофілу $a+v$ спостерігається в період бутонізації, коли розвинулися усі листки і відбувається активна підготовка рослини до генеративного розмноження. Найнижчі сумарні показники хлорофілів $a+v$ у контролі нами спостерігалися під час цвітіння.

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. При перевищенні допустимих концентрацій

ВМ у 10 разів вміст хлорофілів у порівнянні з контролем зменшувався на 60–80%.

Вперше розраховані коефіцієнти концентрації та коефіцієнти біологічного поглинання для ґрунтів та досліджуваних рослин для солей Cu , Zn , з метою ведення біогеохімічного моніторингу забруднених екосистем. Розрахунки коефіцієнта концентрації K_c показали, що у всіх варіантах експерименту він перевищує одиницю і коливається в межах 1,0–2,6. З'ясовано, що забруднення ґрунту цинком впливає на вміст та розподіл міді. При збільшенні концентрації цинку в ґрунті, збільшується вміст рухомих форм міді.

Розрахунки коефіцієнта біологічного поглинання K_{bp} свідчать, що органи конюшини лучної мають різні захисні властивості щодо поглинання Zn^{2+} та Cu^{2+} . У результаті досліджень виявлено, що Zn^{2+} інтенсивно накопичували корінь та листок при концентрації 5–10 МДК – $K_{bp} > 1$, найменш інтенсивно – стебло, у всіх варіантах експерименту $K_{bp} < 1$. Результати наших досліджень за дії солей міді свідчать, що головним органом накопичення міді є корені. Коефіцієнт біологічного поглинання міді з ґрунту – у межах 1,03–1,51 виявлено за дії всіх досліджених концентрацій. Значно менше іонів у стеблах рослин конюшини $K_{bp} < 1$. Листки конюшини накопичували мідь у межах 0,89–1,29.

При збільшенні концентрації цих елементів у ґрунті їх концентрація в рослині зростає до певної межі, а за низьких концентрацій зростає лінійно. Так, 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. Експериментально підтверджено здатність рослин конюшини поглинати із субстрату важкі метали та 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. У паренхімних

клітинах усіх зон кореня також спостерігали відклади дитизонатів, але переважно в середині клітин, у контрольних рослинах реакція з дитизоном була негативною.

Встановлено, що при внесенні в ґрунт кальцію важкі метали (мідь та цинк) переходить у малорухомий стан. 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. Отримані нами результати дозволяють запропонувати використовувати посіви *Trifolium pratense* L. протягом багатьох років в ролі біоіндикатора в системі біомоніторингу з метою індикації забруднення навколишнього середовища важкими металами.

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

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.

Thesis for a Candidate Degree in Biological Sciences: speciality 03.00.16 – «Ecology». – Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, 2021.

The dissertation is devoted to the study of the influence of heavy metals on plants of *Trifolium pratense* L., their accumulation and localization at different levels of the organization of the plant organism. The influence of zinc and copper salts on the morpho-physiological parameters of *Trifolium pratense* L. has been studied. The influence of HM on the development of the assimilation surface of plants and the content of chlorophyll has been established by express methods. The features of migration and accumulation of HMs in the “soil-plant” system have been clarified. The localization of HM in tissues and organ systems of *Trifolium pratense* L. plants has been defined. The ways of preventing the manifestation of the toxic effect of HM on *Trifolium pratense* L. plants have been investigated. An assessment of the level of soil contamination by the reactions of *Trifolium pratense* L. has been proposed.

The thesis provides a review and an analysis of the works of domestic and foreign scholars concerning the problem of ecological assessment of the level of soil contamination with Zn^{2+} and Cu^{2+} . Based on the analysis of literary sources, the features of migration and accumulation of heavy metals in the “soil-plant” system have been highlighted.

Methods of complex ecological physiological and biochemical studies, ICP- and AAS-spectroscopy, as well as laboratory and field experiments, standard statistical methods using Microsoft Excel software packages have been used in the work.

Comprehensive studies to determine the effect (Zn^{2+} and Cu^{2+}) on *Trifolium pratense* L. plants have been carried out. For the first time, data on the effect of zinc and copper salts on seed germination and seedling growth of meadow clover have been obtained. It is shown that, depending on the concentration of sulfuric acid salts, a different effect on seed germination is observed. Concentrations of 5–10 MPC cause depression. Stimulation of the germination energy has been manifested at a concentration of 1 MPC. A significant difference between the effect of zinc and copper ions on the growth parameters of clover plants has been found. The greatest changes in the length of shoots and roots of clover seedlings have been defined when exposed to zinc ions. Minor changes in biometric indicators occurred when exposed to copper ions.

Changes in the lamina area of *Trifolium pratense* L. for different levels of soil contamination with zinc and copper have been established: with an increase in their concentration in the soil, the lamina area decreases. The maximum variation coefficients have been observed in signs of lamina area (28,34) with soil contamination with zinc at concentrations equal to 10 MPC. When the soil was contaminated with copper, the highest variation coefficients have been observed in the number of shoots per 1 plant. The revealed clear dose-dependent symptoms of changes in the morphological structure of the lamina upon contamination of soils with Cu and Zn make it possible to recommend crops of *Trifolium pratense* L. as a long-term bioindicator of environmental pollution with HM.

The seasonal dynamics of the content of chlorophylls in the leaves of meadow clover has been elucidated: the maximum amount of chlorophyll $a+b$ is observed during the budding period, when all the leaves have developed and the plant is actively preparing for generative propagation. The lowest total indices of chlorophylls $a+b$ in the control have been observed during flowering and fruiting.

It was noted that the seasonal dynamics of chlorophyll content in the meadow clover leaves, which is clearly traced in the control, has been observed only when the MPC is exceeded by 1 and 5 times. When the permissible HM concentrations

have been exceeded by 10 times, the chlorophyll content compared with the control decreased by 60–80%.

For the first time, the concentration coefficients and biological absorption coefficients have been calculated for soils and plants under the study for Cu, Zn salts, in order to conduct biogeochemical monitoring of contaminated ecosystems. Calculations of the concentration coefficient K_s showed that in all variants of the experiment it exceeds one and ranges from 1,0–2,6. Soil contamination with zinc has been found to affect copper content and distribution. As the concentration of zinc in the soil increases, the content of mobile forms of copper increases.

Calculations of the biological absorption coefficient K_{bp} show that meadow clover organs have different protective properties against the absorption of Zn^{2+} and Cu^{2+} . As a result of research it was found that Zn^{2+} intensively accumulated root and leaf at a concentration of 5–10 MPC – $K_{bp} > 1$, the least intensively - stem, in all variants of the experiment $K_{bp} < 1$. The results of our research on the action of copper salts show that the main organ of copper accumulation is the roots. The coefficient of biological absorption of copper from the soil - in the range of 1,03–1,51 was detected by the action of all concentrations. Significantly fewer ions in the stems of clover plants $K_{bp} < 1$. Clover leaves accumulated copper in the range of 0,89–1,29.

With an increase in the concentration of these elements in the soil, their concentration in the plant increases to a certain limit, and at low concentrations, it increases linearly. So, when the concentration of zinc in the soil is 1, 5, 10 MPC, its content in the roots increases by 2–3 times, in the aboveground part – by 1,5–2 times. The ability of clover plants to absorb heavy metals from the substrate and to accumulate them in the tissues of their organs has been experimentally confirmed.

The features of absorption and tissue distribution of Zn^{2+} and Cu^{2+} in various plant organs have been clarified, in particular, it has been shown that Zinc is mainly accumulated in the tissues of roots and leaves; Copper is actively absorbed by the roots and actively moves to the shoots. Deposits of dithizonates have been

also observed in parenchymal cells of all root zones, but mainly in the middle of the cells; in control plants, the reaction with dithizone was negative.

It has been established that when adding calcium to the soil, heavy metals (copper and zinc) pass into a sedentary state. Considering the high accumulating capacity of clover plants for zinc and copper ions, which we have established, there is every reason to offer clover for biological treatment of man-caused contaminated soils with heavy metals. The results obtained by us allow us to propose the use of *Trifolium pratense* L. crops for many years as bioindicators in a biomonitoring system in order to indicate environmental pollution with heavy metals.

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

Список публікацій здобувача, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

У виданнях, які включені до міжнародних наукометричних баз даних:

1. Denchyliya-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. *Биология – наука XXI века: Тезы докладов 14-Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых. Том 2, (С.25–26).* Пущино. (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 ґрунті 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).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ	16
ВСТУП	17
<i>Перелік посилань:</i>	21
РОЗДІЛ 1 ВАЖКІ МЕТАЛИ У ҐРУНТАХ ТА РОСЛИНАХ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	23
1.1. Джерела забруднення навколишнього середовища важкими металами.....	23
1.2. Еколого-фізіологічне значення цинку та міді	27
1.3. Вплив важких металів на фізіологічні процеси рослин	31
1.4. Міграція важких металів у системі ґрунт-рослина	36
1.5. Накопичення та розподіл важких металів у органах, тканинах і клітинах	38
1.6. Еколого-біологічна характеристика <i>Trifolium pratense</i> L.....	40
<i>Перелік посилань:</i>	43
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	67
2.1. Фізико-географічна характеристика території Закарпаття	67
2.2. Об'єкти та умови досліджень.....	72
2.3. Методика дослідження впливу солей цинку та міді на розвиток насіння <i>Trifolium pratense</i> L. у лабораторних та вегетаційних умовах.....	73
2.4. Визначення вмісту рухомих сполук міді та цинку в ґрунті в буферній амонійно-ацетатній витяжці з рН 4,8 методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії.....	75
2.5. Визначення локалізації цинку та міді гістохімічним методом.....	77
2.6. Культивування рослин <i>Trifolium pratense</i> L. в <i>in vitro</i>	78
<i>Висновки по розділу:</i>	80
<i>Перелік посилань:</i>	80
РОЗДІЛ 3 ВПЛИВ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ СУЛЬФАТУ ЦИНКУ ТА МІДІ НА РІСТ ТА РОЗВИТОК РОСЛИН КОНЮШИНИ	84
3.1. Вплив сульфату цинку на проростання насіння <i>Trifolium pratense</i> L. 84	
3.2. Вплив сульфату міді на проростання насіння <i>Trifolium pratense</i> L.....	87
3.3. Вплив солей цинку та міді на ріст і розвиток рослин <i>Trifolium pratense</i> L.....	89
3.4. Ріст та розвиток <i>Trifolium pratense</i> L. в умовах <i>in vitro</i>	94
<i>Висновки по розділу:</i>	99
<i>Перелік посилань:</i>	102
РОЗДІЛ 4 ВПЛИВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ФОТОСИНТЕЗ	105
4.1. Вплив важких металів на розвиток асиміляційної поверхні рослин <i>Trifolium pratense</i> L.....	105

4.2.	Оцінка стану асиміляційного апарату рослин <i>Trifolium pratense</i> L. при забрудненні середовища ВМ.....	108
4.3.	Вплив ВМ на вміст хлорофілу <i>Trifolium pratense</i> L.....	114
	Висновки по розділу:	118
	Перелік посилань:	119

РОЗДІЛ 5 ВМІСТ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ У ҐРУНТАХ ТА РОСЛИНАХ КОНЮШИННИ ЛУЧНОЇ.....

5.1.	Дослідження вмісту важких металів (Zn^{2+} та Cu^{2+}) у ґрунті	122
5.2.	Дослідження вмісту важких металів (Zn^{2+} та Cu^{2+}) в рослинах <i>Trifolium pratense</i> L.....	124
5.3.	Акумуляція важких металів у органах <i>Trifolium pratense</i> L.....	126
5.4.	Розподіл іонів цинку та міді у тканинах <i>Trifolium pratense</i> L.....	130
5.5.	Шляхи запобігання прояву токсичної дії ВМ на рослини <i>Trifolium pratense</i> L.....	136
	Висновки по розділу:	138
	Перелік посилань:	140

	ВИСНОВКИ	143
	Додаток 1	145

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

ВМ – важкі метали

МДК – максимально допустимі концентрації

ГДК – гранично допустима концентрація

мг/кг – міліграм на кілограм речовини

Кс – коефіцієнт концентрації

Кбп – коефіцієнт біологічного поглинання

Zn²⁺ – рухома форма катіону цинку з валентністю 2+

Cu²⁺ – рухома форма катіону міді з валентністю 2+

pH – від’ємний десятковий логарифм концентрації йонів водню (H⁺)

МС – Мурасіга-Скуга

ВСТУП

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 (Brune et al., 1995; Гашишин та ін., 2012; Воробець та ін., 2000).

Відомо, що в конкретних умовах 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, Демків, 2003). Зазначимо, що ушкодження однорічних рослин ВМ обмежує їх використання в якості сенсорів присутності контамінуючих сполук 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 (Гуральчук, 2006). При цьому актуальним є проведення досліджень на рослинах *Trifolium pratense* L. з метою розробки наукових основ постійного багаторічного моніторингу за метаболізмом ВМ в екосистемах,

особливо при вирощування 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 «грунт-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 надлишкових концентрацій солей цинку та міді на проростання насіння і ріст проростків конюшини лучної.

На основі широких аналізів із визначення вмісту важких металів в компонентах екосистем з використанням ІСР та ААС-спектроскопії визначено доцільність використання дитизону для експрес-оцінки присутності важких металів у рослинах.

Вперше розраховані коефіцієнти концентрації та коефіцієнти біологічного поглинання для дерново-підзолистих ґрунтів та рослин конюшини лучної 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.

Вперше 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 сірчанокислового та ізобіону позакоренево для підвищення токсикорезистентності рослин *Trifolium pratense* L. до підвищеного вмісту важких металів. Отримані нами результати дозволяють запропонувати використовувати посіви *Trifolium pratense* L. протягом багатьох років в 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 ХХІ 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 джерел, з яких 87 – іноземними мовами. Повний обсяг дисертації становить 149 сторінок. Робота містить 10 таблиць, 31 рисунок та один додаток.

Перелік посилань:

Бессонова, В. П. (1999). *Цитофизиологические эффекты воздействия тяжелых металлов на рост и развитие растений*. Запорожье: ЗГУ.

Воробець, Н. М., Микієвич, І. М., Романюк, Н. Д., Терек, О. І. (2000). Нагромадження свинцю рослинами соняшника та квасолі залежно від його вмісту в поживному розчині. *Науковий вісник Ужгородського державного університету: Біологія*, 8, 65–67.

Гащишин, В. Р., Пацула, О. І., Терек, О. І. (2012). Вплив іонів цинку, міді і трептолему на вміст пероксиду водню й активність каталази та пероксидази рослин *Brassica napus* L. *Український ботанічний журнал*, 69(5), 107–114.

Гуральчук, Ж. З. (1994). Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам. *Физиология и биохимия культурных растений*, 26(2), 107–117.

Гуральчук, Ж. З. (2006). *Фітотоксичність важких металів та стійкість рослин до їх дії*. Київ: Логос.

Ильин, В. Б. (1991). *Тяжелые металлы в системе почва - растение*. Новосибирск: Наука, Сибир. отд-ние.

Пацула, О. І., Демків, О. Т. (2003). Каталаза та адаптація рослин соняшника до дії кадмію та свинцю. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 34, 225–230.

Burton, C. W., King, J. B., Morgan, E. (1986). Chlorophyll as an indicator of the upper critical tissue concentration of cadmium in plants. *Water, Air and, Soil Pollut*, 27, 147–151.

Brune, A., Urbach, W., Dietz, K.-J. (1995). Differential toxicity of heavy metals is partly related to a loss of preferential extraplasmatic compartmentation: A comparison of Cd-, Mo-, Ni-, and Zn-stress. *New Phytologist*, 129, 403–409. doi: 10.1111/j.1469-8137.1995.tb04310.x

РОЗДІЛ 1

ВАЖКІ МЕТАЛИ У ҐРУНТАХ ТА РОСЛИНАХ

(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Джерела забруднення навколишнього середовища важкими металами

До важких металів відносять хімічні елементи з атомною масою більше 40 та густиною понад 5 г/см^3 , які мають властивості металів. До цієї групи відноситься 40 елементів (Алексеев, 1987).

Важкі метали (ВМ) займають особливе місце серед поллютантів екосистем із-за високої токсичності, здатності до акумуляції при русі по трофічному ланцюгу та значної рухливості в природному середовищі (Ильин, 1991). Надходження важких металів у навколишнє середовище здійснюється як антропогенним так і природним шляхом (Алексеев, 1987; Перельман, 1989). До природних джерел відносять вивітрювання гірських порід і мінералів, ерозію ґрунтів, дим лісових пожеж, метеоритний пил (Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989). Антропогенним джерелом надходження ВМ в довкілля є господарська діяльність людини: високотемпературні процеси з промисловими викидами (чорна і кольорова металургія, випалювання цементної сировини, згоряння рідкого і твердого палива); винесення важких металів із відвалів копалень чи металургійних підприємств водними та повітряними потоками; скидання стічних вод; постійне внесення високих доз органічних і мінеральних добрив, пестицидів, які містять домішки важких металів (Орлов и др., 2002; Топчій, 2010).

Як відомо, темпи розсіювання і залучення хімічних елементів у біогенний кругообіг за останні десятиріччя значно зросли, а їх надзвичайно високий вплив на живі організми дає підставу віднести їх до особливо небезпечних забруднювачів біосфери. Це зумовлено тим, що важкі метали характеризуються високою токсичністю за низьких діючих концентрацій, акумулюються в окремих ланках трофічного ланцюга і створюють довготривалу реальну небезпеку існуванню живих організмів (Simon, 2001;

Tamás, 2002). Численні наукові дослідження доводять, що подальше зростання рівня токсичності середовища призводить до згасання функціонування біологічних систем. Перш за все за умов інтоксикації середовища важкими металами змінюється загальний рівень енергетичного обміну (Гандзюра, Грубінко, 2008). В певних межах концентрацій токсикантів це призводить до пригнічення темпів росту і швидкості накопичення енергії в організмах (Гандзюра, 2002).

Відомості, щодо вмісту валових та рухомих форм важких металів у ґрунтах, відображено у багаточисельних наукових публікаціях вітчизняних і зарубіжних авторів, зокрема Якуба и др., 2002; Фатєєв, 1999, 2003; Дмитрук, 1999, 2004; Середюк, 2004; Цветкова, Клименко, 2005; Валерко, 2008, Мислива, 2009, 2010; Цветкова та ін., 2016; Reichman, 2002; Nan et al., 2000, 2002; Miyazawa et al., 2002; Zupancic, 2004; Linde et al., 2007; Degryse et al., 2008.

Важкі метали надзвичайно легко накопичуються в ґрунтах, а виводяться десятки й сотні років: період напіввиведення для Cu становить 310-1500 років, Zn – 70-150, Pb – 40-5900, Cd – 13-110 років (Добровольський, 1997). Накопичуючись у ґрунті в небезпечних концентраціях, елементи-забруднювачі здатні змінювати біологічні властивості ґрунту, негативно впливати на ґрунтову біоту, рослини і тварини (Алексєв, 1987; Алексєнко, 2000; Орлов и др., 2002).

Відомо, що надходження та локалізація ВМ у ґрунтах залежать від хімічних форм, в яких вони перебувають у материнській породі або потрапляють до ґрунту. Важкі метали, що надходять з атмосферним пилом, перебувають у неорганічній формі – у вигляді оксидів, карбонатів, силікатів, сульфідів та сульфатів (Кабата-Пендіас, Пендіас, 1989; Гуральчук, 2006; Вакерич, Ніколайчук, 2009).

Згідно літературних даних (Козловський та ін., 2005, 2008; Риженко, 2012; Цветкова, 1992; Сараненко, 2005, 2006; Gamalero et al., 2009) важливу

роль на вміст рухомих форм ВМ у ґрунтах відіграють такі фактори, як вміст гумусу, тип ґрунту та рН водної витяжки ґрунту.

Дослідженнями К. Реуце та С. Кирстя (1989) встановлено, що катіони Міді та Цинку поглинаються більш інтенсивно в кислому середовищі, а Кадмій в лужному. У роботі В. Б. Ільїна (1991) відмічається, що рухомі форми Міді Кадмію, Стронцію та Барію у кислих ґрунтах стають слаборухомими, а в нейтральних та лужних ґрунтах взагалі нерухомими.

Згідно даних Е. І. Андреюк та Е. В. Валагурової (1992), більшість Zn надходить у ґрунт у вигляді важкорозчинних сполук, тоді як Cu – у формі хімічно активних речовин, здатних взаємодіяти з гумусовими кислотами. За свідченнями деяких авторів Cu найкраще акумулюється в алювіальній частині профілю, а Zn у верхньому перехідному горизонті при переході до породи (Слюсарчук, Дмитрук, 2004).

Одним із шляхів забруднення ґрунту важкими металами є внесення органічних добрив. Відомо, що при внесенні у ґрунт органічних добрив в ньому збільшується вміст таких хімічних елементів, як Цинк, Купрум, Ферум, Кадмій, Плюмбум (Алексеев, 1987).

Наявні літературні дані свідчать про те, що збільшення рН у ґрунті межах 6–8 призводить до утворення нерозчинних комплексів Міді з фульвокислотами, а це призводить до накопичення їх у ґрунтах до рівнів, які токсичні для біологічних систем (Кашнер, 1981).

При підкисленні середовища Cu, Ni та Co характеризуються збільшення міграційної здатності. Зменшення рН призводить до збільшення рухливості Zn в 3,8–5,4 рази, Cu, в 2–3 рази (Мажайський и др., 2001).

Проблема вивчення токсичної дії та виведення важких металів на території Закарпаття стоїть особливо гостро у зв'язку з тим, що для регіону характерна досить інтенсивна сільськогосподарська діяльність, яка пов'язана з використанням великої кількості мінеральних та органічних добрив, пестицидів, тощо (Вакерич, Ніколайчук, 2009). Значну частину площ сільськогосподарських угідь Закарпатської області (27%) становлять землі з

дуже сильно- та сильнокислою реакцією ґрунтового розчину (Бандурович та ін., 2017). Відомо, що ґрунти, які мають кислу реакцію середовища та ненасичені основами, зокрема підзолисті, дерново-підзолисті, болотні, сірі та бурі лісові є менш стійкі до дії різних видів забруднення (Рижук та ін., 2002).

Питанням забруднення ґрунтів території Закарпаття важкими металами різної форми рухливості займалися такі науковці як В. Г. Рошко, О. В. Грабовський (1999); В. І. Ніколайчук (2004, 2001); Н. В. Бойко та ін., (2000, 2008); В. І. Гомонай (2009, 2010); С. М. Сухарєв, О. І. Симканич (2013). Встановлено, що ступінь токсичності ґрунтів, забруднених ВМ, визначається не тільки валовим вмістом, але і рухомими формами, які беруть участь в біогенній міграції (Фатєєв та ін., 1999). Надходження токсикантів відбувається часто по складній системі: ґрунт–рослина–людина, ґрунт–рослина–тварина–людина, ґрунт–вода–людина, ґрунт–повітря–людина (Ніколайчук та ін., 2007; Kele et al., 2002).

Як зазначає В. І. Гомонай (2010) хоча на території Закарпатської області не було великих хімічних підприємств, але рівень забруднення за останні 20 років загрозово став збільшуватися. Аналіз наявних у літературі даних показує, що після аварій на гірничодобувному підприємстві у Бая-Борша забрудненість перевищувала гранично допустимі норми по Сu в 200 разів, по Zn – у 10, Pb – 14, Mg – у 60, Fe – в 20 разів. Як відомо, важкі метали забруднили не лише воду, а й осіли в ґрунтах, на яких населення притисянських територій, вирощує овочі та іншу сільськогосподарську продукцію (Ніколайчук, 2004).

Значний вплив на забруднення важкими металами ґрунтів має автомобільний транспорт, так як через територію Закарпаття проходить багато автомагістралей, а це призводить до посиленої дії на екосистеми різних токсичних речовин, що містяться у викидах автотранспорту. Як, відомо забрудненість Pb та Zn м. Ужгород, Ужгородського району Закарпатської області перевищувала ГДК у декілька разів (2–2,5 раз) (Гомонай, 2009).

Таким чином, все це обумовлює особливу актуальність вивчення механізмів акумуляції та локалізації ВМ різними організмами й розробки різноманітних методів біологічного очищення ґрунтів.

1.2. Еколого-фізіологічне значення цинку та міді

Еколого-фізіологічне значення Цинку (Zn). Кларк Цинку в земній корі за О. П. Виноградовим складає 50 мг/кг (Виноградов, 1940). Відомо, що Цинк рухомий та біологічно доступний у легких кислих та мінеральних ґрунтах (Дмитрук, 1999). ГДК валових форм Цинку у ґрунті – 100 мг/кг, рухомих – 23 мг/кг (Пасічний, Сердюк, 2002).

Цинк відносять до мікроелементів, які в незначних кількостях є необхідними для забезпечення багатьох фізіологічних і біохімічних процесів та реакцій, однак при високих концентрації в середовищі, навпаки, викликає низку негативних процесів (Гуральчук, 1994). Шляхом утворення комплексів з органічними лігандами Цинк на внутрішньоклітинному рівні може переходити в недоступну форму (Іванищев та ін., 2016).

При нестачі Цинку порушується синтез білка і його вміст у рослинах зменшується. За його нестачі в рослинах нагромаджуються амідні та амінокислоти. Деякі ферменти активуються цинком, а деякі з них містять цей елемент, наприклад карбоангідраза, що активує розкладання вугільної кислоти (Власюк, 1969; Уидрис, 1981; Alia & Mohanty, 1990; Коць, Петерсен, 2005).

За даними М. Т. Ярмолюка (2010) в травах Цинк накопичується в межах (40-67 мг/кг). Дефіцит Цинку часто зустрічається у пшениці та інших зернових (Ярмолюк, 2010). Відомо, що при нестачі Цинку у пшениці суттєво знижуються ріст рослин і врожай зерна (Graham et al., 1992; Сакмак et al., 1998). Дефіцит Цинку в ґрунті також призводить до зменшення концентрації цього елемента в зерні пшениці та зниження його якості. Приблизно 40% населення світу зазнають від дефіциту мікроелементів (так званий «прихований голод»), включаючи нестачу Цинку (Graham & Welch, 1996).

Високий рівень споживання харчових продуктів на основі хлібних злаків з низьким вмістом цього елемента, як вважають, є однією з головних причин широко розповсюдженого виникнення дефіциту Цинку у людей.

Цинк у формі Zn^{2+} , $ZnOH^+$ та $ZnCl^+$ міцно адсорбований ґрунтовими колоїдами. Збільшення рН ґрунту стимулює адсорбцію Цинку на поверхні різних компонентів ґрунту, таких як оксиди металів і глинисті мінерали. Це призводить до істотного зниження розчинності, отже, до зниження доступності Цинку для рослин (Barrow & Cox, 1992). Високий рівень рН зменшує десорбцію Цинку з поверхні ґрунтових елементів, а також обмежує доступність Цинку для рослин (Dang et al., 1993, Deng et al., 2004). На основі даних (Бансал и др., 1982) максимальна кількість рухомих сполук Цинку міститься в дерново-підзолистому кислому ґрунті, менша – в чорноземі.

Рослини поглинають його у вигляді іонів Zn^{2+} . Концентрація Цинку в листках рослин коливається в межах 20-100 мкг/г сухої речовини (Колупаев, Карпец, 2010, Kabata-Pendias, 2011). Згідно даних Г. В. Мотузової та А. А. Попової (1989) при підвищеній концентрації Цинку у ґрунті в межах 460 мг/кг, врожай сільськогосподарських рослин зменшується на 10%.

Осадження Цинку при високих значеннях рН ґрунту також знижує доступ його для коріння рослин. При високому рН, Цинк може осаджуватися у формі $ZnCO_3$, $Zn(OH)_2$, і Zn_2SiPO_4 (Lindsay, 1972). Тому концентрація Цинку в ґрунтовому розчині в значній мірі залежить від рН.

Вапнування кислих ґрунтів з метою підвищення рН збільшує ризик виникнення дефіциту Цинку у рослин. Збільшення рН ґрунту від 5,2 до 6,8 шляхом вапнування призводить приблизно до 10-кратного зменшення концентрації Цинку в рослинах (Parker & Walke, 1986). За даними (Wilkinson et al., 1972) транспорт цинку з ґрунтового розчину до коренів відбувається, головним чином, шляхом дифузії. Так як дифузія Цинку у ґрунті сильно залежить від її вологості, надходження Цинку в рослини може опинитися під загрозою в посушливих і напівпосушливих регіонах, де ґрунти, особливо їхній верхній шар, звичайно відчувають дефіцит води протягом тривалих

періодів, протягом вегетаційного сезону. У польових дослідах з пшеницею було встановлено, що поглинання Цинку позитивно взаємодіє з кількістю органічних речовин у ґрунті (Hamilton et al., 1993).

Відомо, що Цинк є одним з поширених техногенних забруднювачів (Сараненко, 2011). В ґрунтах на сильно забруднених територіях вміст елемента знаходиться в межах 6000 мг/кг, що в 60 разів перевищує ГДК (Руэце, Кырстя, 1986).

Еколого-фізіологічне значення Міді (Cu). Відносна атомна маса Міді – 63,5. Кларк Міді в земній корі за О. П. Виноградовим складає 47 мг/кг (Виноградов, 1940). У хімічному відношенні Мідь – малоактивний метал, відповідно в ґрунтах є слабкоміграційним елементом. Кількість рухомих форм Міді залежить від багатьох чинників: мінералогічного складу материнської породи, рН ґрунтового розчину, вмісту органічної речовини (Виноградов, 1985). ГДК валових форм Міді у ґрунті – 100 мг/кг, рухомих – 3 мг/кг (Фатеев, 2003).

У ґрунтах вміст рухомих форм Міді знаходиться в межах від 0,5 до 20,0 мг/кг ґрунту. Гумінові й фульвокислоти здатні утворювати стійкі комплекси Cu. Мідь добре фіксується гумусом, мулистою фракцією, карбонатами (Зырин, Белицина, 1981). При рН 7–8 розчинність Міді найменша (Руэце, Кырстя, 1986). Тоді, як при рН менше 5 будь-яка кількість елемента переходить у розчин (Сараненко, 2011). Відомо, що окрім рН, існує ряд інших факторів, які впливають на доступність Міді у ґрунті, зокрема вміст органічної речовини; температура та вологість ґрунту; активність ґрунтової мікрофлори; баланс макро- та мікроелементів (Рязанова, 2013).

Мідь – є одним з важливих незамінних елементів, необхідних для живих організмів. У рослинах Мідь, як мікроелемент, входить до складу цілого ряду ферментів-оксидази та бере участь у біохімічних процесах відновлення й фіксації азоту (Власюк, 1976). Мідь, як складова частина ферментів здійснює реакції окислення субстратів молекулярним киснем у процесах фотосинтезу та дихання, оскільки входить до складу компонентів електрон-транспортного

ланцюга мітохондрій і хлоропластів, в основному у вигляді пластоціаніну (Власюк, 1965).

До кореневої системи рослин Мідь може надходити у вигляді катіону Cu^{2+} , який накопичується в коренях, хлоропластах і є малорухливим. В рослинах концентрація Міді знаходиться в межах 5 – 20 мкг/г сухої маси (Коць, Петерсен, 2005). Численні наукові дослідження доводять, що на клітинному рівні Мідь відіграє важливу роль у метаболізмі клітинної стінки (Kholodova et al., 2011; Yruela, 2009).

Відомо, що, як нестача Міді так і надлишок впливають на ріст та розвиток рослин. Недостатня кількість Міді в рослинах знижує активність процесів синтезу та призводить до нагромадження розчинних вуглеводів, амінокислот та інших продуктів розкладання складних органічних речовин. Мідь відіграє важливу роль і в процесах фотосинтезу, так як надає хлорофілу більшої стійкості. Характерною особливістю дії Міді є те, що цей елемент підвищує стійкість рослин проти грибкових і бактеріальних захворювань. Нестача Міді зумовлюється вапнуванням ґрунтів, високими температурами ґрунту та повітря (Власюк, 1969; Пейве, 1961; Швартау та ін., 2013).

Мідь підвищує стійкість рослин до вилягання, посухи, морозів і високих температур завдяки впливу на інгібітори росту – феноли (Коць, Петерсен, 2005; Власюк та ін., 1976). Та незважаючи на це, елемент розглядається як дуже токсичний (удвічі токсичніший за цинк).

В залежності від форми знаходження і концентрації в розчині Мідь може по-різному впливати на одні й ті ж функції організму. Відомо, що високі зовнішні концентрації міді є отруйними для рослин (Fernandes & Henriques, 1990). Найбільш загальними проявами токсичності Міді є знижений ріст, пригнічена коренева система, знижене утворення пагонів та хлороз листків (Adriano, 2001). Численні наукові дослідження доводять, що надлишок Міді заважає здатності рослин поглинати та транспортувати інші мікроелементи, (Рязанова, 2013), зокрема часто спостерігається антагонізм Міді та Цинку (Кабата-Пендіас, Пендіас, 1989; Fernandes & Henriques, 1990).

За результатами досліджень Н. П. Ковальчук (2011), з'ясовано, що перевищення концентрацій Міді зумовлює пошкодження тканин, витягнутості клітин кореня, зміни проникності мембран та інгібування переносу електронів при фотосинтезі.

Джерелами потрапляння Міді до сільськогосподарських земель у надмірних кількостях є використання відстояних стічних вод (McBride, 1995; Oliver et al., 2005; Chaudri et al., 1992), деяких добрив тваринного походження (Corpenet et al., 1993), використання солей Міді на деяких полях, в садах і на виноградниках як фунгіцидів, а також разом з добривами, у яких його вміст може досягати 200 мг/кг (азотні), понад 1500 мг/кг (фосфорні), до 200 мг/кг (калійні добрива) (Державин, 1991). Наявні у літературі дані свідчать про те, що сполуки Міді у ґрунті пригнічують активність нітрифікуючих бактерій, затримуючи мінералізацію азоту, і цим самим знижують врожай сільськогосподарських культур; спричиняють хлороз у рослин, а також загибель дощових черв'яків (у цьому випадку порушується структура ґрунту, його водопроникність та погіршується водно-повітряний режим) (Ковирягіна, 2006).

1.3. Вплив важких металів на фізіологічні процеси рослин

Аналіз багаточисельних публікацій свідчить, що важкі метали за дії різних концентрацій впливають на всі фізіологічні та біохімічні процеси та призводять до пригнічення росту та розвитку рослин (Алексеева-Попова, 1991; Вакерич, 2008; Серегин и др., 2011; Гришко, Сыщиков, 2012; Міхеев, Лапань, 2019).

Проростання насіння є важливим етапом органогенезу, від якого в значній мірі залежить подальший ріст і розвиток рослин (Яковлева-Носарь, 2008). Вплив важких металів на формування та проростання насіння у різних видів рослин (бобів, гороху, рису, вівса, пшениці, *Robinia pseudoacacia*, *crepis capillaries*, *vaccinium myrtillus*) досліджували: Ваулина и др., 1978; Алексеева-Попова, 1983; Мельничук, 1990; Shah & Dubey, 1998; Лянгузова, 1999, 2011;

Яковлєва-Носарь, 2008; Гришко, Сіліч, 2015). Ступінь впливу ВМ на проростання насіння залежить від концентрації металу, його токсичності та тривалості дії. Низькі концентрації іонів ВМ не порушують основні фізіологічні процеси, а надвисокі концентрації повністю пригнічують життєздатність насіння (Гуральчук, 1994).

При вивченні механізму впливу важких металів на проростання насіння виявлено, що вони проникають через насінневу оболонку (Wierzbicka & Obidzińska, 1998) і викликають затримку проростання за рахунок впливу на процеси поділу і розтягування клітин (Бессонова, 1991). За результатами досліджень Л. М. Гончара (2016) відмічено, що за дії високих концентрацій цинку та міді спостерігається низька схожість насіння вівса, а за низьких концентрацій цинку (1:100) спостерігалось зростання відсотку схожих насінин. За даними М. М. Вакерича (2010) сульфат купруму у водній культурі має стимулюючий вплив на розвиток рослини вівса, а при перевищенні «граничного» значення – вплив протилежний (інгібуючий).

Ріст – один із найважливіших параметрів, які характеризують відповідну реакцію рослин на стрес. Розвиток – це процес формування організму або його окремих частин і органів. Ріст і розвиток тісно пов'язані між собою і як правило, відбуваються паралельно. Численні наукові дослідження доводять, що ріст та розвиток рослин залежить від концентрації та тривалості дії металів, їх природи, а також біологічних особливостей виду рослин (Мусієнко, Гандзюра, 1998; Иванов, и др., 2003; Гуральчук, 2006; Титов и др., 2007; Вакерич, 2008).

Дослідженнями встановлено, що ріст коренів є більш чутливим до дії важких металів порівняно з ростом пагонів (Алексеева-Попова, 1991; Серегин, Иванов, 1997). Вплив важких металів на ріст коренів досліджували (Нестерова, 1989; Мельничук, 1990; Titov et al., 1996; Vassilev, 2002; Yang et al., 2000; Гришко, Демура, 2009). Відомо, що коріння є першим бар'єром на шляху транспорту металів із ґрунту в рослину, і саме корінь бере на себе основну функцію по їх акумуляції та детоксикації (Нестерова, 1989; Punz &

Sieghardt, 1993). Під впливом важких металів зменшуються довжина головного кореня та кількість бокових коренів, відмирають кореневі волоски, знижується біомаса коренів (Barceló & Poschenrieder, 1990; Vassilev et al., 1998; Серегин, Кожевникова, 2006). Наприклад, зменшення довжини і біомаси кореня за дії кадмію відзначено у рослин квасолі (Poschenrieder et al., 1989, 1999), соняшнику (Azevedo et al., 2005). За даними (Little, 1973; Ernst et al., 2000; Скрипниченко, Золотарева, 1981) токсична дія металів викликає пригнічення росту надземної частини рослин, в меншій мірі, ніж коренів.

Дослідженнями (Ильин, 1991; Vassilev et al., 1997; Khurana et al., 2006) було встановлено, що високі концентрації важких металів не тільки інгібують ріст вегетативних органів, але також призводять до зменшення розмірів суцвіть і біомаси плодів, а в деяких випадках рослина може втратити здатність до формування генеративних органів. В. Бусслер (1989) зазначає, що при збільшенні концентрації іонів у середовищі спостерігається послідовна поява ознак пригнічення рослинного організму: I стадія – гальмування росту; II – хлороз листків; III – некрози асиміляційних органів; IV – відмирання коренів (Bussler, 1989).

Вплив важких металів на асиміляційну поверхню рослин

Останнім часом вивченню впливу важких металів на фотосинтез присвячено досить велика кількість праць (Безсонова, 2006; Топчій, 2010; Stiborova et al., 1988; Krupa & Baszyński, 1995; Vassilev et al., 1997). Фотосинтез і ріст – важливі фактори, які визначають продуктивність рослинних угруповань (Бессонова, 2006). Зменшення швидкості росту і розвитку, порушення важливих фізіологічних процесів, поряд з хлорозом і некрозом, вважають найтипівішими проявами токсичної дії важких металів, які у кожного виду рослин, залежать від видових особливостей (Тарабрин, 1980; Алексеева-Попова, и др., 1983; Алексеева-Попова, 1991).

Відомо, що пігментна система багатьох рослин чутлива до повітряних поллютантів і тому вміст хлорофілу можна використовувати для біоіндикації забруднення довкілля як окремими токсикантами, так і їхніми комплексами

(Маєвська та ін., 2000). Аналіз наявних у літературі даних показує, що найбільш інформативним біоіндикаційним показником стану довкілля є співвідношення хлорофілів $a+b$, так як забезпечує нормальне функціонування фотосинтетичного апарату (Бессонова, 1992; Гливіас, Ніколайчук, 2001).

Результатами дослідження Мельничук (1990) встановлено, що за дії високих концентрації важких металів зменшується вмісту зелених пігментів. Наприклад відзначено зниження вмісту хлорофілу a і b у листках за дії високих концентрацій міді (Burzyński & Kłobus, 2004) і цинку (Panda et al., 2003; Khudsar et al., 2004). Мідь у великих концентраціях сповільнює зв'язування молекул хлорофілів з білками в світлозбиральних комплексах фотосистем (Caspi et al., 1999). Відомо, що надлишок міді на фізіологічному рівні може призвести до розпаду хлорофілу та каротиноїдів, збільшення проникності мембран (Andriano, 2001).

Численними дослідженнями встановлено, що підвищення концентрації металів у клітині, призводять до порушення ультраструктурної організації хлоропластів багатьох сільськогосподарських злакових культур (Ількун, 1978), зростання вмісту свинцю викликає зміну ліпідного складу тилакоїдних мембран (Ольхович, 1995), а іони міді спричиняють деструкцію системи ламел (Ильин, 1991).

Вміст пігментів та їхній стан визначають розвиток і активність фотосинтетичного апарату, а також продуктивність, життєздатність та стійкість рослин (Busuioc et al., 2008; Blaylock et al., 1997; Kabata-Pendias, Pendias, 1992). Відомо, що підвищені концентрації ВМ можуть призводити до загальних малоспецифічних фізіологічних та біохімічних змін (Титов и др., 2007). Найзагальнішими проявами фітотоксичності іонів важких металів є хлороз та затримка росту і розвитку (Кавулич та ін., 2016). Згідно з результатами досліджень (Hagemeyer, 1999) головні симптоми отруєння міддю – це мідь-індукований хлороз і вади розвитку кореневої системи.

Залежно від ступеня пошкодження листка В. П. Бессонова (2006 с. 28) виділяла 5 груп.

До першої групи відносяться рослини, які протягом всього вегетаційного періоду не мали помітних пошкоджень листків і зберегли високий ступінь декоративності: бирючина звичайна, лох вузьколистий, бузина чорна, шовковиця біла, троянда собача.

До другої групи відносяться рослини з пошкодженими до 10 % листовими пластинками, декоративність їх знижувалася трохи: айлант високий – пошкодження у вигляді невеликої кількості подовжених коричневих плям по всій поверхні листка, пошкоджене листя обпадає не відразу; абрикоса звичайна і вишня звичайна – пошкодження у вигляді точкових коричневих плям по всій поверхні листка, а потім отворів, усихання кінчиків листка.

До третьої групи відносяться рослини з пошкодженням листкових пластинок менш ніж на 20 %. У горіха грецького, таволги Вангутта, жимолості татарської виявлені коричневі плями по всій поверхні листка.

До четвертої групи відносяться рослини листкові пластинки яких пошкоджені до 50 %. Типи пошкодження: у берези повислої – коричневі точкові пошкодження листка міжжилковий хлороз, потім буро-коричневі плями по всій поверхні листка; у верби білої – некротичні зміни краю листка, хлороз.

До п'ятої групи відносяться рослини, листки, яких пошкоджені більше, ніж 50 %. Основні типи пошкоджень: клен остролистий – коричневі плями по всій поверхні листка, наскрізні отвори; кінський каштан звичайний - усихання кінчика і країв листка міжжилковий некроз, коричневі смужки по поверхні і краях листка.

Значення асиміляційної поверхні в процесі онтогенезу і забезпеченні життєдіяльності рослин були предметом вивчення багатьох дослідників (Андрєєва, 1982; Бессонова, 1992). Приріст органічної маси в значній мірі залежить від ефективності фотосинтетичного апарату та від динаміки росту

його розмірів – площі асиміляційної поверхні та тривалості активного функціонування листків.

Забруднення середовища важкими металами призводить до значного підвищення їх концентрації у листках деревних та чагарникових рослин (Бессонова, Зайцева, 2008). Дослідженнями (Ковда, 1985; Vassilev et al., 1998; Таланова и др., 2001; Khudsar et al., 2004; Бессонова, 2006) встановлено, що підвищення концентрації важких металів у навколишньому середовищі призводить до значного зменшення площі листової пластинки (по відношенню до контролю).

1.4. Міграція важких металів у системі ґрунт-рослина

В рослинах містяться в різних кількостях майже всі відомі хімічні елементи, але для забезпечення нормальної життєдіяльності рослин необхідними є 17 елементів (С, Н, О, N, К, Са, Mg, Р, S, Cl, В, Fe, Mn, Zn, Cu, Мо, Ni), з яких перші 9 відносять до макро-, а останні – до мікроелементів (Алексеев, 1987; Добровольский, 1997; Кабата-Пендіас, 1989).

Кількість мікроелементів, що надходять до рослин, різна. Їх вміст варіює як у різних видів рослин, так і в тканинах та органах (Oliveir et al., 2005). Концентрація мікроелементів у рослині залежить як від виду рослини, так і від ґрунтово-кліматичних умов та комплексу агротехнічних заходів (Пейве, 1961), а також від концентрації цих мікроелементів у ґрунті (Corey et al., 1987; Sloan, 1997; Barbarick & Ippolito, 2003).

Визначенню вмісту важких металів у рослинах та ґрунтах здавна приділяється значна увага, і до цього часу накопичилася велика кількість наукових робіт. Особливостям поглинання важких металів із ґрунту рослинністю присвячені праці В. В. Ковалевського (1969), А. Кабати-Пендіас (1989), В. Б. Ільїна (1991), В. Б. Іванова (2003), Ю. В. Лихолата (2000, 2005), Ж. З. Гуральчук (2006). Значна увага приділяється таким дослідженням у зв'язку з тим, що рослинний покрив є проміжною ланкою міграції важких металів із ґрунту в організм людини по трофічних ланцюгах.

У наукових роботах С. М. Середюк (2004, 2007), І. О. Комарової (2019), В. П. Бессонової та О. Є. Іванченко (2019) особлива увага приділяється з'ясуванню можливості використання рослин як біоіндикаторів забруднення важкими металами навколишнього середовища.

Аналіз наявних у літературі даних засвідчує, що надземні рослини можуть поглинати важкі метали з двох джерел – ґрунту та повітря (Парибок, 1983; Виноградов, 1985).

Відомо, що поглинання іонів важких металів рослинами знаходиться в прямій залежності від їх доступного вмісту в ґрунті або ґрунтовому розчині, наприклад, у вигляді вільних іонів (Wagner, 1993; Kinght et al., 1997). Істотний вплив на надходження важких металів у рослини спричиняють інші іони (Кабата-Пендіас, Пендіас, 1989). При цьому найбільший антагонізм проявляють елементи-аналоги і гомологи (Кабата-Пендіас, Пендіас, 1989), а також катіони однакової валентності, що здатні утворювати подібні комплекси (Wierzbicka, 1987). У ґрунті ВМ можуть перебувати в різних формах, що в значній мірі визначає їх біодоступність для рослинних організмів (Rieuwerts et al., 1998; Veeken & Hamelens, 2002; Nolan et al., 2005). Відомо, навіть відносно низькі концентрації іонів металів (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr, Co, Ni та ін.) є токсичними для вищих рослин.

Відомості, щодо міграції та акумуляції важких металів у ґрунтах Закарпаття наведені у роботі О. В. Грабовського (2002). На основі даних О. В. Грабовського вміст цинку та міді у пасовищних фітоценозах по Ужгородському та Мукачівському районах перевищують у 4–5 разів у зв'язку з погіршенням загальної екологічної ситуації у регіоні, зокрема, через інтенсивний рух автомобільного транспорту. Автор відмічає, що сільськогосподарські рослини акумулюють важкі метали з різною інтенсивністю. Так, наприклад низьким ступенем акумуляції та коефіцієнтом біологічного поглинання володіють пшениця, овес, капуста, картопля, буряк та фруктові дерева – яблуня, груша, абрикос, які відносно безпечно вирощувати в зонах інтенсивного забруднення (Грабовський, 2001, 2002). Як

зазначає І. І. Чонка (2011) особливо важлива роль в самоочищенні екосистем сміттєзвалищ від сполук цинку та міді належить таким родинам рослин, як *Trifolium L.*, *Euphorbia L.*, *Angelica L.*, *Galium L.*, *Arctium L.*, *Urtica L.*, *Carduus L.*, *Rumex L.*, так як значення коефіцієнту біологічного поглинання для рослин знаходились в межах 1,0-3,0. Тому вони можуть бути хорошими біоремедіаторами забруднених територій.

Відомо, що одним із способів зниження концентрації важких металів у ґрунті є вирощування бобових багаторічних трав, які є потужними фітомеліорантами. За результатами досліджень С. Ф. Разанова та О. П. Ткачука (2017), встановлено що чотирирічне вирощування бобових багаторічних трав сприяє більшому виведенню важких металів з ґрунту порівняно з дворічним, зокрема свинцю – в 1,6–2,3 рази; кадмію – в 2–60; міді – в 15–68; цинку – в 1,2–8,3 рази.

А. В. Хаданович зі співавторами, досліджуючи особливості розподілу йонів купруму, цинку, плюмбуму та кадмію в ґрунті та їх накопичення рослинами відмічає, що рослини родини Бобових характеризуються високими значеннями коефіцієнтів переходу плюмбуму, цинку та кадмію в надземну фітомасу. Значення коефіцієнтів транслокації у рослин зазначеної родини досягають 0,90–1,84 (Хаданович та ін., 2012).

1.5. Накопичення та розподіл важких металів у органах, тканинах і клітинах

Велика кількість публікацій присвячена дослідженню особливостей поглинання, транспорту та акумуляції важких металів у тканинах та органах рослин (Алексеева-Попова, 1983; Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989; Нестерова, 1989; Barcelò, Poschenrieder, 1990; Мельничук, 1990; Ильин, 1991; Гуральчук, 1994; Серегин, Иванов, 1997, 2001; Hall, 2002; Козловський та ін., 2005; Clemens, 2006; Яворовський, та ін., 2007; Серегин, 2009; Серегин и др., 2011).

В багатьох роботах, присвячених дії важких металів на рослини, розрізняють два типи механізмів стійкості: внутрішній та зовнішній.

Внутрішні механізми зумовлюють детоксикацію металів, які надійшли в рослину шляхом їх хелатування органічними кислотами, білками, появи стійких до металів ферментів. Зовнішні механізми не зв'язані з життєдіяльністю рослинного організму. Вони виступають як наслідок властивостей ґрунту, здатні зменшувати надходження іонів металів із ґрунту в рослину (Мусієнко, Косик, 2002).

Особлива увага приділяється дослідженню накопичення ВМ у сільськогосподарських рослин залежно від технологічних прийомів вирощування цих культур (Головач та ін., 2004); міграції важких металів у системі “ґрунт-рослина-тварина” (Бойко, Чонка, 2000); впливу забруднення навколишнього середовища ВМ та їх нагромадження в рослинних організмах (Случик, Стефурак, 2000; Комарова, 2019).

Наведений аналіз літературних даних свідчить, що для багатьох адаптованих видів рослин характерне значне накопичення важких металів у коренях (Нестерова, 1989; Ильин, 1991; Ernst et al., 1992; Vassilev et al., 1998; Серегин, Иванов, 2001). При високих їх концентраціях базальні частини коренів накопичують значно більші концентрації Pb, Zn, Cd, ніж апікальні, особливо це характерно для стійких популяцій. За даними Ю. В. Алексеева (1987) високий вміст важких металів накопичується в меристематичних клітинах.

Накопичення цинку і кадмію в клітинах епідермісу листків ячменю досліджував (Brune et al., 1995) у кукурудзи (Wyjcik & Tukiendorf, 1999; Granato et al., 2004). Брун і співавтори (Brune et al., 1994), вивчаючи акумуляцію цинку в тканинах листків ячменю, встановили, що при низькій концентрації металу в поживному розчині більше 80% цинку знаходиться в протопластів клітин мезофілу листка. Автори відмічають, що це пов'язано з тим, що цинк необхідний для нормального росту рослин. При високій концентрації цинку (0,4 мМ/л) у поживному розчині вміст цинку в клітинах епідермісу збільшувався у 19 разів.

Важкі метали по накопиченню в органах рослин класифікують на 3 групи (Siedlecka, 1995):

- 1) Cd, Fe, Cu, Co, Mo – високий рівень акумуляції у коренях;
- 2) Pb, Sn, Ti, Ag, Cr, Zr – середній рівень в пагонах;
- 3) Zn, Mn, Ni – середній рівень накопичення в коренях і пагонах.

Здатність коренів затримувати метали знижує їх транспорт в надземні органи рослин (Wagner, 1993). Дослідженнями (Кrupa & Baszynski, 1995) встановлено, що надземні органи містять в 10-15 разів менше, ніж корені.

При вивченні розподілу важких металів в тканинах коренів встановлено, що більша їх частина локалізована в ризодермі та корі, так як ризодерма виконує роль поглинаючої тканини, тому що володіє розвиненою активною системою мембрантранспортних механізмів (Серегин, Иванов, 1997; Wujcik & Tukiendorf, 1999). З підвищенням концентрації металу, в середовищі, збільшується їх вміст в ентодермі (Punz & Sieghardt, 1993).

1.6. Еколого-біологічна характеристика *Trifolium pratense* L.

Рід конюшина (*Trifolium* L.) об'єднує близько 300 видів, серед яких є багаторічні й однорічні. У польовому травосіянні поширені вісім видів, з яких лише шість мають певне значення: червона, рожева, біла, багряна, олександрійська і персидська.

Конюшина лучна (*Trifolium pratense* L.) багаторічна вологолюбна, невибаглива до тепла, 40-70 см висотою, середньо – і пізньостигла бобова рослина. Добре росте на суходільних, а також на низинних і заплачних луках. Має ярі та озимі різновиди. Стебла мають в середньому 8-9 міжвузлів. Має добре розвинені стержневі чи стержне-мичкуваті корені, які проникають у ґрунт до 100-150 см основна маса яких зосереджена на глибині до 20 см (Зінченко, 1994; Ярмолюк та ін., 2010).

Згідно даних (Демидась, Галушко, 2018) насіння конюшини лучної проростає за температури повітря 2-3°C, достатньої кількості вологи і температури ґрунту 10-15°C. Проростки з'являються через 7-9 днів після

висівання, а за температури 18-20°C – швидше на 1-2 дні. За дії зниження температури мінус 5-8°C проростки гинуть.

Trifolium pratense L характеризується високою урожайністю. Як відомо, за сприятливих екологічних умов та при внесенні фосфорно-калійних добрив забезпечує 50-80 ц/га сіна. Конюшина лучна добре поїдається всіма видами худоби як у сіні, так і зеленій масі (Ярмолюк та ін., 2010; Зінченко, 1994; Бабич, 1996).

Вегетаційний період до першого укусу на сіно – 70-80 днів, до збирання насіння – 150-160 днів. Урожайність сухої речовини за два укуси 110-120 ц/га, насіння – 4,0-5,0 ц/га. Вміст в сухій речовині протеїну – 18,2-19,2%. (Антипова, 2012). У польовій сівозміні конюшина лучна відіграє важливе агротехнічне значення, забезпечує ґрунт органічною речовиною та біологічним азотом, поліпшує його структуру, слугує добрим попередником для наступних культур.

Конюшина не вибаглива до ґрунтів, але не витримує перезволоження ґрунту і затоплення понад 10 днів. Найприйнятніші для неї ґрунти з помірним водним режимом та нейтральною реакцією середовища, але добре росте на опідзолених ґрунтах і вилугуваних чорноземах, темно-сірих і сірих лісових із слабокислою або нейтральною реакцією (Коваленко, 2020). Негативно впливають на конюшину кислі ґрунти.

За результатами досліджень (Запрута та ін., 2017) конюшина лучна оптимально розвивається при рН 6,0-6,5, накопичуючи при цьому до 300 кг/га азоту в ґрунті і формує врожай насіння до 0,5-0,6 т/га. При рН 4,0-5,0 ця культура може рости і розвиватись, але при цьому вона накопичує лише 80-100 кг/га азоту.

Згідно аналізу літературних даних, у світі під конюшиною лучною знаходиться майже 20 млн га. Її вирощують на великих площах у Франції, Англії, США, Канаді, Росії. Як відомо, в Канаді та США конюшина лучна використовується, як основний попередник при вирощуванні оскільки може

частково перекрити потребу в азоті за рахунок накопиченої біомаси (Vyn et al., 2000).

В Україні посіви конюшини зосереджені переважно у зоні лісостепу та на Поліссі. Разом із тим, вона досить поширена у передгірних і гірських регіонах Карпат (Григун, та ін., 2008; Савченко и др., 2007).

Вирощування конюшини має важливе агротехнічне значення. Вона накопичує в ґрунті біологічно фіксований азот, завдяки рослинним решткам удобрює ґрунт, покращує його структуру, та є добрим попередником для усіх сільськогосподарських культур (Забарна, 2018). За результатами досліджень Ф. Ф. Адамень (1999) з'ясовано, що без належного удобрення поля вона може забезпечити врожайність зерна озимої пшениці на рівні 30-40 ц/га. За дворічну вегетацію конюшина лучна залишає після себе 137-208 кг/га азоту, 48-74 фосфору, 73-109 калію та 400-450 кг/га гумусу (Адамень, 1999; Кирилесенко, 2002). Відомо, що вирощування конюшини лучної поліпшує хімічні і фізичні властивості ґрунту, збагачує його азотом і створює сприятливі умови для вирощування озимих культур. Вона може забезпечити врожайність зерна озимої пшениці на рівні 30-40 ц/га навіть без належного удобрення поля (Бомба, 1998; Кургак, 1995; Забарна, 2011).

При вирощуванні конюшини лучної в ґрунтозахисних сівозмінах її коренева система сприяє попередженню деградації земель та захищає круті схили від розмивів (Анисимова, 2005; Каштанов и др., 2003), а також захищає ґрунт від ерозії (Кирилесенко, 2002).

Встановлено, що *Trifolium pratense* L. здатна компенсувати до 70% потреби в азоті саме за рахунок азотофіксації. Зі збільшенням урожайності надземної маси, цей показник може збільшуватись до 85-90% (Захарченко, 1975; Забарна, 2010).

Завдяки своїй властивості зв'язувати вільний азот з повітря за допомогою бульбочкових бактерій і залишати його в ґрунті, вона є добрим попередником для наступних культур сівозміни (Кирилеско, 2002; Пайкова, 1986). Бульбочкові бактерії, які знаходяться у ризосфері конюшини лучної,

засвоюють молекулярний азот з повітря, а рослини використовують його для формування врожаю. Використання азоту з повітря дає можливість зменшувати обсяги внесень мінеральних добрив, що дозволяє вирішувати екологічні проблеми. Конюшина широко використовується для створення високоврожайних культурних пасовищ (Бова, Гратило, 2008; Дегодюк та ін., 2001).

У літературних джерелах відомо, що *Trifolium pratense* L в умовах передгір'я виділяє за період цвітіння 1,281 мг нектару, а в гірському поясі – 1,420 мг (Комендар, та ін., 1985).

У конюшини чітко виражені фітосанітарні якості (Демидась, Галушко, 2018). Вона оздоровлює ґрунт, зменшує забур'яненість наступної культури в сівозміні, що призводить до зменшення захворювань рослин, підвищення родючості ґрунту та продуктивності сівозміни (Петриченко, 2007; Петрова, Парасин, 2000).

Перелік посилань:

Адамень, Ф. Ф. (1999). Азотфіксація та основні напрямки поліпшення азотного балансу ґрунтів. *Вісник аграрної науки*, 2, 9–16.

Алексеев, Ю. В. (1987). *Тяжелые металлы в почве и растениях*. Ленинград: Наука.

Алексеев, В. А. (2000). *Экологическая геохимия*. Москва: Логос.

Алексеева-Попова Н. В. (1991). Клеточно-молекулярные механизмы металлоустойчивости растений. *Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов*, 5–15.

Алексеева-Попова, Н. В., Игошина, Т. И., Косицин, А. В., Ильинская Н. Л. (1983). Устойчивость к тяжелым металлам (Pb, Zn, Cu) отдельных видов и популяций естественных фитоценозов из района медноколчеданных рудо проявлений. *Растения в экстремальных условиях минерального питания. Эколого-физиологические исследования*, 22–42.

- Андреева, Т. Ф. (1982). Фотосинтез и азотный обмен растения. *Физиология фотосинтеза*, 89–104.
- Андреюк, Е. И., Валагурова, Е. В. (1992). *Основы экологии почвенных микроорганизмов*. Киев: Наукова Думка.
- Анисимова, Т. Ю. (2005). Роль многолетних трав в борьбе с водной эрозией и продуктивностью склонов. *Кормопроизводство*, 10, 13–16.
- Антипова, Л. К. (2012). Ріст і розвиток багаторічних бобових трав на півдні України. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*, 1, 120–125.
- Бабич, А. О. (1996). *Кормові і лікарські рослини в ХХ-ХХІ століттях*. Київ: Аграрна наука.
- Бандурович, Ю. Ю., Фандалюк, А. В., Романова, С. А., Полічко, В. С. (2017). Еколого-агрохімічна оцінка ґрунтів Закарпаття. *Агроекологічний журнал*, 4, 46–52.
- Бансал, Р. Л., Каплунова, Е. В., Зырин, Н. Г. (1982). Состояние цинка в почвах и транслокация его в растения при высоких концентрациях элемента. *Почвоведение*, 10, 36–41.
- Бессонова, В. П. (1991). Клеточный анализ роста корней *Lathyrus odoratus* L. при действии тяжелых металлов. *Цитология и генетика*, 25(5), 18–22.
- Бессонова, В. П. (1991). Пасивний моніторинг забруднення середовища важкими металами з використанням рослин. *Український ботанічний журнал*, 48(2), 77–80.
- Бессонова, В. П. (1992). Вплив важких металів на пігментну систему листка. *Український ботанічний журнал*, 49(2), 63–66.
- Бессонова, В. П. (1999). *Цитофизиологические эффекты воздействия тяжелых металлов на рост и развитие растений*. Запорожье: ЗГУ.
- Бессонова, В. П. (2006). *Вплив важких металів на фотосинтез*. Запоріжжя: Юлік-ЛТД.

Бессонова, В. П., Зайцева І. А. (2008). Вміст важких металів у листі дерев і чагарників в умовах техногенного забруднення різного походження. *Питання біоіндикації та екології*, 62–77.

Бессонова, В. П., Іванченко, О. Є., Пономарьова, О. А. (2015). Одночасний вплив важких металів (Pb^{2+} і Cd^{2+}) та засолення на стан асиміляційного апарату і вміст пігментів фотосинтезу пажитниці багаторічної. *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія*, 23(1), 15–20.

Бессонова, В. П., Іванченко, О. Є. (2019). Оцінка видового різноманіття та життєвого стану придорожніх насаджень пр. С. Нігояна м. Дніпро. *Питання біоіндикації та екології*, 24(1), 36–56.

Бова, В. М., Гратилю, О. Д. (2008). Добір багаторічних і однорічних трав при створенні пасовищного конвеєра для великої рогатої худоби і овець в Присивашші. *Корми і кормовиробництво*, 63, 76–81.

Бойко, Н. В., Чонка, І. І., Чонка, І. А. (2000). Радіологічне обстеження трави і молока в Закарпатській області України та визначення в них умісту деяких важких металів. *Науковий вісник Ужгородського державного університету: Біологія*, 8, 151–154.

Бойко, Н. В., Чонка, І. І., Ніколайчук, В. І. (2000). Динаміка валового вмісту деяких важких металів в ґрунтах Закарпатської області. *Гігієна населених місць*, 40, 120–125.

Бойко, Н. В., Балажі, Ш. (Ред.). (2008). Забруднювачі та їх впливи на екологічно-вразливі екосистеми Верхнього Потисся. Ужгород-Ніредьгаза: Bessenyei Gyorgy.

Бомба, М. (1998). Розширимо площі бобових. *Тваринництво України*, 2, 22–23.

Вакерич, М. М., Ніколайчук, В. І. (2009). До вивчення шляхів зниження фітотоксичної дії важких металів на розвиток рослин. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 25, 59–61.

Вакерич, Михайло. 2010. Аутоекологічні дослідження реакції *Avena Sativa* L. за дії сполук купруму. Автореф. дис. канд. біол. наук, Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича.

Вакерич, М. М., Денчиля, Г. М. (2008). Дослідження толерантності вівса посівного до різних концентрацій мідного купоросу. *Довкілля і здоров'я людини: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції*. (17–19). Ужгород.

Валерко, Р. А. (2008). Забруднення важкими металами ґрунтового покриву і фітоценозів на території м. Житомира та прилеглих до нього агроєкосистем. *Вісник Державного агроєкологічного університету*, 1, 356–366.

Ваулина, Э. Н., Анিকেєва, И. Д., Коган, И. Г. (1978). Влияние ионов кадмия на деление клеток корневой меристемы *Crepis capillaries* (L.) Wallr. *Цитология и генетика*, 12(6), 497–502.

Виноградов, А. П. (1985). Основные закономерности в распределении микроэлементов между растениями и окружающей средой. *Микроэлементы в жизни растений и животных*. (С. 7–20). Москва: Наука.

Виноградов, А. П. (1940). Содержание меди в различных почвах (к вопросу о происхождении так называемой «болезни обработки злаков»). *ДАН СССР*, 1002–1006.

Власюк, П. А. (1965). Итоги и задачи научных исследований по проблеме «Биологическая роль микроэлементов в жизни растений». *Применение микроэлементов в сельском хозяйстве*. (С. 3–17). Киев: Наукова Думка.

Власюк, П. А. (1969). *Биологические элементы в жизнедеятельности растений*. Киев: Наукова Думка.

Власюк, П. А., Жидков, В. А., Ивченко, В. И. (1976). Микроэлементы в обмене веществ растений. Киев: Наукова Думка.

Гандзюра, В. П., Грубінко, В. В. (2008). *Концепція шкодочинності в екології*. Київ-Тернопіль: Вид-во ТНПУ ім. В. Гнатюка.

Гандзюра, В. П. (2002). *Продуктивність біосистем за токсичного забруднення середовища важкими металами*. Київ: ВГЛ «Обрії».

Гливляс, Н. В., Ніколайчук, В. І. (2001). Вплив важких металів на ріст рослин та вміст хлорофілу в листках *Lotus corniculatus L.* *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 9, 311–313.

Головач, О. М., Козловський, В. І., Демків, О. Т. (2004). Забруднення сільськогосподарських ґрунтів важкими металами та характер їхнього перерозподілу у рослинах кукурудзи. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 38, 205–210.

Гомонай, В. І., Богоста, А. С., Ходаковський, В. С., Лобко, В. Ю. (2009). Динаміка зміни вмісту важких металів в ґрунтах м. Ужгорода. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Хімія*, 21-22, 139–142.

Гомонай, В. І., Богоста, А. С., Ходаковський, В. С., Лобко, В. Ю. (2010). Забруднення ґрунтів деяких населених пунктів Закарпатської області. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Хімія*, 23, 73–76.

Гончар, Л. М. (2016). Дія колоїдного розчину міді та цинку на проростання насіння вівса. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, 4, 45–48.

Грабовський, О. В. (2001). Важкі метали та їх вплив на екологічну ситуацію в Закарпатській області. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 9, 30–32.

Грабовський, Олександр. (2002). Міграція та акумуляція важких металів в агроценозах, прилеглих до автомагістралей, в умовах Закарпаття. Автореф. дис. канд. біол. наук, Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича.

Григун, О. А., Антипова, Л. К., Кривогуз, В. С. (2008). Ентомокомплекс у посівах люцерни. *Карантин і захист рослин*, 4, 16–19.

Гришко, В. М., Сіліч, І. О. (2015). Деякі особливості формування насіння *Taraxacum officinale* Wigg. в умовах різного рівня забруднення. *Вісник Львівського національного університету: Серія біологічна*, 69, 45–56.

Гришко, В. М., Демура, Т. А. (2009). Перебіг процесів пероксидного окиснення ліпідів та роль аскорбінової кислоти у формуванні адаптаційного синдрому рослин за сумісної дії кадмію та нікелю. *Доповіді Національної академії наук України*, 2, 154–162.

Гришко, В. М., Зубровська, О. М. (2015). Накопичення важких металів та перебіг вільнорадикальних реакцій в асиміляційних органах деревних рослин в умовах забруднення. *Физиология растений и генетика*, 47(1), 47–57.

Гришко, В. М., Сыщиков, Д. В. (2012). *Функционирование глутатионзависимой антиоксидантной системы и устойчивость растений при действии тяжелых металлов и фтора*. Киев: Наукова Думка.

Гуральчук, Ж. З. (1994). Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам. *Физиология и биохимия культурных растений*, 26(2), 107–117.

Гуральчук, Ж. З. (2006). *Фітотоксичність важких металів та стійкість рослин до їх дії*. Київ: Логос.

Дегодюк, Е. Г., Дегодюк, С. Е., Черній, І. П. (2001). Еколого-агрохімічні і правові аспекти мінерального живлення рослин. *Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть*, 1, 187–199.

Демидась, Г. І., Галушко, І. В. (2018). Кормова продуктивність конюшини лучної залежно від технології вирощування в правобережному лісостепу. *Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Агрономія*, 286, 11–18.

Державин, Л. М. (1991). Химизация и экология. *Химизация сельского хозяйства*, 7, 3–7.

Дмитрук, Ю. М. (1999). Цинк у ґрунтах і рослинах агроєкосистем Прут-Дністровської височенної лісостепової області. *Науковий вісник Чернівецького університету Серія біологічна*, 39, 179–201.

Дмитрук, Ю. М. (2004). Еколого-геохімічний аналіз міграції і вмісту важких металів у ґрунтах елементарних ландшафтів. *Ґрунтознавство*, 5(3–4), 26–42.

Добровольский, В. В. (1997). Биосферные циклы тяжелых металлов и регуляторная роль почвы. *Почвоведение*, 4, 431–441.

Забарна, Т. А. (2010). Вплив факторів інтенсифікації на формування листостеблової та кореневої маси рослин конюшини лучної. *Наукові основи землеробства у зв'язку з потеплінням клімату: Матеріали доповідей міжнародної науково-практичної конференції*. (С. 139–141). Миколаїв.

Забарна, Т. А. (2011). Симбіотична продуктивність конюшини лучної залежно від факторів інтенсифікації в польовому кормовиробництві. *Корми і кормовиробництво*, 70, 65–70.

Забарна, Т. А. (2018). Вплив конюшини лучної на підвищення родючості ґрунтів. *Збірник наукових праць. Національний науковий центр «Інститут землеробства НААН»*, 3. (С. 104–118).

Запрута, О. А., Антонів, С. Ф., Коновальчук, В. В. (2017). Ефективність ад'ювантів у насінневих посівах лядвенцю рогатого. *Корми і кормовиробництво*, 84, 62–69.

Захарченко, І. Г., Шиліна, Л. І. (1975). Баланс поживних речовин у землеробстві Української РСР. *Землеробство*, 40, 3–11.

Зінченко, О. І. (1994). *Кормовиробництво*. Київ: Вища школа.

Зырин, Н. Г., Белицина, Г. В. (1981). *Микроэлементы в почвах СССР (Подвижные формы в почвах ЕЧС)*. Москва: МГУ.

Иванищев, В. В., Минайчев, В. В., Кузнецов, Д. А. (2016). *Проектная деятельность в школе по биологии растений*. Саарбрюккен: LAP LAMBERT.

Иванов, В. Б., Быстрова, Е. И., Серегин, И. В. (2003). Сравнение влияния тяжелых металлов на рост корня в связи с проблемой специфичности и избирательности их действия. *Физиология растений*, 50(3), 445–454.

Ількун, Г. М., Маховська, М. Ю. (1978). Очищення повітря рослинами від сполук свинцю. *Український ботанічний журнал*, 35(3), 246–248.

Ильин, В. Б. (1991). *Тяжелые металлы в системе почва - растение*. Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние.

Ильин, В. Б. (2006). К оценке массопотока тяжелых металлов в системе почва-сельскохозяйственная культура. *Агрoхимия*, 3, 52–65.

Кабата-Пендиас, А., Пендиас, Х. (1989). *Микроэлементы в почвах и растениях*. Москва: Мир.

Кавулич, Я. З., Кобилецька, М. С, Терек, О. І. (2016). Вплив саліцилової кислоти на пігментну систему рослин гречки за токсичного впливу кадмію хлориду. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 72, 210–217.

Кашнер, Д. (1981). (Ред.). *Жизнь микробов в экстримальных условиях*. Москва: Мир.

Каштанов, А. Н., Кузнецова, Е. И., Румянцева, Т. С (2003). Влияние развития корневой системы многолетних трав и удобрений на противозерозивные процессы. *Кормопроизводство*, 11, 19–23.

Кирилеско, О. Л. (2002). Продуктивність та розміри накопичення біологічного азоту бобовими травами при залуженні схилівих земель виведених із ріллі. *Корми і кормовиробництво*, 48, 202–205.

Ковалевский, А. Л. (1969). Основные закономерности формирования химического состава растений. *Биогеохимия растений*. (С. 6–28). Улан-Удэ: Бурятское кн. изд-во.

Коваленко, В. П. (2017). Оптимізація удобрення і його роль у формуванні продуктивності фітомаси сортів конюшини лучної. *Наукові доповіді Національного університету Біоресурсів і природокористування України*, 1(65). URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/view/8118/7760>.

Коваленко, Віталій. (2020). Агробіологічні основи підвищення продуктивності багаторічних бобових трав у різних ґрунтово-кліматичних зонах України. Дис. докт. с.-г. наук, Державний вищий навчальний заклад «Херсонський державний аграрний університет», Херсон, 2020.

Ковальчук, Н. П. (2011). *Еколого-біологічні проблеми зелених насаджень м. Луцька*. Луцьк: РВВ ЛНТУ.

Ковда, В. А. (1985). *Биохимия почвенного покрова*. Москва: Наука.

Ковирягіна, Н. І. (2006). *Екологія та людина (метали в навколишньому середовищі)*. Харків.

Козловський, В. І., Романюк, Н. Д., Терек, О. І., Чонка, І. І., Колесник, О. Б., Болаші, Ш., Бойко, Н. В. (2005). Важкі метали у ґрунтах та рослинах заплави ріки Тиса. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 40, 35–50.

Козловський, В. І. (2008). Важкі метали в ґрунтах техногенних ландшафтів родовищ самородної сірки Передкарпаття (Україна). *Ґрунтознавство*, 9(3–4), 101–107.

Колупаев, Ю. Е., Карпец, Ю. В. (2010). *Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров*. Киев.

Комарова, Ірина. (2019). Еколого-біологічні особливості *Taraxacum officinale* Wigg за дії забруднення важкими металами в умовах промислового Криворіжжя. Автореф. дис. канд. біол. наук, Дніпровський національний університет ім. Олеся Гончара.

Комендар, В. І., Скунець, П. М., Гнатюк, М. Ю. (1985). *Зелені перлини Карпат*. Ужгород: Карпати.

Коць, С. Я., Петерсен Н. В (2005). *Мінеральні елементи і добрива в живленні рослин*. Київ: Логос.

Кургак, В. Г. (1995). Бобові трави для сіяних лучних травостоїв. *Тваринництво України*, 10, 27–29.

Лихолат, Ю. В., Мицик, Л. П. (2000). Рівень акумуляції важких металів у рослинах *Poa angustifolia* L. в штучних біогеоценозах. *Питання степовогліскознавства та лісової рекультивації земель*. (С. 25–28). Дніпропетровськ: ДНУ.

Лихолат, Ю. В., Григорюк, І. П. (2005). Використання дерновоутворюючих трав для діагностики рівня забруднення навколишнього

середовища важкими металами. *Доповіді Національної академії наук України*, 8, 196–200.

Лянгузова, И. В. (1999). Влияние никеля и меди на прорастание семян и формирование проростков черники. *Физиология растений*, 46(3) 500–502.

Лянгузова, И. В. (2011). Влияние аэротехногенного загрязнения на прорастание семян и рост проростков дикорастущих растений. *Физиология растений*, 58(6), 844–852.

Мажайский, Ю. А., Евтюхин, В. Ф. Резникова, А. В. (2001). *Экология агроландшафта Рязанской области*. Москва: Изд-во МГУ.

Маєвська, С. М., Кардаш, О. Р., Демків, Л. О., Лобачевська, О. В. (2000). Особливості поглинання іонів важких металів мохом *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) Т. Кор. та його реакція на їх токсичну дію. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 26, 134–141.

Мельничук, Ю. П. (1990). *Влияние ионов кадмия на клеточное деление и рост растений*. Киев.

Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельскохозяйственных угодий и продукции растениеводства. (1992). Москва: ЦИНАО.

Мислива, Т. М., Онопрієнко, Л. О. (2009). Важкі метали в урбоедафотобах і фітоценозах на території м. Житомира. *Вісник Харківського національного аграрного університету ім. В. В. Докучаєва*, 1, 89–95.

Мислива, Т. М. (2010). Мідь у ґрунтах Житомирського. *Вісник Житомирського національного агроекологічного університету*, 2, 30–45.

Міхєєв, О. М., Лапань, О. В. (2019). Вплив іонів кадмію (II) на ростові характеристики рослинного компоненту біоплато. *Фізіологія рослин і генетика*, 51(4), 338–346.

Мотузова, Г. В., Попова, А. А. (1989). Зависимость подвижности цинка от химических свойств почв. *Агрохимия*, 9, 81–88.

Мусієнко, М. М., Гандзюра, В. П., Ігнатюк, О. А. (1998). Вплив свинцю на біопродукційні параметри гідромакрофітів. *Український ботанічний журнал*, 55(6), 609–614.

Мусієнко, М. М., Косик О. І. (2002). Вплив свинцю на еколого-фізіологічні показники рослин. *Вісник Київського університету. Біологія*, 36, 37–40.

Нестерова, А. Н. (1989). Действие тяжелых металлов на корни растений. Поступление свинца, кадмия и цинка в корни, локализация металлов и механизмы устойчивости растений. *Биологические науки*, 9, 72–86.

Николаевский, В. С. (1979). *Биологические основы газоустойчивости растений*. Новосибирск: Наука.

Ніколайчук, В. І., Рошко, В. Г., Грабовський, О. В. (2001). Важкі метали та їх вплив на екологічну ситуацію в Закарпатській області. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 9, 30–32.

Ніколайчук В. І., (2004). *Екологічний стан Закарпаття. Проблеми і перспективи*. Ужгород: П.П. «Медіум».

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.

Ольхович, О. П., Смирнова, Н. Г. (1995). Содержание пигментов в высших водных растениях под влиянием тяжелых металлов. *Український ботанічний журнал*, 53(2), 213–219.

Орлов, Д. С., Садовникова, Л. К., Лозановская, И. Л. (2002). *Экология и охрана биосферы при химическом загрязнении*. Москва.

Пайкова, Н. В. (1986). Накопление сухого вещества и азота растениями клевера лугового и тимофеевки луговой при различных уровнях минерального азота в почве. *Доклады ВАСХНИЛ*, 4, 22–25.

Пасічний, Г. В., Сердюк, С. М. (2002). Динаміка важких металів у ґрунтовому покриві у зв'язку з техногенним забрудненням оточуючого середовища (на прикладі м. Дніпропетровська). *Екологія і природокористування*. Наукові праці Інституту проблем природокористування та екології НАН України. (С. 111–117). Дніпропетровськ.

Парибок, Т. А. (1983). Загрязнение растений металлами и его эколого-физиологические последствия. *Растения в экстремальных условиях минерального питания*, 82–99.

Пейве, Я. В. (1961). *Биохимия почв*. Москва: Сельхозизгиз.

Перельман, А. И. (1989). *Геохимия: учебн.* 2-е изд. Москва: Высшая Школа.

Перельман, А. И., Касимов, Г. Н. (1999). *Геохимия ландшафтов*. Москва: Астрей.

Перелік методик визначення складу та властивостей ґрунтів, чинних в Україні. (2002). ННЦ Інститут ґрунтознавства та агрохімії ім. О.Н. Соколовського, Харків.

Петриченко, В. Ф. (2007). Теоретичні основи інтенсифікації кормовиробництва в Україні. *Вісник аграрної науки*, 10, 19–22.

Петрова, С. Н., Парасин, Н. В. (2000). Симбиотическая фиксация азота многолетними бобовыми травами. *Кормопроизводство*, 3, 16–19.

Петрук, В. Г., Васильківський, І. В., Іщенко, В. А., Петрук, Р. В., Турчик, П. М. (2013). *Нормування антропогенного навантаження на навколишнє середовище*. Вінниця: ВНТУ.

Разанов, С. Ф., Ткачук, О. П. (2017). Динаміка зміни концентрації важких металів у ґрунті при вирощуванні бобових багаторічних трав. *Збалансоване природокористування*, 4, 140–143.

Рэуце, К., Кырстя, С. (1986). *Борьба с загрязнением почвы*. Москва: Агропромиздат.

Риженко, Н. О. (2012). Біокумуляція Pb, Cd, Zn, Cu при імпактічному забрудненні – екотоксикологічний критерій якості довкілля. *Екологічні науки*, 1, 46–55.

Рижук, С. М., Слюсар, І. Т., Вергунов, В. А. (2002). Агроекологічні особливості високоефективного використання осушуваних торфових ґрунтів Полісся і Лісостепу. Київ: Аграрна наука.

Рошко, В. Г., Грабовський, О. В. (1999). Оцінка забруднення важкими металами агроценозів, межуючих з автомагістралями. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 6, 259–262.

Рязанова, М. Є. (2013). Мідь як важливий елемент для росту і розвитку рослин. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 35, 25–29.

Савченко, І. Н., Антипова, Л. К., Макарова, Г. А. (2007). Питательность люцерны разных сортов в условиях неорошаемых черноземов южных Степи Украины. *Причерноморская региональная научно–практическая конференция профессорско-преподавательского состава: Материалы докладов*. (С. 30–31). Николаев.

Сараненко, І. І. (2005). Біогеохімічні аномалії накопичення важких металів у ґрунтах промислових центрів (на прикладі м. Кременчука). *Ґрунтознавство*, 6(1–2), 62–66.

Сараненко, Ірина. 2006. Вплив важких металів на підсистему «ґрунт-рослина» в лісових культур біогеоценозах м. Кременчука. Автореф. дис. канд. біол. наук, Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара.

Сараненко, І. І. (2011). Екологічні дослідження лісових культур біогеоценозів м. Кременчука. Кременчук: Вид-во ПП Щербатих О. В.

Сердюк, Світлана (2004). Екологічна оцінка забруднення важкими металами урбанізованих територій Дніпропетровсько-Дніпродзержинської агломерації. Автореф. дис. канд. біол. наук, Дніпровський національний університет ім. Олеса Гончара.

Сердюк, С. Н. (2007). Диагностика загрязнения тяжелыми металлами почвенного покрова индустриально-урбанизированных территорий. *Екологія та ноосфера*, 19 (1–2), 55–60.

Серегин, И. В., Иванов, В. Б. (1997). Является ли барьерная функция эндодермы единственной причиной устойчивости ветвления корней к солям тяжелых металлов. *Физиология растений*, 44, 922–925.

Серегин, И. В., Иванов, В. Б. (2001). Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения. *Физиология растений*, 48(4), 606–630.

Серегин, Илья. 2009. «Распределение тяжелых металлов в растениях и их действие на рост». Автореф. докт. биол. наук, Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева.

Серегин, И. В., Кожевникова, А. Д. (2006). Физиологическая роль никеля и его токсическое действие на высшие растения. *Физиология растений*, 53(2), 285–308.

Серегин, И. В., Кожевникова, А. Д., Грачева, В. В., Быстрова, Е. И., Иванов, В. Б. (2011). Распределение цинка по тканям корня проростков кукурузы и его действие на рост. *Физиология растений*, 58(1), 85–94.

Симканич, О. І., Сухарев, С. М. (2013). Розподіл важких металів по профілю ґрунтів Національного природного парку «Зачарований край». *Екологічна безпека та збалансоване ресурсокористування*, 1(7). 53–59.

Сытник, К. М., Мусатенко, Л. И., Богданова, Г. Л. (1978). *Физиология листа*. Киев: Наукова думка.

Слюсарчук, І. І., Дмитрук, Ю. М. (2004). Особливості профільного розподілу важких металів у сірих лісових ґрунтах агроєкосистем західного лісостепу. *Науковий вісник Чернівецького університету: Біологія*, 193, 160–167.

Случик, І. Й., Стефурак, В. П. (2000). Акумуляція важких металів у пагонах видів роду *Populus* L. в умовах урбанізованого середовища. *Науковий вісник Чернівецького університету: Біологія*, 77, 51–59.

Скрипниченко, И. И., Золотарева, Б. Н. (1981). Оценка токсического действия тяжелых металлов (свинца) на растения овса. *Агрохимия*, 1, 103–109.

Таланова, В. В., Титов, А. Ф., Боева, Н. П. (2001). Влияние возрастающих концентраций тяжелых металлов на рост проростков ячменя и пшеницы. *Физиология растений*, 48(1), 119–123.

Титов, А. Ф., Таланова, В. В., Казнина, Н. М., Лайдинен, Г. Ф. (2007). *Устойчивость растений к тяжелым металлам*. Петрозаводськ: Ин-т биологии КарНЦ РАН.

Тарабрин, В. П. (1980). Устойчивость растений к промышленному загрязнению окружающей среды. *Промышленная ботаника*, 52–108.

Топчій, Н. М. (2010). Вплив важких металів на фотосинтез. *Физиология и биохимия культурных растений*, 42(2), 95–106.

Удрис, Г. А., Нейланд, Я. А. (1981). *Биологическая роль цинка*. Рига: Зинатне.

Цветкова, Н. М., Клименко, Т. К. (2005). Техногенні аномалії важких металів у ґрунтах урболандшафтів степового Придніпров'я (на прикладі м. Дніпродзержинська). *Ґрунтознавство*, 6(1–2), 45–52.

Цветкова, Н. Н. (1992). *Особенности миграции органо-минеральных веществ и микроэлементов в лесных биогеоценозах степной Украины*. Днепропетровськ: ДГУ.

Цветкова, Н. М., Пахомов, О. Є., Сердюк, С. М., Якуба, М. С. (2016). *Біологічне різноманіття України. Дніпропетровська область. Ґрунти. Метали у ґрунтах*. Дніпропетровськ: Ліра.

Чонка, Іванна. (2011). Екологічні особливості впливу сміттєзвалищ на стан екосистем транскордонного регіону Берез: автореф. дис. канд. біол. наук: НАН України. Інститут агроєкології і економіки природокористування.

Швартау, В. В., Михальська, Л. М., Стратієвський, Д. А. (2013). *Хвороби, шкідники та прояви дефіциту елементів живлення зернових культур*. Київ: Байер.

Фатєєв, А. І., Пащенко, Я. В. (Ред.) (2003). *Фоновий вміст мікроелементів у ґрунтах України*. Харків: ННЦ «Інститут ґрунтознавства та агрохімії ім. О. Н. Соколовського».

Фатєєв, А. І., Мірошніченко, М. М., Самохвалова, В. Л., Биндич, Т. Ю. (1999). До питання оцінки рівнів небезпеки забруднення ґрунтів важкими металами. *Вісник аграрної науки*, 10, 39–62.

Хаданович, А. В., Свириденко, В. Г., Дроздова, Н. І., Суховєєв, В. В. (2012). Надходження і розподіл йонів купруму(II), цинку, плюмбуму(II), кадмію в системі ґрунт – рослина. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія: хімія*, 19, 58–62.

Яворовський, П. П., Лихолат, Ю. В., Григорюк, І. П., Балалаєв, О. К., Пелипенко, О. О. (2007). Акумуляція важких металів в органах квітково-декоративних рослин за різних екологічних умов. *Доповіді Національної академії наук України*, 7, 203–207.

Яковлева-Носарь, С. О. (2008). Вплив важких металів і кислих газів на початковій стадії розвитку *Robinia pseudoacacia* L. у модельних експериментах. *Питання біоіндикації та екології*, 13 (2), 87–107.

Якуба, М. С., Цветкова, Н. Н., Дубина, А. А. (2002). Кадмій в почвах природних лесних біогеоценозів степної зони України. *Сохранение почвенного разнообразия в естественных ландшафтах*. Тези доповідей 5-х докучаєвських молодіжних читань. (С. 152–153). Санкт-Петербург.

Ярмолюк, М. Т., Котяш, У. О., Демчишин, Н. Б. (2010). *Екобіологічні й агротехнічні основи створення та використання трав'янистих фітоценозів*. Львів: ПАІС.

Adriano, D. C. (2001). *Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals*. 2nd Edition, Springer.

Alia, P.S.P., & Mohanty, P. (1990). Effect of zinc on free radicals and proline in *Brassica juncea* and *Cajanus caja*. *Phytochemistry*, 39, 45–47.

Azevedo, R., Cromley, J. G., Winters, F. I., Moos, D. & Greene, J. A. (2005). Adaptive human scaffolding facilitates adolescents' self-regulated learning with hypermedia. *Instructional science* 33(5–6), 381–412.

Baker, A.J.M., & Walker, P. L. (1990). Ecophysiological of metal uptake by tolerant plants (pp. 155-157). In: Shaw A.J. (Ed.). Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects. CRC Press, Boca Raton F. L.

Barbarick, K. A., & Ippolito, J. A. (2003). Termination of sewage biosolids application affects wheat yield and other agronomic characteristics. *Agronomy Journal*, 95, 1288–1294.

Barceló, J., & Poschenrieder, C. (1990). Plant water relations as affected by heavy metal stress. *Plant Nutrition*, 13(1), 1–37.

Barrow, N. J. & Cox V. C. (1992). The effects of pH and chloride concentration on mercury sorption. I. By goethite. *Soil Science*, 43, 295–304.

Blaylock, M. J., Salt, D. E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B. D., & Raskin, I. (1997). Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31, 860–865.

Brune, A., Urbach, W., & Dietz, K.-J. (1995). Differential toxicity of heavy metals is partly related to a loss of preferential extraplasmatic compartmentation: A comparison of Cd-, Mo-, Ni-, and Zn-stress. *New Phytologist*, 129, 403–409. Doi: 10.1111/j.1469-8137.1995.tb04310.x

Brune, A., Urbach, W., & Dietz, K.-J. (1994). Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance. *Plant Cell Environ*, 17, 153–162.

Bussler, W. (1989). Nährstoffüber schuss in höheren Pflanzen auftretende Symptome. *Z. Pflanzenernähr und Bodenkunde*. Bonn.

Burzyński, M., & Kłobus, G. (2004). Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd and Pb stress. *Photosynthetica*, 42(4), 505–510.

Busuioc, G., Nitu, I., Stih, C., & Gheboianu, A. (2008). The capacity of some *Trifolium pratense* cultivars for accumulation heavy metals. *Bulletin of university of Agriculturae Sciences And Veterinary Medicine Clus Napocaulture*, 2, 174.

Cakmak, I., Torun, B., Erenoglu, B., Oztiirk, L., Marschner, H, Kalayc, M., & Ekiz, H. (1998). Morphological and Physiological Differences in Cereals in Response to Zinc Deficiency. *Euphytica*, 100, 349–357.

Chirenje, T. (2006). Retention of Cd, Cu, Pb and Zn by wood ash, lime and fume dust. Q.Y. Ma, L. Lu. *Water, Air, and Soil Pollution*, 171, 301–314.

Caspi, V., Droppa, M., Horvath, G., Malkin, S., Marder, J. B., & Raskin, V. I. (1999). The effect of copper on chlorophyll organization during greening of barley leaves. *Photosynthesis Research*, 62, 65–174.

Chaudri, A. M., McGrath, S. P., & Giller, K. E., (1992). Metal tolerance of isolates of *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii from soil contaminated by past applications of sewage sludge. *Soil Biology Biochemistry*, 24, 83–88.

Clemens, S. (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 88, 1707–1719.

Coppenet, M. Golven, J. Simon, J. C. (1993). Chemical evolution of soils in intensive animal-rearing farms. The example of Finestere. *Agronomie*, 13, 77–83.

Corey, R. B., King, L. D., Lue-Hing, C., Fanning, D. S., Street, J. J., Walker J. M. (1987). Effects of sludge properties on accumulation of trace elements by crops. Land application of sludge: Food chain implications. Lewis Publishers, Chelsea, 25–51.

Dang, Y. P., Edwards, D. G., Dalai, R. C., Tiller, K. G. (1993). Identification of an index tissue to predict zinc status of wheat. *Plant Soil*, 154, 161–167.

Deng, H., Z. H. Ye, M. H. Wong (2004). Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environmental pollution*, 132 (1), 29–40.

Degryse, F., Verma, V. K., & Smolders, E. (2008). Mobilization of Cu and Zn by root exudates of dicotyledonous plants in resin-buffered solutions and in soil. *Plant Soil*, 306, 69–84.

Ernst, W.H.O. (2000). Evolution of metal hyperaccumulation and phytoremediation hype. *New Phytologist*, 146, 357–358.

Fernandes, J. C. & Henriques, F. (1990). Heavy metal contents of paddy fields of Alcácer do Sal, Portugal. *Sci. Total Environ*, 90, 89–97.

Gamalero, E., Lingua, G., Berta, G., Glick, B. R. (2009). Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress. *Canadian Journal of Microbiology*, 55 (5), 501–514.

Graham, R. D., Ascher, J. S., Hynes, S. C. (1992). Selecting Zinc-efficient Cereal Genotypes for Soils of Low Zinc Status. *Plant and Soil*, 146, 241–250.

Graham, R. D. & Welch, R. M. (1996). Breeding for staple-food crops with high micronutrient density. Agricultural Strategies for Micronutrients. Working Paper.

Granato, T. C., Pietz, R. I., Knafl, G. J., Carlson, P., & Lue-Hing, C. (2004). Trace element concentrations in soil, corn leaves, and grain after cessation of biosolids applications. Lue-Hing C. *Journal of Environmental Quality*, 33, 2078–2089.

Hagemeyer, J. (1999). Ecophysiology of plant growth under heavy metal stress. Heavy metal stress in plant: from molecules to ecosystems. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 157–181.

Hamilton, M. A., Westermann, D. T., James, D. W., (1993). Factors affecting zinc uptake in cropping systems. *Soil Science Society of America Journal*, 57, 1310–1315.

Hall, J. L. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53(366), 1–11.

Kabata-Pendias, A., & Pendias, H. (1992). Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton.

Kabata-Pendias, A. (2011). Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton.

Kholodova ,V. P., Ivanova, E. M., Kuznetsov, V. V. (2011). Initial steps of copper detoxification: outside and inside of the plant. *Soil Biology Detoxification of Heavy Metals*, 30, 143–167.

Khudsar, T., Mahmooduzzafar, Iqbal, M. & Sairam, R. K. (2004). Zinc-induced changes in morpho-physiological and biochemical parameters in *Artemisia annu*. *Biologia plantarum*, 48(2), 255–260.

Khurana, V., Lu, Y., Steinhilb, M. L., Oldham, S., Shulman, J. M., & Feany, M. B. (2006). TOR-mediated cell-cycle activation causes neurodegeneration in a *Drosophila* tauopathy model. *Current Biology* 16(3), 230–241.

Kele, G. Sz., Búzás, M. H., Pálmai, O., Marth, P., & Szabados, I. (2002). Survey of heavy metal contamination in the flood area of the river Tizsa in Hungary. Symposium 17th WCSS, 14–21 August 2002. Tailand.

Kinght, B., Zhao, E. J., McGrath, S. P., & Shen, Z. G. (1997). Zinc and cadmium uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* in contaminated soils and its effects on the concentration and chemical speciation of metal in soil solution. *Plant Soil*, 197, 71–78.

Krupa, Z., & Baszyński, T. (1995). Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus – direct and indirect effects on light and dark reactions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 17, 177–190.

Linde, M., Oborn, I., & Gustafsson, J. P. (2007). Effects of Changed Soil Conditions on the Mobility of Trace Metals in Moderately Contaminated Urban Soils. *Water Air Soil Pollution*, 183, 69–83.

Lindsay, W. L. (1972). Zinc in soils and plant nutrition. *Advances in Agronomy Journal*, 24, 147–186.

Little, P. E. (1973). A study of heavy metal contamination of leaf surfaces. *Environmental Pollution*, 5(3), 159–172.

McBride, M. B. (1995). Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: Are USEPA regulations protective , *Journal of Environmental Quality*, 24, 5–18.

Miyazawa, M., Gimenez, S.M.N., Oliveira, E., & Kamogawa, M. (2002). Absorption and toxicity of copper and zinc in bean plants cultivated in soil treated with chicken manure. *Water, Air, and Soil Pollution*, 138, 211–222.

Nan, Z., Zhao, C., J. Li, F. Chen, & Sun, W. (2002). Relations between soil properties and selected heavy metal concentrations in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Water, Air, and Soil Pollution*, 133, 205–213.

Nan, Z. & Zhao, C. (2000). Heavy Metal Concentrations in Gray Calcareous Soils of Baiyin Region. *Water, Air, and Soil Pollution*, 118, 131–142.

Nolan, A. L., Zhang, H., & McLaughlin, M. J. (2005). Prediction of zinc, cadmium, lead, and copper availability to wheat in contaminated soils using chemical speciation, diffusive gradients in thin films, extraction, and isotopic dilution techniques. *Journal of Environmental Quality*, 34, 496–507.

Oliver, W., Hass, A., Merrington, G., Fine, P., & McLaughlin, M. J. (2005). Copper availability in seven israeli soils incubated with and without biosolids. *Journal of Environmental Quality*, 34, 508–513.

Panda, S. K., Chaudhury, I., & Khan, M. N. (2003). Heavy metals induce lipid peroxidation and affect antioxidants in wheat leaves. *Biologia Plantarum*, 46(2), 289–294.

Parker, M. B., & Walker, M. E. (1986). Soil pH and Manganese Effects on Manganese Nutrition of Peanut. *Agronomy Journal*, 78, 614–620.

Poschenrieder, C., Gunesé, B., & Barceló, J. (1989). Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance, and abscisic acid content in expanding bean leaves. *Plant Physiology*, 90, 1365–1371.

Poschenrieder, C., & Barceló, J. (1999). Water relation in heavy metals stressed plants. Heavy Metal Stress in Plants. *From Molecules to Ecosystems*, 207–231.

Punz, W. F., & Sieghardt, H. (1993). The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. *Environmental and Experimental Botany*, 33, 85–98.

Reichman, S. M. (2002). The Responses of Plants to Metal Toxicity: A Review Focusing on Copper, Manganese and Zinc. In: Reichman, S.M., Ed.,

Symptoms and Visual Evidence of Toxicity Melbourne, Australian Minerals and Energy Environment Foundation, Melbourne, 22–26.

Rieuwerts, J. S., Thornton, I., Farago, M. E., & Ashmore, M. R. (1998). Factors influencing metal bioavailability in soils: Preliminary investigations for the development of a critical load approach for metals. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 10, 61–75.

Tamás J. (2002). Talajremediáció. Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum. Debrecen: Mezőgazdaságtudományi Kar.

Titov, A. F., Talanova, V. V., & Boeva, N. P. (1996). Growth responses of barley and wheat seedlings to lead and cadmium. *Biologia Plantarum*, 38(3), 431–436.

Schat, H., Sharma, S. S., & Vooijs, R. (1997). Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiologia Plantarum*, 101, 477–482.

Shah, K., & Dubey, R. S (1998). A 18 kDa cadmium inducible protein complex from rice: its purification and characterization from rice (*Oryza sativa* L.) roots tissues. *Plant Physiology*, 152, 448–454.

Simon, L. (2001). Effects of natural zeolite and bentonite on the phytoavailability of heavy metals in chicory Environmental Restoration of Metals Contaminated Soil. *Chapter 13 Lewis Publishers, Boca Raton*, 261–271. doi: 10.1201/9781420026269.ch13.

Sloan, J. J., Dowdy, R. H., Dolan, M. S., & Linden, D. R. (1997). Long-Term Effects of Biosolids Applications on Heavy Metal Bioavailability in Agricultural Soils. *Journal of Environmental Quality*, 26, 966–974.

Siedlecka, A. (1995). Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 64(3), 262–272.

Stiborova, M., Doubravova, M., & Brezninova, A. (1988). Mechanism of action of Cu, Cd and Zn on ribulose 1,5-biphosphate carboxylase from barley (*H. vulgare* L.). *Photosynthetica*, 22, 161–167.

Vassilev, A., Berova, M., & Zlatev, Z. (1998). Influence of Cd²⁺ on growth, chlorophyll content, and water relations in young barley plants. *Biology of Plant*, 41(4), 601–606. doi: 10.1023/a:1001856819797.

Vassilev, A., Yordanov, I., & Tsonev, T. (1997). Effect of Cd²⁺ on the physiological state and photosynthetic activity of young barley plants. *Photosynthetica*, 34, 293–302.

Vassilev, A. (2002). Physiological and agroecological aspects of cadmium interactions with barley plants: an overview. *Journal of Central European Agriculture*, 4(1), 65–74.

Vyn, T. J., Faber, J. G., Janovicek, K. J., & Beauchamp, E. G. (2000). Cover crop effects on nitrogen availability to corn following wheat. *Agronomy Journal*, 92, 915–924.

Wagner, G. J. (1993). Accumulation of Cadmium in Crop Plants and Its Consequences to Human Health. *Advances in Agronomy*, 51, 173–212. doi: 10.1016/S0065-2113(08)60593-3

Wierzbicka, M. (1987). Lead accumulation and its translocation in roots of *Allium cepa* L. Autoradiographic and ultrastructural studies. *Plant Cell Environ*, 10, 17–26.

Wierzbicka, M., & Obidzińska, J. (1998). The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. *Plant science*, 137, 115–171.

Wilkinson, H. F., Mortvedt, J.J., Giordano, P. M., & Lindsay, W.L. (1972). Movement of Micronutrients to Plant Roots. In: *Micronutrients in Agriculture, Soil Science*, Am. Madison, Wisconsin, 139–169.

Wyjczik, M., & Tukiendorf, A. (1999). Cd-tolerance of maize, rye and wheat seedlings. *Acta Physiologia Plantarum*, 21(2), 99–107.

Yang, X. E., Long, X. X., Ni, W. Z. (2002). *Sedum alfredii* H. - A new ecotype of Zn-hyperaccumulator plant species native to China. *Chinese Science Bulletin*, 47, 1003–1006.

Yruela, I. (2009). Copper in plants: acquisition, transport and interactions. *Functional Plant Biology*, 36(5), 409–430.

Zupancic, M., Bukovek, N., Milacic, R., & Ščancar, J. (2004). Comparison of various phosphate stabilization agents for the immobilization of Ni and Zn in sewage sludge. *Water, Air, and Soil Pollution*, 156, 57–69.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Фізико-географічна характеристика території Закарпаття

Закарпатська область розміщена на південному заході України (Галян, 1969). Вона займає південно-західні схили Українських Карпат і північно-східну частину Середньодунайської низовини на ріці Тиса та її притоках. Закарпаття межує на північному заході з Польщею, на заході – Словаччиною, на південному заході з Угорщиною, на півдні з Румунією; на сході з Івано-Франківською, а на півночі – Львівською областями. Площа області становить 32,8 тис. км² або 2/3 території України (Пересоляк, Ходанич, 2013). Геодезичний знак географічного центру Європи розташований поблизу с. Ділове Рахівського району. Близько 2/3 території Закарпаття – гірська місцевість. Гірська частина області включає три групи асиметричних хребтів із розлогими південно-західними схилами, прорізними численними долинами гірських річок. У центрі – ланцюг Полонинських гір із плоскими вершинами – полонинами, вкритими гірськими луками, які використовуються як пасовища (це полонини: Рівна, Красна, Боржава, Свидовець тощо). Найвища гора Українських Карпат – Говерла (2061 м над рівнем моря) (Стойко, 2008).

На Закарпатті зустрічаються різноманітні корисні копалини, які мають велике промислове значення. Серед них – відомі будівельні матеріали (мармур, базальт, андезит, керамзит, перліт тощо), мінеральні та термальні води, кольорові, рідкісні та дорогоцінні метали (золото, срібло, ртуть, германій, цинк тощо), неметали (барит, цеоліт, бентоніт, доломіт, алуніт), сіль, вугілля, газ. Як відомо, формування переважної більшості родовищ корисних копалин пов'язане з останнім етапом розвитку Карпат (Геренчук, 1981).

Клімат Закарпаття є помірно континентальним з достатнім та надлишковим зволоженням, нестійкою весною, не дуже спекотним літом,

теплою осінню і м'якою зимою. В середньогір'ї за показниками річної амплітуди середньо місячних температур повітря (22°C) він близький до морського. Температурний режим в регіоні типовий для територій з різноманітним рельєфом. Із збільшенням абсолютних висот місцевості, як правило, температура повітря знижується. Середньорічна швидкість вітру у різних місцях становить 1,2-2,4 м/с, тоді як максимальна швидкість зареєстрована в районі міст Хуст і Міжгір'я становить 40 м/с. Середньомісячна багаторічна температура січня у горах становить $-7,8^{\circ}\text{C}$, тоді як у низині (м. Ужгород) тільки $-3,1^{\circ}\text{C}$, а влітку $11-14^{\circ}\text{C}$ у високогір'ї $20-21^{\circ}\text{C}$ на низині. З ростом висоти місцеположення території зростає кількість опадів. Середньорічні опади в низинній зоні становлять 600-800 мм, а в горах – 1000-1500 мм (Поп, 2009).

Неоднорідність рельєфу земної поверхні Закарпаття і особливості циркуляції повітря суттєво впливають на процеси поглинання і перетворення сонячного випромінювання, процеси теплового і водного обміну. Тому кліматичні умови на території області дуже різняться і залежать як від висоти над рівнем моря, так і від орієнтування та експозиції гірських схилів (Поп, 2003).

Природні умови Закарпатської області характеризуються значною різноманітністю, що спричинює диференціацію формування ґрунтового і рослинного покриву в гірській, передгірській та рівнинній території. За характером рослинності, рельєфу, клімату та зволоження територія Закарпаття поділяється на дві частини – гірську й рівнинну (Геренчук, 1981).

Вивчення ґрунтів Закарпаття започаткувала Н. Б. Вернандер (1951), потім продовжили Е. Н. Руднева (1960), та Г. О. Андрущенко (1970). Значний внесок у вивченні буроземів Закарпаття належить В. В. Скибі та П. С. Пастернаку (1962). Велике значення у дослідженні ґрунтів області мало картографування на основі якого проведено агрохімічне вивчення (Вернандер, 1951).

Ґрунтовий покрив території Закарпаття сформувався під дією живих організмів на гірські материнські породи в різних умовах клімату, зволоження та рельєфу. Загалом ґрунти Закарпатської області сформувались в умовах помірного клімату з достатнім зволоженням, тому переважають різновиди дерново-підзолистих ґрунтів на низинній території та бурі гірсько-лісові, лучно-лісові в гірській території (Геренчук, 1981; Боднар, 1989).

В межах лісового поясу найпоширеніші бурі гірсько-лісові ґрунти на виположених схилах, буроземні-підзолисті, а на крутих – кам'яністі. Найкращі за родючістю лучно-буроземні ґрунти. На рівнині розповсюджені дерново-підзолисті та дернові ґрунти, а в зниженнях заплава – лучні і болотні. Найбільш інтенсивно ґрунти використовуються на рівнині, в передгір'ях, в горах – менш інтенсивно (Пересоляк, Ходанич, 2013; Поп, 2002).

Дерново-підзолисті ґрунти поширені у Притисенській низовині на середньосуглинистих терасах з ускладненою поверхнею частими мікроформами рельєфу у вигляді невисоких горбів, що сприяло розвитку лісової рослинності. Дерново - підзолисті ґрунти сформувались на важких за гранулометричним складом підстилаючих породах з близьким заляганням ґрунтових вод. Такі ґрунти мало гумусні, у верхньому шарі містять від 1,8 до 2,8 % перегною. Мають буро-сизо-іржавий колір з ржаво-сизими плямами окислів заліза та алюмінію, призматично-горіхуватої структури, крупнопиловато важко-суглинкові, дуже щільні, мокрі, дрібнопористі. Вони мають від сильнокислої до нейтральної реакцію ґрунтового розчину рН сольове 4,1 - 6,8. Ґрунти слабо забезпечені доступними для рослин формами азоту та фосфору, дещо краще – калію (Галян, 1969; Геренчук, 1981).

Буроземно-підзолисті ґрунти, поширені на виположених формах рельєфу горбів у передгір'ї високих терас гірської частини області. Вони утворилися на досить глибоких товщах делювіальних і давньоалювіальних переважно нещербнистих відкладів. На їх формування вплинули два основні процеси ґрунтоутворення: буроземний, що відбувався під впливом лісової рослинності і підзолистий, викликаний надмірним зволоженням і

поверхневим оглеєнням. Материнською породою є безкарбонатний елювій корінних порід. Такий ґрунт світло бурий дрібнопористий, пухкий, пластинчастої структури, переважно середньо суглинистий. У їх верхньому горизонті міститься від 1,1 до 2,9 % перегною. Надмірно високою є кислотність гумусово-елювіального горизонту, сольове рН – 4,2 (Галян, 1969; Геренчук, 1981).

Бурі гірсько-лісові ґрунти найбільш поширені для гірської частини Закарпаття (Бойко та ін., 2008). Утворилися на схилах у межах лісового поясу від підніжжя гір до висоти 1100-1200 м. Материнською породою є алювій-делювієвий. Бурі гірсько-лісові ґрунти відзначаються високим вмістом перегною. У природньому стані, тобто під корінними лісами, вміст сягає 10-15 %. Гірські породи, на яких формуються бурі гірсько-лісові ґрунти бідні на сполуки кальцію, що зумовлює їх низьке насичення катіонами двовалентних металів і високу кислотність. Реакція ґрунтового розчину у верхньому горизонті змінюється від сильнокислої до дуже сильнокислої рН сольове 3,9 - 4,5, а гідролітична кислотність – від 4,20 ммоль до 6,65 ммоль на 100 г ґрунту (Пересоляк, Ходанич, 2013). Бурі гірсько-лісові ґрунти багаті на валові форми поживних речовин, особливо фосфору.

Лучні та болотні ґрунти поширені в заплавах річки Тиси та Латориці. Сформувалися вони на алювіальних та алювіально-делювіальних відкладах в умовах неглибокого залягання ґрунтових вод під трав'янистою лучною та болотною рослинністю. Лучні ґрунти утворилися в умовах поверхневого перезволоження та залягання ґрунтових вод, а тому оглеєні. Мають сіре забарвлення, грудкувату зернисту структуру. Для них характерно рН сольове від 4,6–5,5. При низьких значеннях гідролітичної кислотності, досить добре забезпечені доступними для рослин формами азоту та калію, дещо гірше фосфору (Пересоляк, Ходанич, 2013; Поп, 2002).

Болотні ґрунти утворилися у западинах під застійними водами при розкладанні водних рослин. Колір підстилки чорний. Характерною

особливістю є торфоутворення. Під шаром торфу знаходиться оглеєний намул. Вміст гумусу 10-20 %, рН нейтральний, або слабо лужний.

Згідно літературних даних (Бандурович та ін., 2017) значну частину площ сільськогосподарських угідь Закарпатської області (27%) становлять землі з дуже сильно- та сильнокислою реакцією ґрунтового розчину.

Проблема гумусу для ґрунтів Закарпаття є надзвичайно важливою, оскільки значна кількість опадів (700–1000 мм на рік) спричиняє його вимивання, особливо на землях зі схилами. Загострення проблеми супроводжується і неповерненням органічних речовин у ґрунт, що зумовлено постійним зменшенням їх, а також скорочуються площі під багаторічними травами, зокрема під конюшиною і люцерною (Бандурович та ін., 2017).

За результатами досліджень (Kricsfalusy et al., 1999) територія Закарпаття охоплює різні висотні пояси, тому флора регіону дуже різноманітна. За загальними ботаніко-географічними рисами рослинного покриву територія Закарпаття відноситься до Карпатської підпровінції Середньо-європейської провінції Європейської широколистяної області, а Закарпатська низовина – до Паннонської підпровінції Центральноевропейської флористичної провінції (Бойко та ін., 2008). Флора Карпат нараховує понад 3980 видів і підвидів судинних рослин, що становить 31,2 % флористичного багатства Європи, де відомо близько 12,5 тис. таксонів. У флорі Карпат виявлено 502 види та підвиди ендеміків (12,6 % видового складу), які потребують охорони, для збереження біологічного різноманіття континенту (Гасенкевич, 2006). У флорі Закарпаття нараховується понад 2000 видів і підвидів судинних рослин (Фодор, 1974). З них до аборигенної флори трав'яних рослин належить 504 види й 117 підвидів рослин лісових ценозів, 520 видів і 182 підвиди лучних, 239 видів і 42 підвиди болотних, 96 видів й 6 підвидів водних рослин.

2.2. Об'єкти та умови досліджень

Дослідження проводились на базі кафедри генетики, фізіології рослин і мікробіології, ДВНЗ «Ужгородський національний університет» в модельних, лабораторних та вегетаційних умовах.

В якості об'єкта дослідження обрано конюшину лучну (*Trifolium pratense* L.) сорту Спарта – багаторічну рослину роду Конюшина (*Trifolium*) родини Бобових (*Fabaceae*). Вибір в якості тест-об'єкта саме цієї культури зумовлений, насамперед, її широким сільськогосподарським використанням.

Вона також дозволяє детектувати подовжену дію важких металів на агрофітоценози.

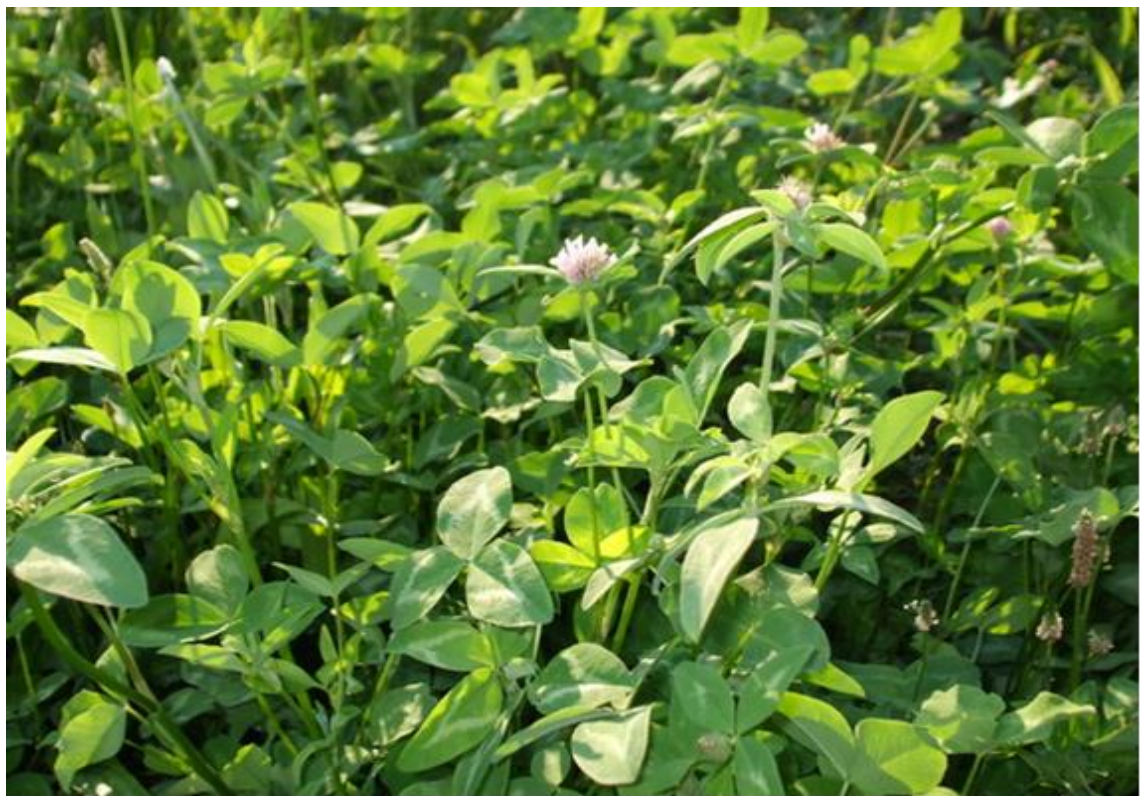


Рис. 2.1. *Trifolium pratense* L. – конюшина лучна

В модельних лабораторних і вегетаційних дослідах вивчали вплив різних концентрацій сполук цинку та міді (у формі сульфатів) на проростання, ріст і розвиток об'єкта дослідження; визначали вплив сполук цинку і міді на асиміляційний апарат рослин, стан пігментної системи та

вміст хлорофілу $a+b$ у листках; визначали вміст ВМ у ґрунтах та органах рослин конюшини їх локалізацію в тканинах.

Для проведення досліджень використовували наступні методи: фізіолого-біохімічні, ІСР та ААС-спектроскопія, лабораторні та натурні експерименти, стандартні статистичні методи з використанням пакетів програми «Microsoft Excel, 2010».

2.3. Методика дослідження впливу солей цинку та міді на розвиток насіння *Trifolium pratense* L. у лабораторних та вегетаційних умовах

Вплив солей міді та цинку на проростання насіння та розвиток проростків досліджували в лабораторних умовах у водній культурі. Насіння (по 25 насінин) пророщували в чашках Петрі. В кожену з чашок наливали однакову кількість сольового розчину (по 25 мл). У контрольному досліді в якості середовища пророщування використовували дистильовану воду. Фіксували такі показники: схожість насіння, довжина стебла та кореня, маса проростків, сформованих на 4-й день з моменту висівання. Схожість насіння визначали за загальноприйнятими методиками (Фирсова, 1978).

Для виявлення характерних ознак шкідливої дії ВМ (цинку та міді) на морфологію листкової пластинки конюшини лучної нами була закладена серія дослідів. Рослини вирощували в квіткових вазонах, а коли вони починали активно галузитися й формували значну кількість листків, їх поливали розчинами ВМ, поступово доводячи концентрації до 5, 10, 15 і 30 МДК. Контролем слугували рослини, вирощені на ґрунті без внесення важких металів.

З метою встановлення рівнів нагромадження важких металів, та з'ясування їхньої дії на морфологічні ознаки при надмасивних концентраціях, нами були закладені дослідні ділянки у ботанічному саду Ужгородського національного університету.

Ділянки знаходилися у напівзатінених місцях. Ґрунт намулистий алювіальний. Спосіб закладання дослідної ділянки полягав у наступному. Виривали траншеї розміром 1x2 м і глибиною 0,5 м. Знизу у траншеї укладали листовий шифер та гідроізолювали щільною поліетиленовою плівкою. Це робилося з метою захисту від кротів, та запобігання вимивання солей важких металів з дослідних ділянок у ґрунт. Вийнятий ґрунт перемішували, розпушували, звільняли від каміння і засипали у підготовлені траншеї. На підготовані ділянки на глибину 2 см висівали однакову кількість насіння конюшини лучної та вносили солі важких металів у вигляді водних розчинів.

Схема вегетаційного дослідження передбачала внесення ВМ у ґрунт дозами:

– Cu – 1, 5, 10 , МДК, що в перерахунку на елемент становило 100, 500 та 1000 мг/кг ґрунту;

– Zn – 1, 5, 10 МДК, що в перерахунку на елемент становило 300, 1500, та 3000 мг/кг ґрунту.

Вносили водні розчини солей $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ та $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ з урахуванням концентрації в них цинку і міді для конкретного змодельованого рівня забруднення ґрунту. Дослід ставили в трикратній повторюваності, контролем слугували ділянки без внесення ВМ. Полив здійснювали у міру потреби відстояною дощовою водою.

Згідно літературних даних, рух більшості елементів у природі вищий, ніж в лабораторних умовах (Ковда, 1985), а їх попадання в ґрунт при атмосферному забрудненні характеризується великою розчинністю і легко засвоюється рослинами.

При відборі варіантів експерименту користувалися оціночними таблицями максимально допустимих рівнів вмісту ВМ у ґрунтах і рослинній продукції (табл. 2.1) (Фатєєв, 2003).

Таблиця 2.1

Максимально допустимі рівні вмісту ВМ у ґрунтах і рослинній продукції (Фатєєв, 2003)

Метал	МДК, мг/кг	МДК валового вмісту у рослинній продукції, мг/кг сухої речовини
Цинк	300	≤ 10
Мідь	100	≤ 0,5
Хром	100	≤ 0,3
Ртуть	2	≤ 0,02
Кадмій	3	≤ 0,003

Визначення біомаси рослин (листіків і стебел) і оцінку вмісту в них води проводили стандартним ваговим методом, фіксуючи рослинний матеріал протягом 30 хв. при 90°C досушуючи його до постійної ваги при 60°C. Площу листкової пластинки визначали за А. А. Молчанов (1967), ступінь пошкодження – 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 et al., 2011; Markwell et al., 1995).

2.4. Визначення вмісту рухомих сполук міді та цинку в ґрунті в буферній амонійно-ацетатній витяжці з рН 4,8 методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії

Метод полягає у вилученні рухомої міді та цинку з ґрунту ацетатно-амонійним буферним розчином з рН 4,8 та наступному визначенні на

спектрофотометрі після атомізації проби в повітряно-ацетиленовому полум'ї. Метод базується на властивості атомів у основному стані поглинати світло визначених і специфічних для кожного типу атомів довжин хвиль. Абсорбція пропорційна концентрації компонента, який визначають. У сильно окиснювальному повітряно-ацетиленовому полум'ї впливи, що заважають визначенню, відсутні (Держстандарт, 2005).

Підготовку проб ґрунту, рослинного матеріалу для аналізу елементного складу проводили у муфельній печі. 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. Вміст ВМ визначали у середній пробі, яку утворювали, залежно від маси пагонів, із 10-15 пагонів, відібраних рендомним методом. Проби повітряно сухого рослинного матеріалу озолювали за температури 450°C, в муфельній печі точно дотримуючись технології спалювання з метою попередження втрат елементів. Одержану золу після зважування розчиняли розведеною HNO_3 . Визначення проводили у трьох повторностях.

Для оцінки забрудненості ґрунтів використовували коефіцієнт концентрації K_c , який характеризує співвідношення вмісту хімічного елемента у ґрунтовому покриві до його фонового значення (Петрук, та ін., 2013).

$$K_c = C/C_f,$$

де: C – фактичний вміст забруднення; C_f – фоновий вміст. Величина коефіцієнту концентрації (1) свідчить про активність процесів вилугування ($K_c < 1$) і накопичення ($K_c > 1$) речовин у ґрунті.

Для кількісної оцінки надходження важких металів з ґрунту в рослини використовували коефіцієнт біологічного поглинання ($K_{бп}$), який розраховували за формулою:

$$K_{\text{бп}} = C_{\text{п}}/C_{\text{р}},$$

де: $C_{\text{р}}$ – концентрація забруднюючої речовини у фітомасі рослини, мг/кг; $C_{\text{п}}$ – концентрація забруднюючої речовини в ґрунті, мг/кг (Перельман, 1999).

На всіх етапах досліджень користувались загальноприйнятими програмами ПЕОМ, Microsoft Excel, 2010. Статистичну обробку отриманих цифрових даних здійснювали за допомогою програми Statistica (Лакин, 1990). Визначали середнє арифметичне, дисперсію, середнє квадратичне відхилення, коефіцієнт кореляції та коефіцієнт варіації.

2.5. Визначення локалізації цинку та міді гістохімічним методом

Гістохімічні методи визначення металів засновані на утворенні забарвлених або флуоресцентних комплексів аналітичних реагентів з досліджуваними металами.

Серії зрізів досліджуваного матеріалу, виконані за допомогою безпечної бритви, поміщають на предметне скло, на яке наносять 3-4 краплі аналітичного реагенту, обережно накривають накривним склом і через кілька хвилин розглядають під мікроскопом. При підсиханні реагенту на предметному склі його необхідно підшарувувати, а надлишок видаляти фільтрувальним папером. Для проходження реакцій необхідно кілька хвилин. Препарати довго не зберігаються. Локалізацію металів визначають за відповідним фарбування тканин або по флуоресценції (Серегин, Кожевникова, 2011).

Розподіл іонів цинку і міді вираховували гістохімічно (Серегин, Иванов, 1997). Оцінку наявності та розподілу ВМ металів у рослинних тканинах здійснювали за допомогою дифенілдитіокарбазону, який із іонами двовалентних металів утворює червоні нерозчинні комплекси (дитизонати) (Серегин, 2009). Рослинні зразки відбирали всередині вегетаційного періоду у фазі бутонізації. Поперечні зрізи стебла, листка та кореня рослин *T. pratense* L. замочували в розчин дитизону, витримували протягом 10 хвилин,

після чого промивали спиртом і дистильованою водою. Інтенсивність забарвлення утворених метал-дитизонатних комплексів оцінювали візуально за допомогою світлового мікроскопа. Про реакцію важких металів із дитизоном свідчила наявність червоних кристалів у тканинах рослин.

2.6. Культивування рослин *Trifolium pratense* L. в *in vitro*

Відомо, що ефективним методом введення рослин в культуру *in vitro* є отримання проростків шляхом пророщування простерилізованого насіння. Технологічний процес мікроклонального розмноження рослин *Trifolium pratense* L, в культурі *in vitro* включав декілька послідовних етапів: стерилізацію рослинного матеріалу, введення в культуру, підбір та оптимізація живильних середовищ, одержання рослин регенерантів.

Насіння висівали в чашки Петрі на фільтрувальному папері, (по 25 шт.) і пророщували при температурі $22\pm 24^{\circ}\text{C}$. Проростки з'являлися на 3 добу від початку пророщування. Рослинний матеріал *Trifolium pratense* L. замочували в 2 % розчині хлораміну протягом 4 хв, потім 2-3 рази промивали дистильованою водою. Посуд обробляли 3 % розчином дихромату калію і концентрованої сульфатної кислоти, залишали його на 2 год, потім промивали 2 рази дистильованою водою. Стерилізацію інструментів проводили сухим гарячим повітрям в сушильних шафах протягом 1 години.

Згідно літературних даних (Колдар та ін., 2015) важливим фактором вирощування рослин *in vitro* зі збереженням морфологічної та генетичної однорідності а також індукції морфогенезу у рослин є збалансований склад мікро- та мікроелементів, вуглеводів, вітамінів та фітогормонів.

Основним середовищем для формування і подальшого розмноження пагонів із бруньок було модифіковане середовище Мурасіґа-Скуґа (Murashige & Scoog, 1962; Ніколайчук, 2002). Ми готували поживне середовище, змінюючи співвідношення компонентів, уже готових розчинів макро- і мікросолей, вуглеводів, вітамінів, фізіологічно-активних добавок, агару, регуляторів росту. Маточні розчини готували з розрахунком:

NH_4NO_3 -16,5г на 100мл, KNO_3 -19г на 100мл, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -3,7г на 100мл, KH_2PO_4 -1,7 г на 100мл, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ -3,5г на 100мл, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -278мг на 100мл, $\text{Na}_2\text{ЄДТА} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ -372мг на 100мл, H_3BO_3 -62мг на 100мл, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -223мг на 100мл, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -86мг на 100мл, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ -0,025мг на 1л, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -0,025мг на 1л, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ -0,025мг на 1л, KI -0,83мг на 1л.

Агар (10г) заливали в колбу з водою, настоювали 10 хв, після чого доводили до кипіння, додавали сахарозу (30 г) і суміш маточних розчинів мікро- та макроелементів. А також додавали вітаміни (в 100 мл дистилляту відповідно по 1мл/л тіаміну, піридоксину та нікотинової кислоти). Розчини фітогормонів готували наступним чином:

Ауксини: 100мг індолілоцтової кислоти (ІОК) розчиняли в 2 мл спирту, підігрівали і водою доводили об'єм до 100 мл. Цитокініни: бензиламінопурин (БАП) розчиняли в 20 мл 0,5 н HCl , підігрівали, додавали воду і доводили об'єм до 100 мл. Потім по 1мл маточного розчину ІОК і БАП додавали в колбу до середовища, розливали в пробірки, закривали фольгою і стерилізували в автоклаві протягом 2 год (Murashige & Scoog, 1962; Ніколайчук та ін., 1994).

Найважливішими факторами, які впливають на процеси росту *T. pratense* L. є освітленість, температура, вологість. У роботі використовували методи культури рослинних тканин та індукції морфогенних процесів *in vitro*. Рослинний матеріал культивували в пробірках об'ємом 100 мл при люмінісцентному освітленні, температурі 24-25°C і відносній вологості повітря 70%. В кожному варіанті досліду з трьох кратною повторністю використовували по 20-25 експлантів (Куртин та ін., 1993).

Для індукції різних типів морфогенезу *in vitro* використовували листові, стеблові та кореневі експлантати, отримані з асептично вирощених паростків.

Підготовку ізольованих верхівок до посадки на штучне поживне середовище починали із ізоляції тканин на інтактних рослинах. Меристему

вичленнями із зелених проростків. Експлантати конюшини садили на середовище, яке містить необхідні компоненти.

Аналіз проводили через 3 тижні культивування, визначали кількість і довжину надземних пагонів, довжину коренів кожної рослини, число ростових пагонів.

Висновки по розділу:

У розділі наведено коротку характеристику екологічних умов території Закарпаття, що включає опис особливостей рельєфу території, клімату ґрунтів. Описано методики досліджень біометричних параметрів рослин, визначення вмісту фотосинтетичних пігментів, вмісту важких металів у ґрунтових та рослинних зразках, акумуляцію та локалізацію в органах та тканинах рослин.

Перелік посилань:

Андрущенко, Г. О. (1970). *Ґрунти Західних областей УРСР*. Ч. 2. Львів: Дубляни.

Бандурович, Ю. Ю., Фандалюк, А. В., Романова, С. А., Полічко, В. С. (2017). Еколого-агрохімічна оцінка ґрунтів Закарпаття. *Агроекологічний журнал*, 4, 46–52.

Боднар, В. Л. (Ред.). (1989). *Природні багатства Закарпаття*. Ужгород: Карпати.

Бойко, Н. В., Балажі, Ш. (Ред.). (2008). *Забруднювачі та їх впливи на екологічно-вразливі екосистеми Верхнього Потисся*. Ужгород-Ніредьгаза: Bessenyei Gyorgy.

Вернандер, Н. Б. (1951). О бурых лесных и близких к ним почвах. Труды Украины. *НИИ Соцземледелия*, 4 (С.25–35). Киев.

Галян, В. Г. (1969). *Ґрунти Закарпатської області*. Закарпатська землевпорядна експедиція Республіканського проектного інституту по землевпорядкуванню «Укрземпроект». Ужгород: Карпати.

- Геренчук, К. І. (Ред.). (1968). *Природа Українських Карпат*. Львів: Вид-во Львів.ун-ту.
- Клейн, Р. М., Клейн, Д. Т. (1974). *Методы исследования растений*. Москва: Колос.
- Ковда, В. А. (1985). *Биохимия почвенного покрова*. Москва: Наука.
- Колдар, Л. А., Небигов, М. В., Андрієнко, О. Д. (2015). Індукція органогенезу у експлантів *Amelanchier ovalis Medic in vitro*. *Автохтонні та інтродуковані рослини*, 11, 100–105.
- Куртин, Н. П., Ніколайчук, В. І., Яловська, Г. Й. (1993). Мікроклональне розмноження господарсько-цінних ліній *Lotus L.* *Український ботанічний журнал*, 50(3), 126–128.
- Лакин, Г. Ф. (1990). *Биометрия*. Москва: Высшая школа.
- Молчанов, А. А., Смирнов, В. В. (1967). *Методика изучения прироста древесных растений*. Москва: Наука.
- Ніколайчук, В. І. (2002). *Лядвенець (Lotus L.): біологія, генетика, екологія*. Ужгород.
- Ніколайчук, В. І., Белчгазі, В. Й., Білик, П. П. (1994). *Лабораторний практикум з біотехнології вищих рослин*. Ужгород.
- Николаевский, В. С. (1979). *Биологические основы газоустойчивости растений*. Новосибирск: Наука.
- Пастернак, П. С., Скиба, В. В. (1962). Содержание и состав гумуса бурых лесных почв Карпат. *Почвоведение*, 12, 74–79.
- Пересоляк, В. Ю., Ходанич, М. М. (2013). *Моніторинг ґрунтів Закарпаття*. Ужгород: Вид. ТУРпрес.
- Перельман, А. И., Касимов, Г. Н. (1999). *Геохимия ландшафтов*. Москва: Астрейя.
- Петрук, В. Г., Васильківський, І. В., Іщенко, В. А., Петрук, Р. В., Турчик, П. М. (2013). *Нормування антропогенного навантаження на навколишнє середовище*. Вінниця: ВНТУ.
- Поп, С. С. (2009). *Природні ресурси Закарпаття*. Ужгород: «Карпати».

Поп, С. С. (2003). *Природні ресурси Закарпаття*. Ужгород: Спектраль.

Поп, С. С. (2002). *Природні ресурси Закарпаття*. Ужгород.

Руднева, Е. Н. (1960). *Почвенный покров Закарпатской области*. Москва: Изд-во АН СССР.

Серегин, И. В., Кожевникова, А. Д. (2011). Гистохимические методы определения локализации тяжелых металлов и стронция в тканях высших растений. *Физиология растений*, 58(4), 617–623.

Серегин, Илья. 2009. «Распределение тяжелых металлов в растениях и их действие на рост». Дис. докт. биол. наук, Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева.

Серегин, И. В., Иванов, В. Б. (1997). Является ли барьерная функция эндодермы единственной причиной устойчивости ветвления корней к солям тяжелых металлов. *Физиология растений*, 44, 922–925.

Стойко, С. М. (2008). Збереження біологічного біорізноманіття та екологічного балансу і підтримання сталого розвитку в Карпатах. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 24, 5–10.

Тасенкевич, Лідія. (2006). Природна флора судинних рослин Карпат, її особливості та генезис. Автореф. дис. докт. біол. наук, Національна академія наук України, Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного.

Фатеев, А. І., Пащенко, Я. В. (Ред.) (2003). *Фоновий вміст мікроелементів у ґрунтах України*. Харків: ННЦ «Інститут ґрунтознавства та агрохімії ім. О. Н. Соколовського».

Фирсова, М. К. (1978). *Методы исследования и оценка качества семян*. Москва: Колос.

Фодор, С. С. (1974). *Флора Закарпаття*. Львів: Вища школа.

Якість ґрунту. Визначення вмісту рухомих сполук міді в ґрунті в буферній амонійно-ацетатній витяжці з рН 4,8 методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії. Національний Стандарт України (ДСТУ 4770.6:2007): Київ. Держспоживстандарт України., 2005;18.

Якість ґрунту. Визначення вмісту рухомих сполук цинку в ґрунті в буферній амонійно-ацетатній витяжці з рН 4,8 методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії. Національний Стандарт України (ДСТУ 4770.2:2007): Київ. Держспоживстандарт України., 2005;18.

Kricsfalusy, V. V., Danilyuk, M. Yu., Krocsko, Yu. I., Krokhtak, V. I., Lugovoj, A. Ye., Mezo-Kricsfalusy, G. M., Mihaly, A. V., Polynovsky, A.O., Potish, L. A. & Vajnagi, A. V. (1999).The Upper Tisa Valley. Ukrainisan section I. Tiscia, monograph series. Szeged, 13–50.

Ling, Q., Huang, W. & Jarvis, P. (2011). Use of a SPAD-502 meter to measure leaf chlorophyll concentration in *Arabidopsisthaliana*. *Photosynthesis Res*, 209–214.

Markwell, J., Osterman, J. O. & Mitchell, J. L. (1995). Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Res*, 467–472.

Murashige, T. & Scoog, F. (1962). A revised medium for rapid, growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, 15(3), 473.

РОЗДІЛ 3

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

3.1. Вплив сульфату цинку на проростання насіння

Trifolium pratense L.

Процес проростання насіння є досить стійким до дії важких металів (Shah & Dubey, 1998; Лянгузова, 1999; Яковлева-Носарь, 2008). Досліджуючи вплив солей цинку та міді на схожість насіння *Trifolium pratense L.* ми виявили, що насіння досліджуваного виду має високу металостійкість.

При дослідженні впливу сульфату цинку на схожість насіння конюшини (рис. 3.3) стимулюючий ефект (відносно контролю) спостерігався у варіантах за концентрації від 1 до 5 МДК.

Проведені дослідження показали, що полив розчинами різних концентрацій цинку впливає на проростання насіння вже на початкових етапах онтогенезу. Як видно з рисунків (3.1, 3.2) проростки з'являлися у варіанті з 1 МДК сульфату цинку вже на четверту добу експерименту, в контролі в цей час насіння тільки набубнявіло і почало проростати. Проростки характеризувалися значно більшими розмірами, ніж у контролі та всіх інших варіантах. Найменше проростків було у варіанті з концентрацією металу 10 МДК. Аналогічні дослідження були проведені при дії колоїдного розчину цинку та міді на проростання насіння вівса. Л. М. Гончар (2016) відмічає, що за дії високих концентрацій (1:1 і 1:10) цинку та міді спостерігається низька схожість насіння вівса, а за низьких концентрації цинку (1:100) спостерігалось зростання відсотку схожих насінин. М. М. Вакерич (2010) зазначає, що сульфат купруму у водній культурі має стимулюючий вплив на розвиток рослини вівса, а при перевищенні «граничного» значення – вплив протилежний (інгібуючий). Встановлено, що катіони важких металів проникають через насінневу оболонку і викликають затримку проростання насіння (Wierzbicka & Obidzińska, 1998).



Рис. 3.1. *Trifolium pratense* L. (5 МДК моль/л $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

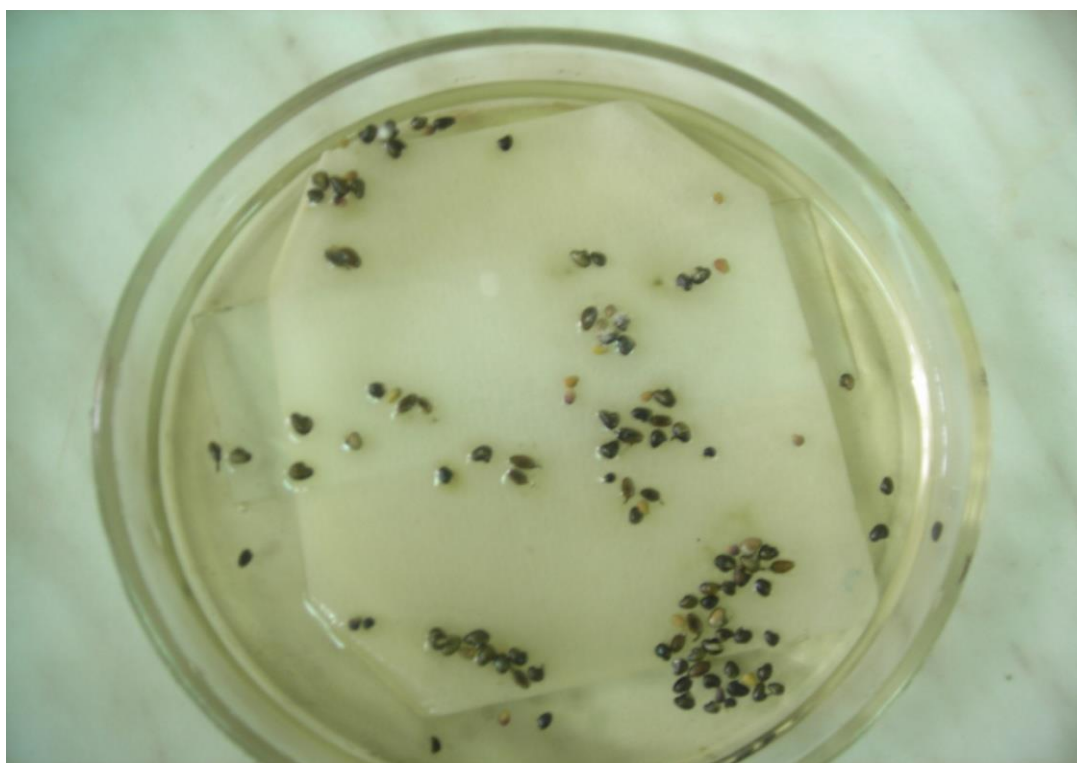


Рис. 3.2. *Trifolium pratense* L. – контроль (дистильована вода)

Показники проростання та динаміка схожості насіння *Trifolium pratense* L. під дією солей цинку представлені в табл. 3.1 і на рис. 3.3.

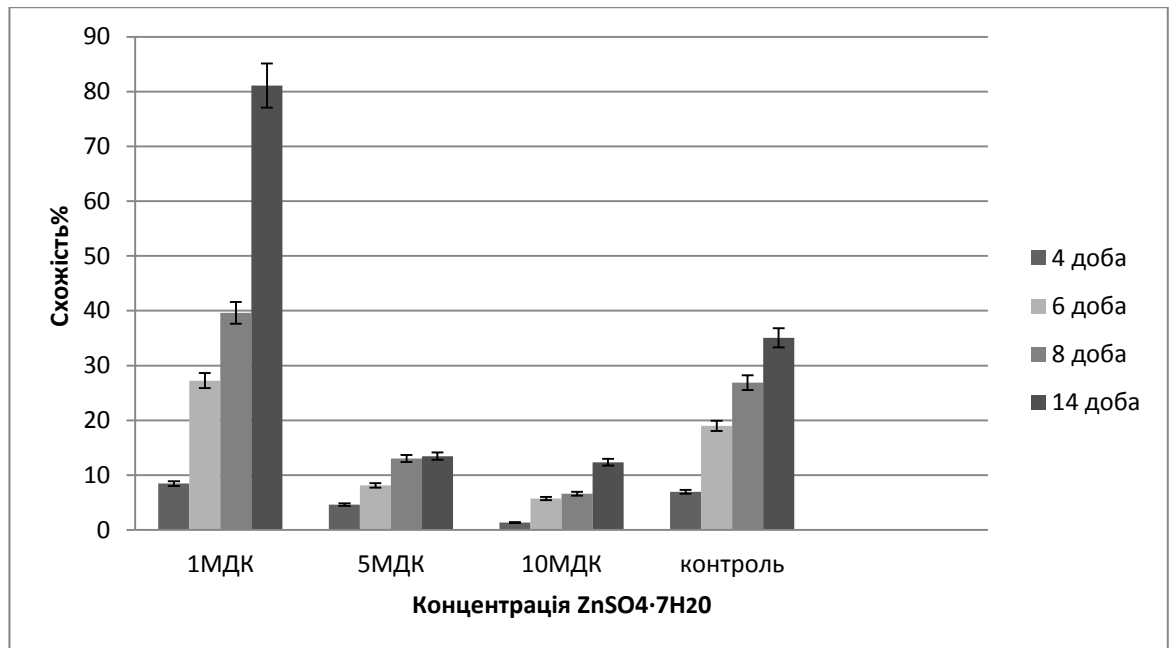


Рис. 3.3. Динаміка схожості насіння *Trifolium pratense* L.
за дії ZnSO₄·7 H₂O

Як видно з рисунку, найбільший відсоток схожості насіння (80%) виявили за дії концентрації солі 1 МДК порівняно з контролем (вирощування на дистильованій воді). За дії сполуки при концентрації ZnSO₄·7H₂O, що становила від 1–5 МДК спостерігали пригнічення процесів проростання досліджуваного насіння, схожість – 8%.

Таблиця 3.1

Інтенсивність проростання насіння конюшини лучної за різних концентраціях ZnSO₄·7H₂O

№ Варіанту	Концентрації ZnSO ₄ ·7H ₂ O моль/л	Кількість проростків, шт. $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$			
		4 доба експерименту	6 доба експерименту	8 доба експерименту	14 доба експерименту
1	1МДК	8,46±0,89	27,25±2,78	39,62±3,48	81,09±7,05
3	5МДК	4,64±1,25	8,12±2,29	13,06±1,56	13,48±1,89
4	10МДК	1,37±0,70	5,76±0,94	6,62±2,21	12,36±3,42
5	Контроль	6,89±0,41	19,01±1,45	22,65±1,31	35,05±7,41

Як видно з таблиці, на восьму добу експерименту спостерігалася різка активізація процесів проростання, яка тривала до 14–20 доби, після чого насіння вже більше не проростало, а ті проростки, що утворилися починали загнивати. Найбільша інтенсивність проростання спостерігалася, як і раніше, у контрольному варіанті та при концентрації солей цинку (1 МДК), найменше проростків було у варіанті з найвищою із усіх досліджуваних концентрацій міді (10 МДК), а пригнічення процесів проростання спостерігалось починаючи з 5 МДК.

3.2. Вплив сульфату міді на проростання насіння

Trifolium pratense L.

Як і в контролі, так і в досліді проростки починали з'являтися на четвертий день від початку експерименту. Що стосується інтенсивності проростання насіння, то отримані результати залежали від використаних концентрацій.

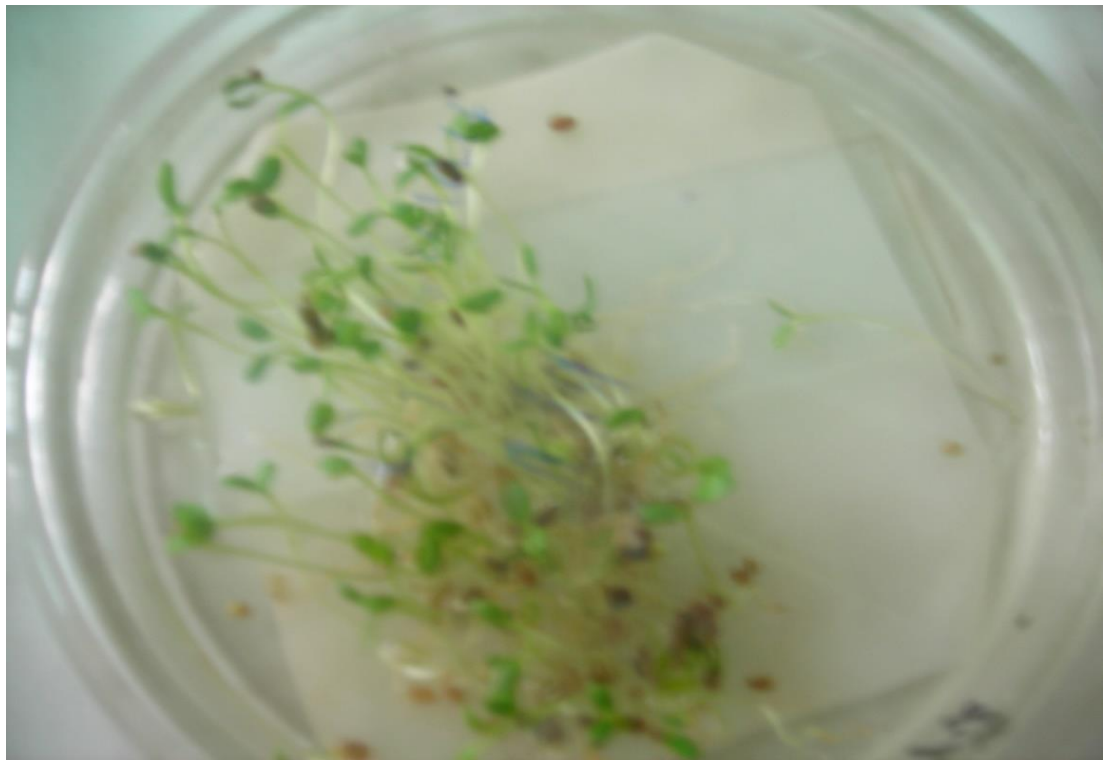


Рис. 3.4. *Trifolium pratense* L. (5 МДК моль/л $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

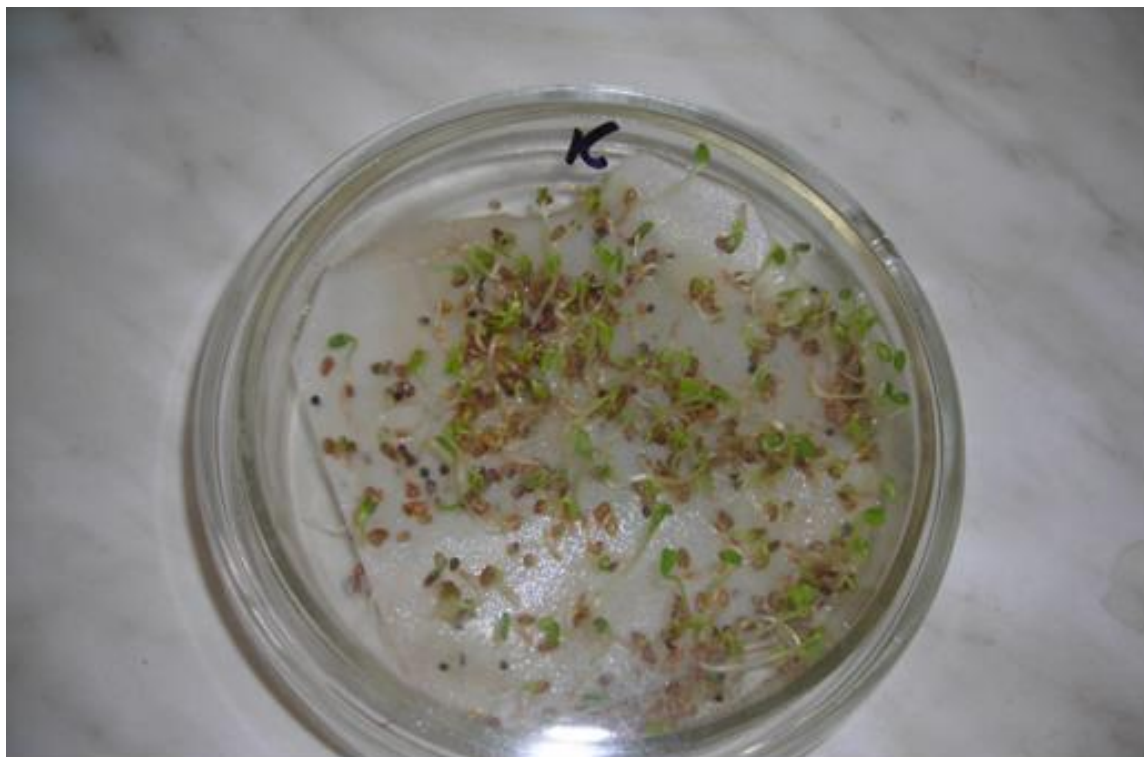


Рис. 3.5. *Trifolium pratense* L. – контроль (дистильована вода)

На відміну від цинку, дія сполук міді викликала більше пригнічення проростання насіння. Так, зазначений ефект спостерігався у конюшини тільки у варіантах дослідів з високою концентрацією солей міді. В ряді випадків дія низької концентрації сполук міді призводила до статистично достовірної стимуляції росту (на 14-30%) деяких проростків.

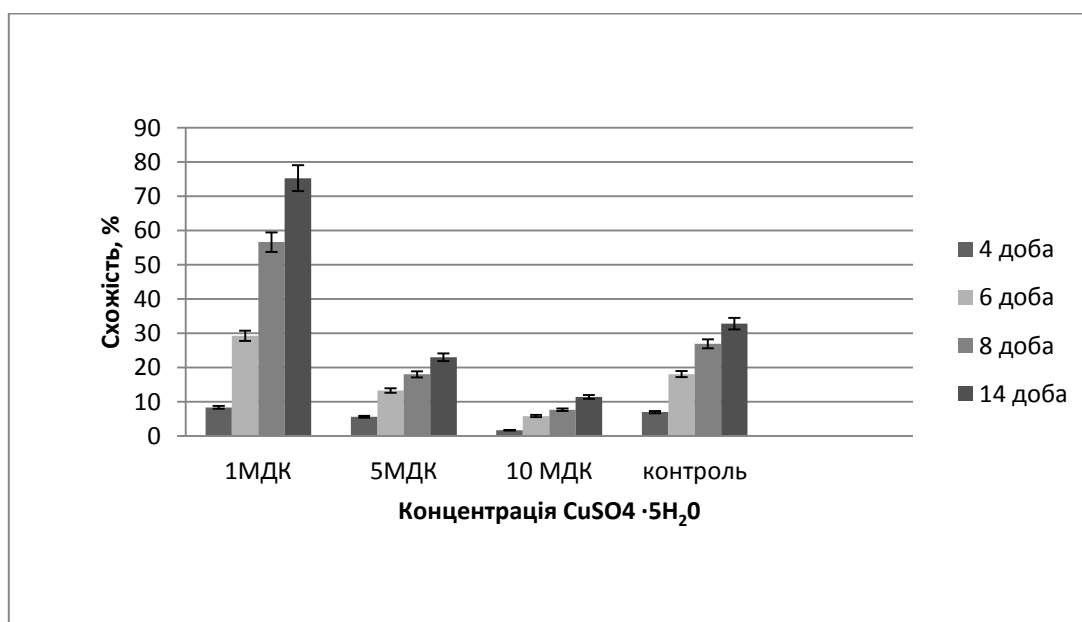


Рис. 3.6. Динаміка схожості насіння *Trifolium pratense* L. за дії $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Таблиця 3.2

Інтенсивність проростання насіння конюшини лучної за різних концентраціях $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

№ Варіанту	Концентрації $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ моль/л	Кількість проростків, шт. $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$			
		4 доба експерименту	6 доба експерименту	8 доба експерименту	14 доба експерименту
1	1МДК	8,33±0,94	29,25±2,56	58,62±4,78	75,29±6,16
3	5МДК	5,61±0,87	13,25±3,13	18,02±2,15	23,41±4,02
4	10МДК	1,09±0,68	5,83±0,94	7,69±2,73	11,38±2,07
5	Контроль	6,98±0,24	18,06±1,05	26,91±1,32	32,81±5,92

Отримані нами результати вказують на те, що в залежності від взятих концентрації сульфату цинку та міді спостерігається різний вплив на проростання насіння конюшини. Концентрації 5-10 МДК майже завжди спричиняють сильне пригнічення. Стимулювання проростання насіння проявлялось за концентрації 1 МДК, причому, воно було досить значним порівняно з контролем у варіанті експерименту з солями цинку.

З літературних джерел відомо, що високі концентрації важких металів в чистих розчинах солей мають сильніший вплив на рослини, ніж ті концентрації при рості рослини в ґрунті. Це відбувається тому, що в ґрунті присутні аніони, які взаємодіють з іонами металів, утворюючи нерозчинні солі (Таланова и др., 2001).

3.3. Вплив солей цинку та міді на ріст і розвиток рослин *Trifolium pratense* L.

Відомо, що одним із показників протікання сукупності фізіолого-біохімічних реакцій і продуктивності організму рослин загалом є ріст, за зміною якого можна характеризувати прояв фітотоксичності металу (Міхеєв, Лапань, 2019). У рослин конюшини вплив на ростові процеси залежав від

концентрації солей та тривалості їх дії. На початкових етапах зовнішній вигляд рослин конюшини, та їх морфологічна будова не змінювалася. Результатами досліджень встановлено, що довжина проростків знаходиться в залежності від вмісту в ґрунті сульфату цинку та міді (рис.3.7). У вазонах, де досліджувані солі вносили в концентраціях, що не перевищували 1 МДК, розміри рослин були більшими, ніж у контролі, однак, за концентрацій 10 МДК ми спостерігали значне пригнічення лінійного росту проростків конюшини. Проростки з'являлися із значним запізненням у строках проростання, були слабшими, меншими за розмірами, а через певний період часу й зовсім припиняли свій ріст.

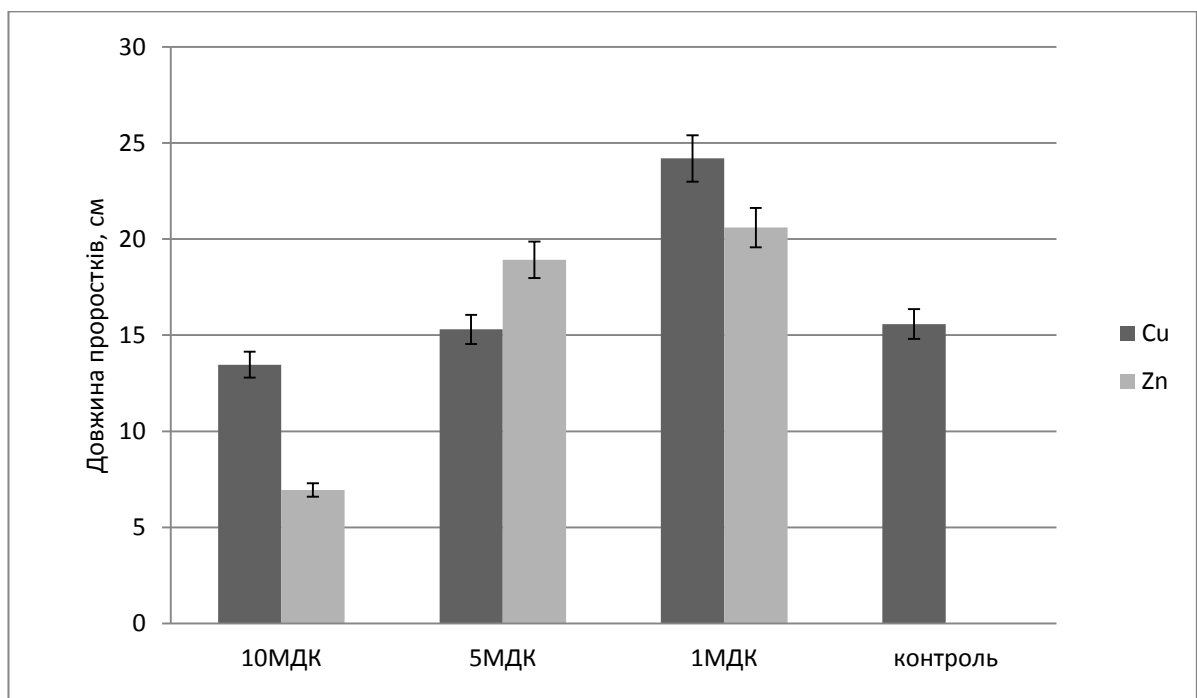


Рис. 3.7. Довжина проростків *Trifolium pratense* L. за різних концентрацій $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ та $CuSO_4 \cdot 5H_2O$

Найбільш чутливим органом рослинного організму до дії різного роду ксенобіотиків (в тому числі й сполук важких металів) є коренева система рослинного організму, тому що вона, в першу чергу, є одним з органів депонування останніх (Гуральчук, 1999; Вакерич, 2010). Внаслідок дослідження впливу різних концентрацій сульфату цинку та міді позитивний вплив на інтенсивність коренеутворення проявлявся у варіантах від 1 до 5

МДК досліджуваних солей. Найбільш позитивний вплив спостерігався у варіанті з 1 МДК. У варіантах вище за 5 МДК спостерігалось пригнічення кореневої системи, порівняно з контролем, що свідчить про пригнічуючий вплив солей цинку та міді в даних концентраціях на розвиток кореневої системи рослини конюшини лучної (рис. 3.8).

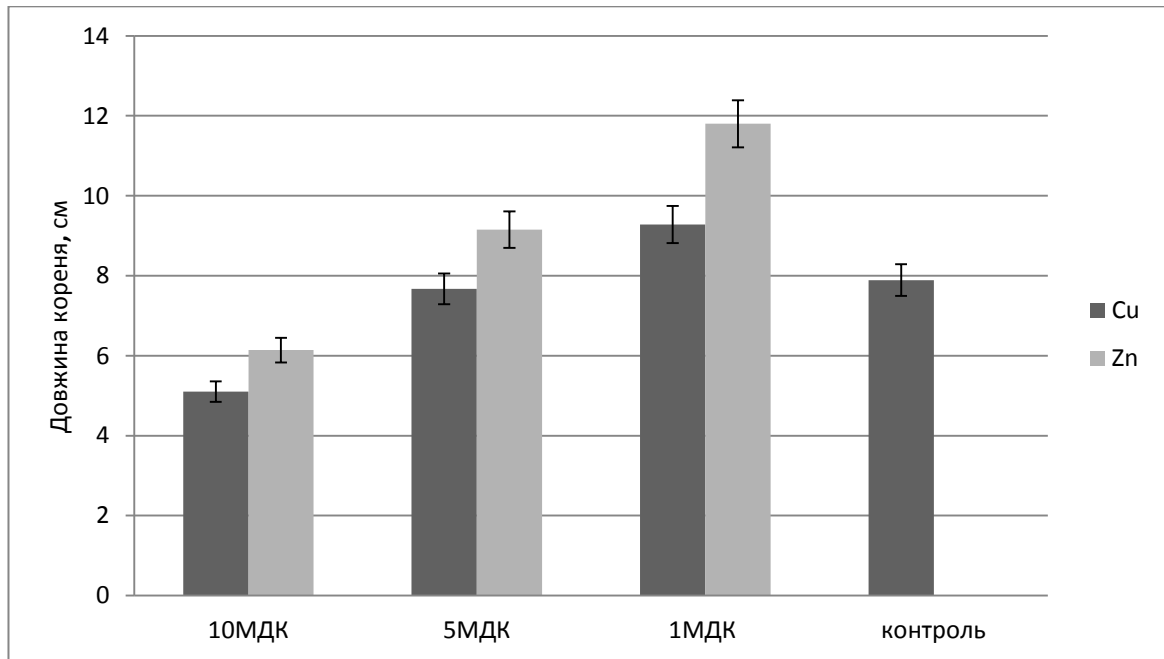


Рис. 3.8. Довжина кореня *Trifolium pratense* L. за різних концентрацій $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ та $CuSO_4 \cdot 5H_2O$

Відносний приріст помітно знижувався при концентрації 10 МДК. Концентрація 1 МДК викликала достовірне збільшення кореня у порівнянні з контролем. Згідно даних (Нестерова, 1989; Punz & Sieghardt, 1993) коріння є першим бар'єром на шляху транспорту металів із ґрунту в рослину, що бере на себе основну функцію по їх акумуляції та детоксикації. Під впливом важких металів зменшуються довжина головного кореня та кількість бокових коренів, відмирають кореневі волоски, знижується біомаса коренів (Barceló & Poshenrieder, 1990; Серегин, Иванов, 1997; Vassilev et al., 1998).

Маса окремого органу або усієї рослини є інтегральним показником, що характеризує ростові процеси за різних умов навколишнього середовища (Гуральчук, 2006). Виходячи з цього, нами була визначена маса проростків, вирощених за різної концентрації солей цинку та міді (рис. 3.9). Отримані

результати в загальних рисах виявляли ту саму тенденцію, що і у першому варіанті експерименту. З отриманих результатів видно, що маса варіювала під впливом різних концентрацій сульфатів досліджуваних металів.

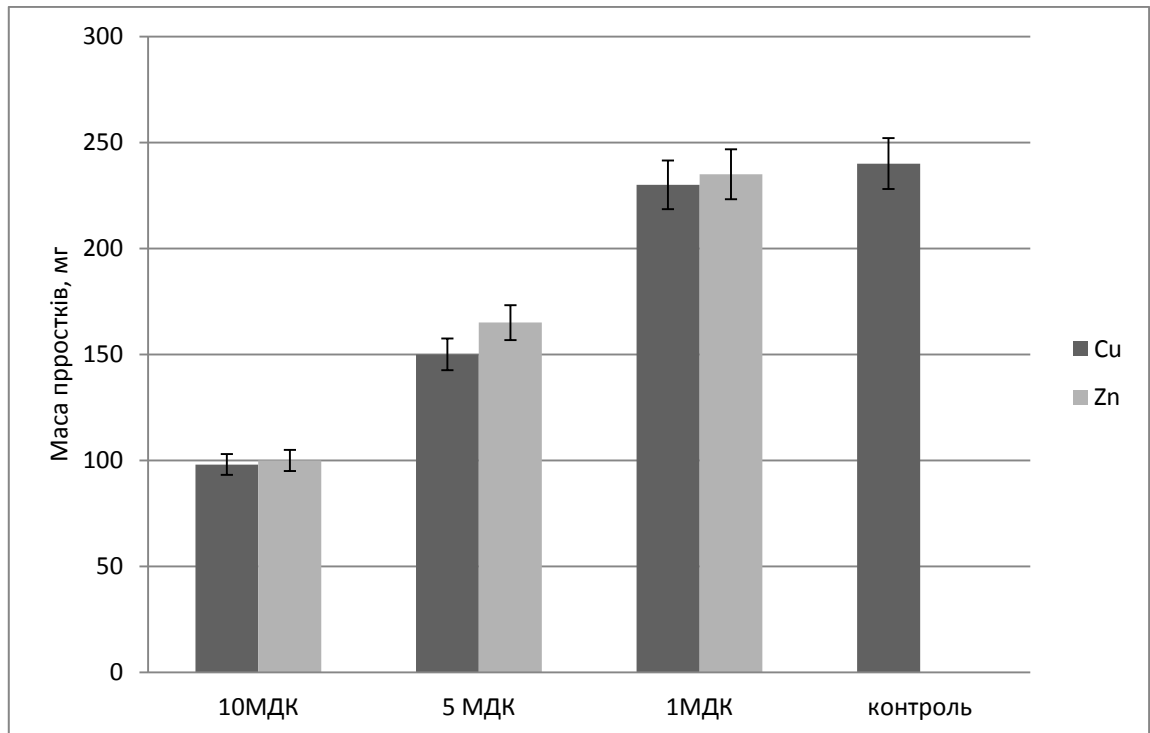


Рис. 3.9. Маса проростків *Trifolium pratense* L. (мг), вирощених за різних концентрацій $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ та $CuSO_4 \cdot 5H_2O$

Середнє значення маси проростків, вирощених за дії 1-5 МДК сульфату цинку, було дещо вищим, ніж за дії міді. Так, у проростків, вирощених за концентрації солей цинку та міді від 5 до 10 МДК маса проростків була нижчою, ніж у контролі (дистильована вода) та за дії 1 МДК. У варіантах рівних 10 МДК досліджуваних солей середнє значення маси було вдвічі нижчим, ніж у контролі. Маса кореневої системи дослідної рослини є одним із показників, що відображає загальну картину позитивного чи негативного впливу діючої речовини.

Таблиця 3.3

Вплив солей 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

Нами доведено, що найбільший токсичний ефект на ріст проростків викликали високі концентрації солей цинку. Разом з цим необхідно відмітити, що 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 (19,9-29,03) 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. 3.3). Найбільші зміни довжини пагонів та коренів проростків конюшини виявлені за умов впливу іонів цинку. Незначні зміни біометричних показників відбувалися при дії іонів міді.

3.4. Ріст та розвиток *Trifolium pratense* L. в умовах *in vitro*

Метод культури клітин, тканин, і органів нині широко впроваджується в багатьох країнах світу для розв'язання проблем сучасної селекції. Біотехнологічні підходи використовують для збереження, прискореного розмноження й тиражування унікальних, цінних та сільськогосподарських культур (Кунах, 2005). В Україні теоретичні і методичні дослідження у галузі біотехнології сільськогосподарських рослин проводять у кількох напрямках: мікроклональне розмноження (МКР), оздоровлення рослин, клітинна селекція, прискорення селекційного процесу (Кушнір, 2001; Кушнір, Сарнацька, 2005). Біотехнологічні підходи в рослинництві широко розповсюджені і є провідними в селекційних програмах для багатьох сільськогосподарських культур (Ніколайчук, 2002). Застосування біотехнології у сільськогосподарському рослинництві дає змогу отримати нові високоврожайні сорти, стійкі до хвороб і несприятливих ґрунтових та кліматичних умов (Куртин та ін., 1993). Мікроклональне розмноження бобових застосовують головним чином для полегшення гібридизації, генної трансформації або збільшення генетичної мінливості. Культура меристематичних аспектів сприяє звільненню материнських рослин від вірусів (Денчиля-Сакаль та ін., 2010).

Для забезпечення генетичної стабільності розмножуваних зразків *Trifolium pratense* L. в якості експлантатів використовували пазушні бруньки, пагони та апікальні меристеми, оскільки додаткова меристема більше схильна до спонтанного мутагенезу. Критеріями оптимізації умов мікророзмноження і впливу гормональних і трофічних факторів середовища на морфогенез бобових слугували: частота калюсогенезу – кількість експлантатів, на яких утворився калюс, частота регенерації – кількість зразків калюсу з регенерантами, кількість регенерантів на зразок калюсу; частота мікроклонального розмноження – кількість експлантатів з адвентивними пагонами завдовжки 1 см і більше, кількість адвентивних пагонів на один експлантат, частота ризогенезу – кількість укорінених

мікроживців, життєздатність вирощених *in vitro* рослин при їх адаптації до септичних умов, та рослин, які вижили на кожному етапі постасептичного культивування.

За морфолого-анатомічними ознаками проростків *Trifolium pratense* L. на різних стадіях онтогенезу визначали початок настання фаз розвитку рослин. Вже на 5 добу спостерігали формування листків проростків. На середовищі, яке містило ауксини, стебло формувалось одне розміром, заввишки 1–2 см, тонке, пряме. Спостерігалось формування сім'ядольних листків проростків і закладання перших справжніх листків. Листки – великих розмірів в 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 (рис. 3.10).



Рис. 3.10. *Trifolium pratense* L. на середовищі Мурасіге-Скуга (НУК)

На середовищі з додаванням цитокінінів на 7 добу спостерігалось бічне галушення, 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 (рис. 3.11).



Рис.3.11. *Trifolium pratense* L. на середовищі Мурасіге-Скуга (БАП)

Дослідженнями встановлено, що ауксини зумовлюють диференціацію клітин, а цитокініни індукують їх для отримання калюсних тканин (Сергієнко та ін., 2004).

У дослідах з одержання культури тканин від вегетативних надземних органів (точки росту, ділянок листових пластинок і стебел) ми встановили, що всі ділянки надземних органів, виділених з верхньої, середньої та нижньої частини рослин, утворювали диплоїдний первинний калюс (табл. 3 4).

Таблиця 3. 4

Результати мікроклонального розмноження на основі культивування

Формування пагонів із бруньок		Укорінення пагонів	
висаджено бруньок, шт.	сформувалось пагонів, %	висаджено пагонів, шт.	укорінилось, %
60	71,5	45	52,2

У наших дослідженнях було використано концентрації двох фітогормонів, які відігравали основну роль у регуляції росту. При

культивуванні стерилізованих проростків на середовищі з БАП в концентрації 1,0 мг/л, спостерігали утворення калюса з багаточисельними меристематичними ініціалами. При концентраціях 0,5 мг/л калюсоутворення не спостерігали. Після закладання меристематичних ініціалів, яке спостерігалось через 2–3 тижні після початку культивування відбувалася диференціація пагонів. 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. При концентрації НУК 1,5 мг/л утворення коренів спостерігали у 78% мікроживців (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Вплив регуляторів росту на морфогенез *Trifolium pratense* L.

Регулятор росту	Концентрація в поживному середовищі, мг/л	Результати при культивуванні (%):		
		Стерилізованих проростків	частково диференційованого калюсу	мікроживців
БАП	0,5	-	-	бічне галуження 95%
	1,0	утворення калюса 80	-	
	1,5	95	-	
НУК	0,5	-	коренеутворення (45%)	коренеутворення (45%)
	1,0	утворення не морфогенного калюсу (70%)	регенерація пагонів (90%)	заростання не морфогенним калюсом (95%)
	1,5	коренеутворення (78%)		коренеутворення (30%)

Встановлено, що фізіологічну активність в рослинах ауксини проявляють в досить низьких концентраціях 0,1 мг/л. Вони впливають на ризогенез і подальший ріст кореня, викликають інтенсивне видовження клітин в фазі росту розтягом, та контролюють апікальне домінування, диференціацію ксилеми, закладку коренів (Куртин та ін., 1993; Ніколайчук та ін., 1994; Колдар, 2015).

З представлених даних таблиці 3.5, можна зробити висновок, що оптимальним середовищем для мікроклонального розмноження рослин *Trifolium pratense* L. є варіант з додаванням НУК. Згідно літературних даних (Гамбург, 1978; Бутенко, 1999; Митрофанова, 2011) основну роль при формуванні і розвитку коренів відіграють речовини ауксинового складу, з чим і узгоджуються результати наших досліджень.

В результаті застосування зазначених комбінацій НУК та БАП встановлено що при мікророзмноженні рослин *Trifolium pratense* L. найбільш ефективними були такі концентрації фітогормонів (1,0–1,5 мг/л). При культивуванні на такому середовищі через 14–21 добу спостерігався активний ріст, як центрального пагона, так і формування додаткових адвентивних пагонів (рис. 3.12–3.13).

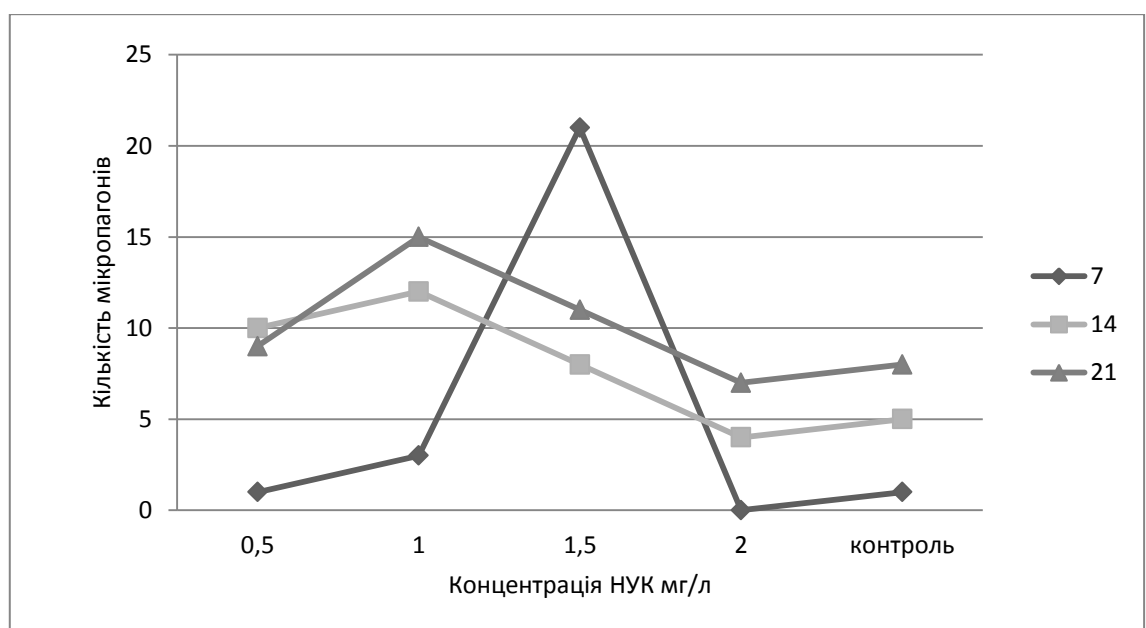


Рис. 3.12. Вплив концентрації НУК на кількість мікропагонів

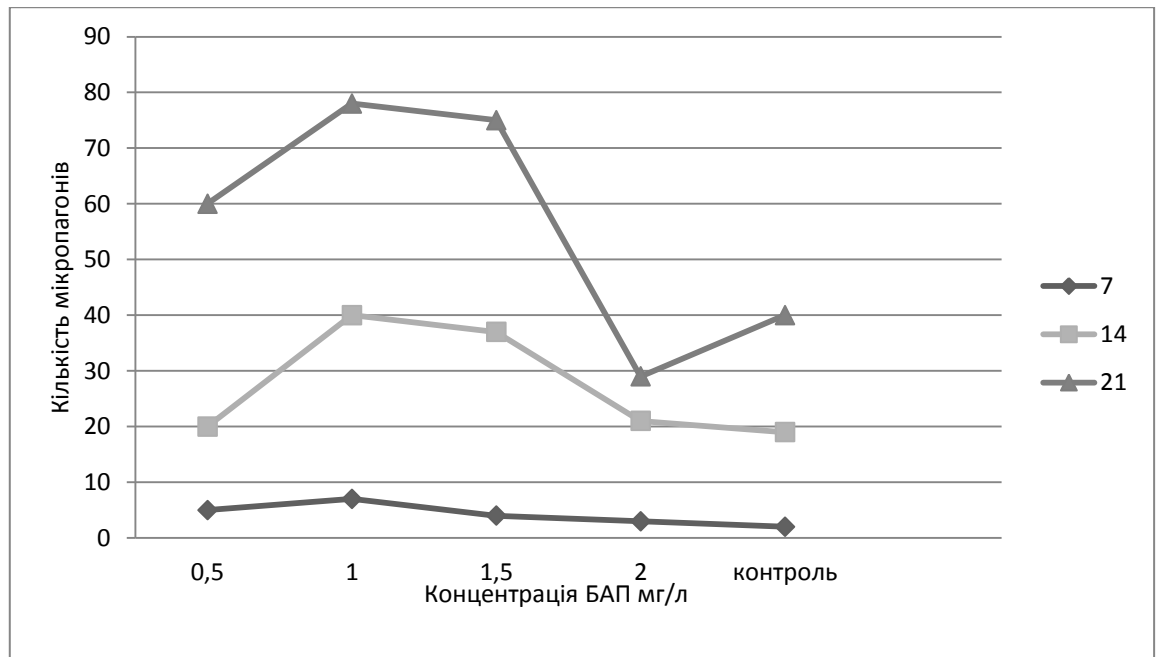


Рис. 3.13. Вплив концентрації БАП на кількість мікропагонів

Слід зазначити, що на реалізацію морфогенного потенціалу, в тому числі і коренеутворення, істотно впливає генотип рослинного організму. Згідно з літературними даними, у бобових на органогенез і ризогенез генотип впливає сильніше, ніж компоненти культурального середовища (Tomes, 1979).

Висновки по розділу:

1) Встановлено концентраційну залежність дії сульфатів цинку та міді на рослини конюшини. Концентрації 5-10 МДК майже завжди спричиняють пригнічення. Стимулювання проростання насіння проявлялось при концентрації 1 МДК, причому воно було досить значним порівняно з контролем у варіанті експерименту з солями цинку.

2) Встановлено, що зміни довжини пагонів та коренів проростків конюшини виявлені за умов впливу іонів цинку були більшими. Коефіцієнт варіації для стебла –31,3%, для кореня –23,3%. Незначні зміни біометричних показників відбувалися при дії іонів міді (коефіцієнти варіації 19,9-29,03).

3) За низьких концентрацій цинк і мідь проявляли значний стимулюючий ефект, а негативний вплив спостерігався тільки за перевищення 5МДК (500мг/кг для Cu^{2+} та 1500мг/кг для Zn^{2+}).

4) Одержані дані є свідченням того, що підвищення діючих концентрацій сульфатів цинку та міді спричиняє істотне гальмування не тільки лінійного росту, а й ростових процесів в цілому.

5) Мікроклональне розмноження дає можливість протягом одного місяця одержати велику кількість генетично однорідного посадкового матеріалу. Установлено, що всі ділянки наземних органів, виділених з верхньої, середньої та нижньої частини рослин конюшини, утворювали диплоїдний первинний калюс.

6) Частота калюсогенезу і частота регенерації пагонів з калюсу залежить як від вмісту фітогормонів у середовищах, так і від вихідного експлантата. Експлантати всіх типів здатні до калюсогенезу, але стеблові виявились менш ефективними, ніж листові й кореневі.

7) Установлено, що оптимальними концентраціями фітогормонів для стимуляції регенерації пагонів з калюсу і утворення мікроклонів конюшини виявились 1,0–1,5 мг/л. 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.

8) Розроблено біотехнологію мікроклонального розмноження рослин *Trifolium pratense* L., яка охоплює різні типи індукованого морфогенезу *in vitro* та дає змогу отримувати значну кількість оздоровлених рослин-регенерантів різного цільового використання.

Основні публікації дисертанта за матеріалами розділу

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

Перелік посилань:

Бутенко, Р. Г. (1999). *Биология клеток высших растений in vitro и биотехнологий на их основе*. Москва:ФБК-ПРЕСС.

Вакерич, Михайло. 2010. Аутоекологічні дослідження реакції *Avena Sativa* L. за дії сполук купруму. Автореф. дис. канд. біол. наук, Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича.

Гамбург, К. З., Леонова, Л. А., Рекославская, Н. И. (1978). *Метаболизм ауксинов и рост культур растительных клеток*. Киев.

Гончар, Л.М. (2016). Дія колоїдного розчину міді та цинку на проростання насіння вівса. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, 4, 45–48.

Гуральчук, Ж. З. (1999). Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам. *Физиология и биохимия культурных растений*, 26(2), 107–117.

Гуральчук, Ж. З. (2006). *Фітотоксичність важких металів та стійкість рослин до їх дії*. Київ: Логос.

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.

Колдар, Л. А., Небиков, М. В., Андрієнко, О. Д. (2015). Індукція органогенезу у експлантів *Amelanchier ovalis* Medic. *in vitro*. *Автохтонні та інтродуковані рослини*, 11, 100–105.

Кунах, В. А. (2005). Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. Київ: Логос.

Кушнір, Г. П. (2001). Стан і перспективи клонального мікророзмноження рослин в Україні. *Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть*, 1, 484–500.

Кушнір, Г. П., Сарнацька, В. В. (2001). *Мікроклональне розмноження рослин*. Київ: Наукова думка.

Куртин, Н. П., Ніколайчук, В. І., Яловська, Г. Й. (1993). Мікроклональне розмноження господарсько-цінних ліній *Lotus L.* *Український ботанічний журнал*, 50(3), 126–128.

Митрофанова, И. В. (2011). *Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур*. Киев: Аграрна наука.

Міхєєв, О. М., Лапань, О. В. (2019). Вплив іонів кадмію (II) на ростові характеристики рослинного компоненту біоплато. *Фізіологія рослин і генетика*, 51(4), 338–346.

Лянгузова, И. В. (1999). Влияние никеля и меди на прорастание семян и формирование проростков черники. *Физиология растений*, 46(3) 500–502.

Нестерова, А. Н. (1989). Действие тяжелых металлов на корни растений. Поступление свинца, кадмия и цинка в корни, локализация металлов и механизмы устойчивости растений. *Биологические науки*, 9, 72–86.

Ніколайчук, В. І., Белчгазі, В. Й., Білик, П. П. (1994). *Лабораторний практикум з біотехнології вищих рослин*. Ужгород.

Ніколайчук, В. І. (2002). *Лядвенець (Lotus L.): біологія, генетика, екологія*. Ужгород.

Таланова, В. В., Титов, А. Ф., Боева, Н. П. (2001). Влияние возрастающих концентраций тяжелых металлов на рост проростков ячменя и пшеницы. *Физиология растений*, 48(1), 119–123.

Сергієнко, О. Ф., Баштан, В. Б., Горова, Т. К. (2004). Методика мікроклонування селекційних зразків моркви. Мерефа: ІОБ НААН.

Серегин, И. В., Иванов В. Б. (1997). Является ли барьерная функция эндодермы единственной причиной устойчивости ветвления корней к солям тяжелых металлов. *Физиология растений*, 44, 922–925.

Яковлева-Носарь, С. О. (2008). Вплив важких металів і кислих газів на початковій стадії розвитку *Robinia pseudoacacia L.* у модельних експериментах. *Питання біоіндикації та екології*, 13 (2), 87–107.

Barceló, J. & Poschenrieder, C. (1990). Plant water relations as affected by heavy metal stress. *Plant Nutrition*, 13(1), 1–37.

Punz, W. F. & Sieghardt, H. (1993). The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. *Environmental and Experimental Botany*, 33, 85–98.

Shah, K. & Dubey, R. S. (1998). A 18 kDa cadmium inducible protein complex from rice: its purification and characterization from rice (*Oryza sativa* L.) roots tissues. *Plant Physiology*, 152, 448–454.

Tomes, D. F. (1979). A tissue culture procedure for propagation and maintenance of *Lotus corniculatus* genotypes. *Canadian Journal of Botany*, 57(2), 137–145.

Vassilev, A., Berova, M., & Zlatev, Z. (1998). Influence of Cd²⁺ on growth, chlorophyll content, and water relations in young barley plants. *Biology of Plant*, 41(4), 601–606. doi.org/10.1023/a:1001856819797

Wierzbicka, M., & Obidzińska, J. (1998). The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. *Plant science*, 137, 115–171.

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ФОТОСИНТЕЗ

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

В останні десятиріччя розпочалося активне вивчення симптомів пошкодження рослин ВМ (Бессонова, 1991, 1992, 2006). Вміст пігментів та їхній стан визначають розвиток і активність фотосинтетичного апарату, а також продуктивність, життєздатність та стійкість рослин (Busuioc et al., 2008; Vlaylock et al., 1997; Kabata-Pendias, Pendias, 2001). Відомо, що підвищені концентрації ВМ можуть призводити до загальних малоспецифічних фізіологічних та біохімічних змін (Титов и др., 2007). Найзагальнішими проявами фітотоксичності іонів важких металів є хлороз та затримка росту і розвитку (Кавулич та ін., 2016).

Zn²⁺. У результаті проведеними нами дослідженнями з рослинами конюшини лучної встановлено, що за концентрації 1 МДК сульфату цинку ніяких змін у зовнішньому вигляді листків не спостерігалось. За наступного 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. 4.1. *Trifolium pratense* L. контроль



Рис. 4.2. 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. 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. 4.3. 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.

Cu²⁺ Як і в попередньому варіанті дослідів, незначне 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. 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, рослини втрачали тургор і засихали (рис. 4.4, 4.5).



Рис. 4.4. Точкові некрози на епідермісі листків *Trifolium pratense* L. за концентрації міді в ґрунті 5 МДК

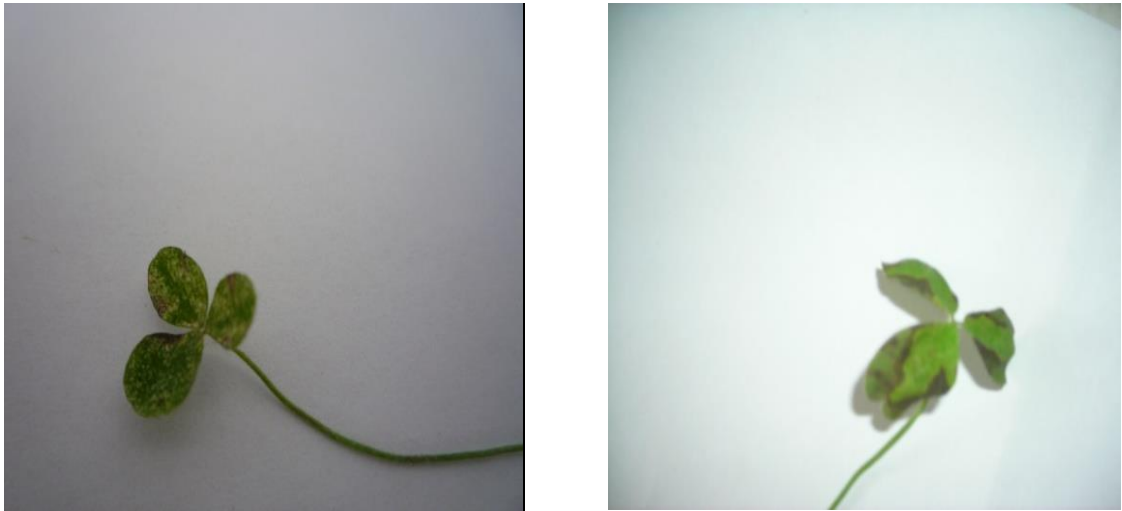


Рис. 4.5. Точкові некрози на епідермі листків *Trifolium pratense* L. за концентрації міді в ґрунті 10 МДК

Таким чином, при високих концентраціях досліджених нами металів листки втрачають тургор, в'януть і гинуть. Надлишок цинку в поживному середовищі викликає міжжилковий хлороз. Надвисокі концентрації металів в експерименті понад 10 МДК повністю пригнічують життєздатність рослин. Аналіз даних літератури свідчить, що при накопиченні важких металів у листках розвивався міжжилковий хлороз, некроз країв і кінчика листка, наставав ранній листопад (Бессонова, 2006).

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

Листок зароджується на верхівці пагона (апексі) в примордіальній зоні у вигляді горбочків. Спочатку горбочок представлений ембріональною меристемою, з часом відбувається розмежування майбутнього листка на верхню та нижню частини. Інтенсивність росту цих частин різна. Спочатку активно наростає верхня, пізніше ріст листка продовжується за рахунок нижньої частини, у дводольних верхівковий ріст листка зберігається, але сильно уповільнюється (Дячук, Перфільєва, 2015).

Відомо, що для оцінки впливу важких металів на асиміляційний апарат рослин важливими є такі показники, як кількість листків та їх площа пошкодження (Бессонова, 2006).

Нами проведені дослідження по вивченню стану асиміляційного апарату рослин при різних рівнях забруднення ґрунту сульфату міді та цинку. У конюшини лучної кількість листків на одну особину залежить від кількості та довжини пагонів, тому при аналізі бралися до уваги і ці ознаки.

Таблиця 4.1

Показники асиміляційного апарату за різного рівня забруднення ґрунту цинком та міддю

Варіант експерименту	Ознаки								
	Кількість пагонів на 1 рослину, шт		Кількість листків на 1 пагін, шт		Довжина пагона, см		Площа листкової поверхні, см ²		
	М	С _v ,%	М	С _v ,%	М	С _v ,%	М	С _v ,%	
CuSO₄·5H₂O									
1 МДК	14,82	20,31	32,52	21,03	24,37	19,97	0,83	18,52	
5 МДК	10,76	19,44	21,74	18,04	12,53	21,05	0,49	16,75	
10 МДК	4,62	20,27	17,13	24,72	7,81	17,93	0,25	17,40	
ZnSO₄·7H₂O									
1 МДК	10,24	19,48	18,36	18,95	16,85	19,98	0,63	16,89	
5 МДК	6,63	15,73	12,31	19,06	11,52	21,30	0,47	21,45	
10 МДК	4,19	20,31	9,89	21,63	9,18	20,07	0,24	28,34	
Контроль	10,42	10,34	26,21	17,81	18,93	13,61	0,72	12,84	

Згідно з нашими результатами (табл. 4.1), за усіма дослідженими параметрами спостерігається практично лінійна залежність зміни значень кількісних морфологічних ознак, що характеризують асиміляційний апарат

рослин від вмісту поллютантів у ґрунті. Чітка залежність доза-ефект спостерігається при перевищенні ґрунтових МДК для солей міді та цинку.

У випадку забруднення сульфатом міді, підняття рівня забруднення до 1 МДК не викликає інгібування мітотичних поділів апексу, а навпаки, виявляє стимулюючу дію на процеси морфогенезу.

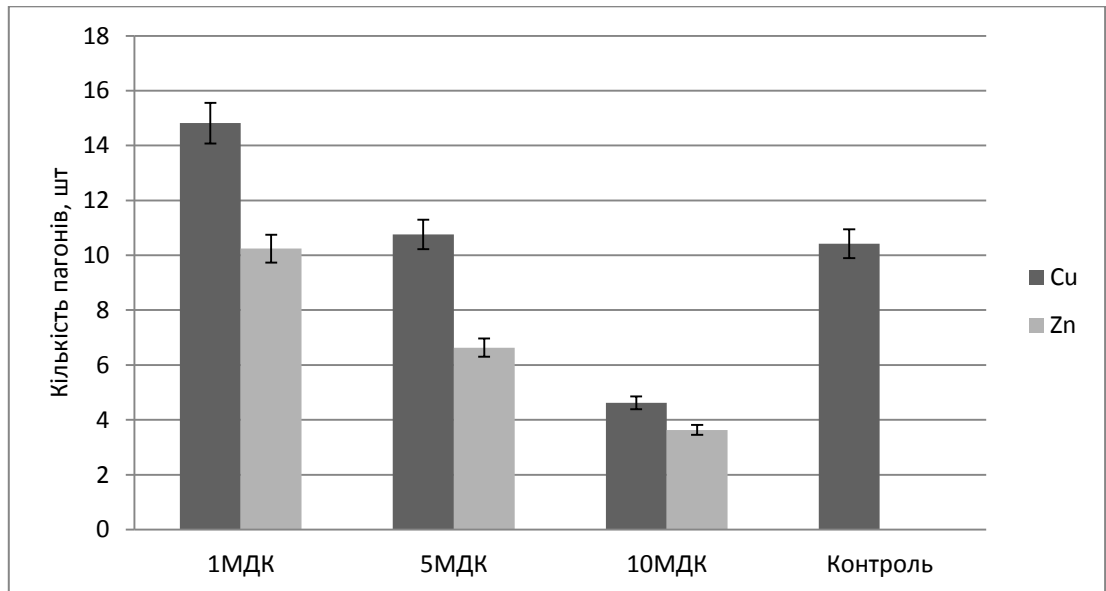


Рис. 4.6. Кількість пагонів на 1 рослин *Trifolium pratense* L. за різного рівня забруднення ґрунту цинком та міддю

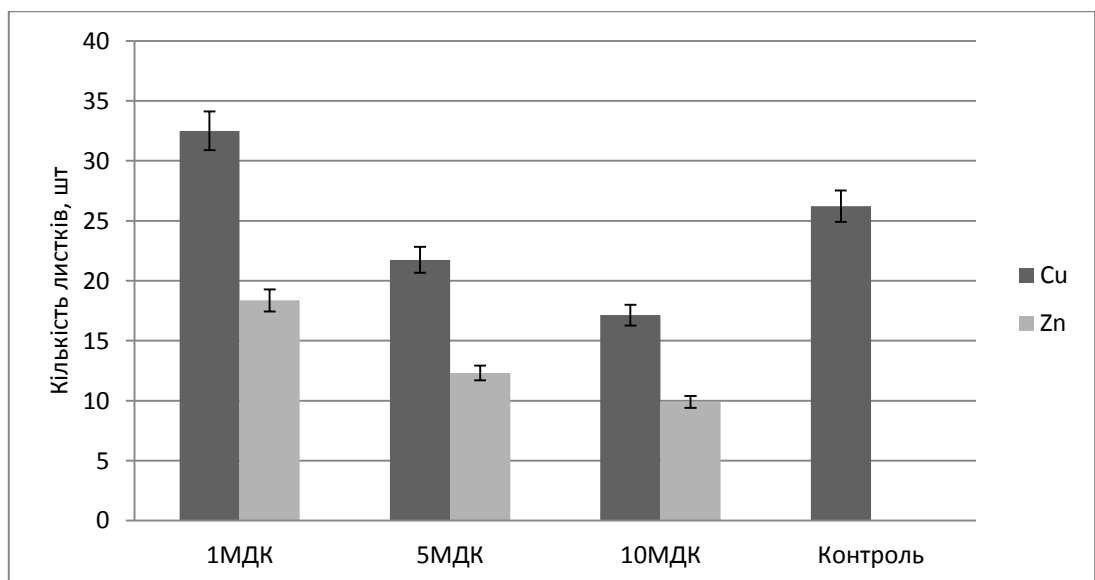


Рис. 4.7. Кількість листків на 1 рослин *Trifolium pratense* L. за різного рівня забруднення ґрунту цинком та міддю

Значення показників кількості та довжини пагонів (рис. 4.6, 4.7) у рослин, що зростали на ґрунті не забрудненому солями міді (контроль), були нижчими, ніж при внесенні $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ у концентраціях включно до 1 МДК.

Однак, показник кількості листків на один пагін хоч, і не значною мірою, але нижчий у цьому варіанті експерименту, ніж у контролі. Можна припустити, що хоча і спостерігається певна стимулююча роль високих концентрацій міді на мітотичні поділи апексу, однак відбувається пригнічення формування листкових примордіїв і розвитку листкової пластинки. У експериментальних рослин утворювалося багато недорозвинених листків, які відмирили (засихали) через кілька днів після появи (рис. 4.8, 4.9).

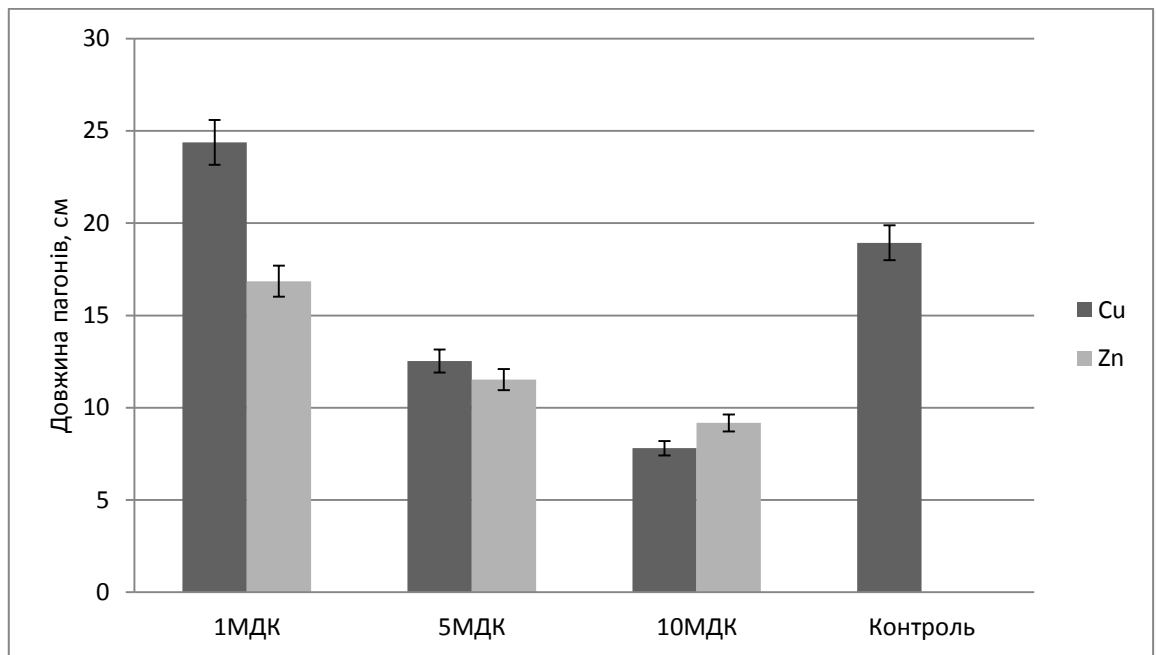


Рис. 4.8. Довжина пагонів *Trifolium pratense* L. за різного рівня забруднення ґрунту цинком та міддю

Очевидно, це викликане явищем інгібування мітотичних поділів у зародкових листочках, в результаті не відбувається формування листового виступу, осі листка та листкової пластинки. Подібні результати були отримані при дослідженнях впливу різного роду поллютантів на злаки, декоративні деревні та чагарникові породи, які зростають у промислово-забруднених регіонах України (Случик, 2000).

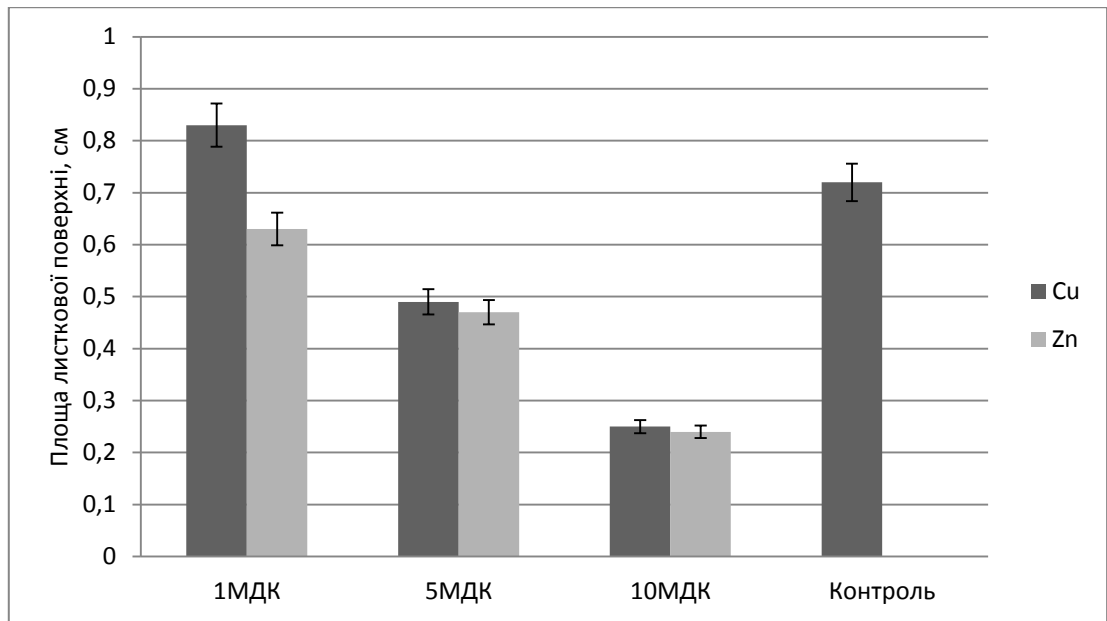


Рис. 4.9. Площа листкової поверхні *Trifolium pratense* L. за різного рівня забруднення ґрунту цинком та міддю

Важливим показником, який характеризує асиміляційний апарат рослин є розміри листків та їх площа. В усіх варіантах експерименту виявлено лінійну залежність, тобто з підняттям концентрації металу в ґрунті, площа листкових пластинок зменшується. За перевищення МДК у 10 разів площа листків зменшувалася в порівнянні з контролем на 65-70%. Незважаючи на чітко виражений дозо-залежний 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 $0,24 \text{ cm}^2$ для солей Zn^{2+} . Із літературних даних відомо, що при вивченні ряду сільськогосподарських рослин (гороху, кукурудзи, соняшника, ячменю) спостерігалася чітко виражена видова специфіка реакції асиміляційного апарату при надлишку цинку (Михайлов и др., 1985; Godzik, 1993).

Порівняння коефіцієнту варіації виявило (табл. 4.1), що усі досліджувані морфологічні ознаки асиміляційного апарату в контролі характеризуються переважно середнім рівнем мінливості (рис. 4.10, 4.11). При внесенні ВМ в понад 10 МДК значення коефіцієнту варіації зростають,

що свідчить про неоднакову реакцію рослин на сольовий стрес. Найбільші коефіцієнти варіації спостерігалися в ознак площа листкової 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).

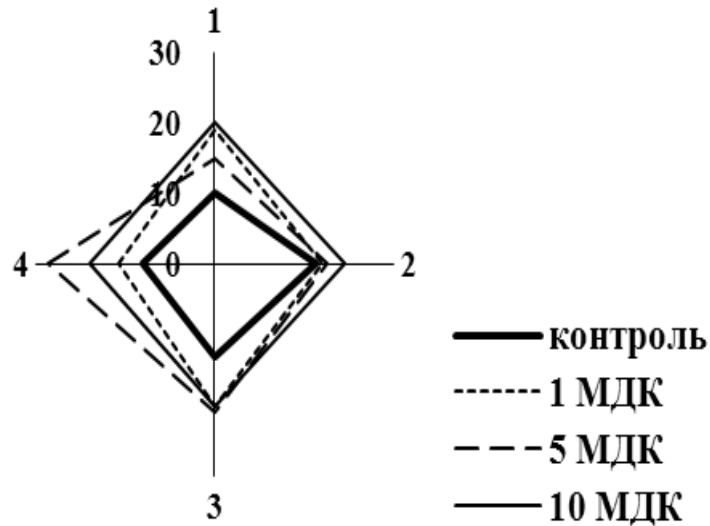


Рис. 4.10. Значення коефіцієнтів варіації досліджуваних ознак за різного рівня забруднення ґрунту солями міді

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

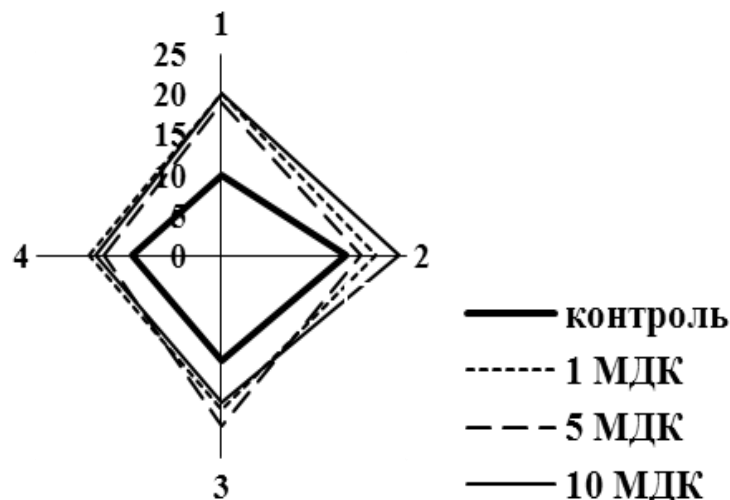


Рис. 4.11. Значення коефіцієнтів варіації досліджуваних ознак за різного рівня забруднення ґрунту солями цинку

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

Обчислення коефіцієнту кореляції дало змогу встановити досить щільний зв'язок між вмістом у ґрунті міді та цинку, а також кількістю листків, пагонів та площею листкової пластинки (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

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.

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

Відомо, що пігментна система багатьох рослин чутлива до важких металів, тому вміст хлорофілу можна використовувати для біоіндикації забруднення довкілля як окремими токсикантами, так і їхніми комплексами (Muthuchelian, 1988; Маєвська та ін., 2000).

Аналіз наявних у літературі даних показує, що найбільш інформативним біоіндикаційним показником стану довкілля є співвідношення хлорофілів $a+b$ (Бессонова, 1992; Гливяс, Ніколайчук,

2001; Versieren et al., 2017). Вміст фотосинтетичних пігментів великою мірою визначається сукупним впливом екологічних факторів, у тому числі антропогенних.

Нами проведені дослідження впливу різних концентрацій солей міді та цинку на вміст зелених пігментів у листках конюшини лучної. Вивчення сезонної динаміки кількості хлорофілів у листках виявило, що максимальна кількість хлорофілу $a+b$ 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 $a+b$ у контролі нами спостерігалися під час цвітіння і плодоношення (табл. 4.3, рис. 4.12-4.13).

Таблиця 4.3

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

Варіант експерименту	Хлорофіл $a+b$, мг г-1 сирої ваги					
	Відростання листків		Бутонізація		Цвітіння	
	М	$C_v, \%$	М	$C_v, \%$	М	$C_v, \%$
CuSO₄·5H₂O						
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
ZnSO₄·7H₂O						
1 МДК	4,41	25,91	4,83	6,33	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 (табл. 4.3, рис 4.12).

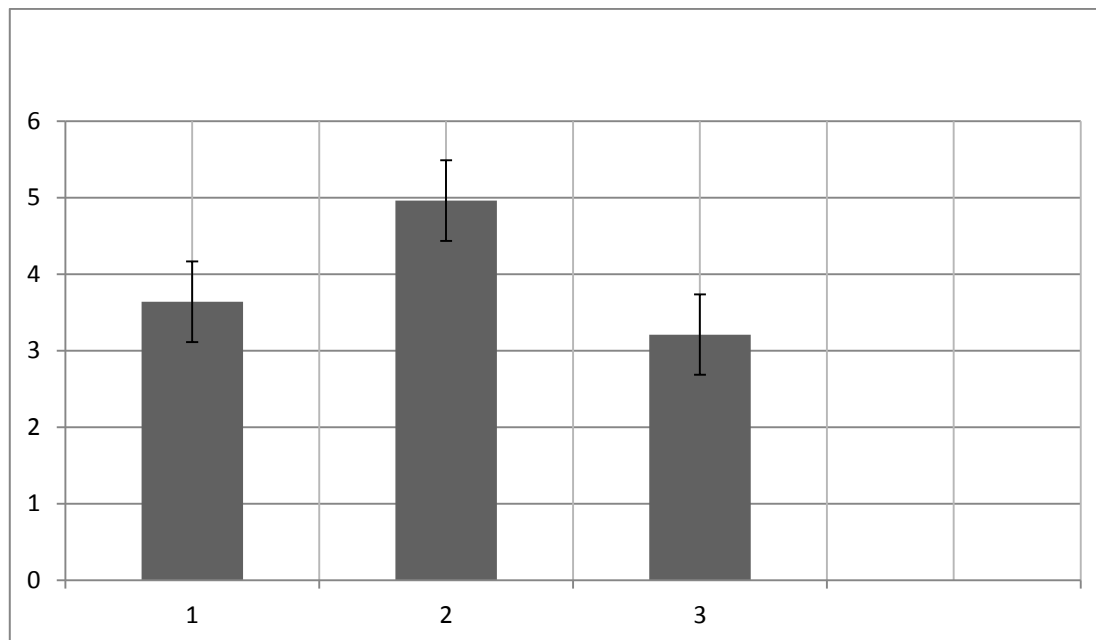
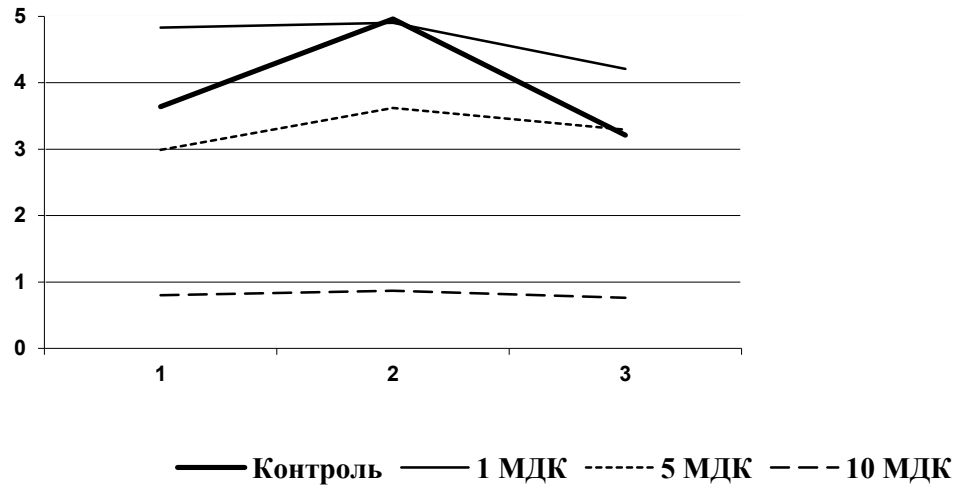


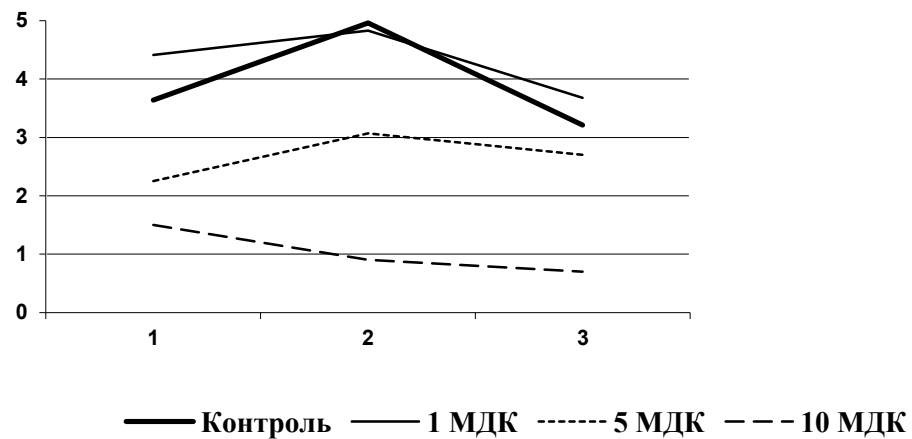
Рис. 4.12. Вміст хлорофілу *a+b* у листках *Trifolium pratense* L. в різні періоди

1 – період відростання листків; 2 – бутонізація; 3 – цвітіння.

Тільки при перевищенні МДК у 5 і 10 разів спостерігалось різке зменшення вмісту пігментів у рослинах. В. П. Бессонова (1991) зазначає, що очевидно це обумовлюється тим, що при надмірному навантаженні ВМ відбувається окиснення клітинних мембран і відкривається доступ у клітини хлоренхіми значної кількості інших токсичних сполук, зокрема SO_2 , який руйнує вміст пластидних пігментів. При перевищенні ГДК ВМ у 10 разів вміст хлорофілів у порівнянні з контролем зменшувався на 60 – 80%.



Мідь



Цинк

Рис. 4.13. Вміст пігментів у листках *Trifolium pratense* L. за умов забруднення ґрунту ВМ

1 – період відростання листків; 2 – бутонізація; 3 – цвітіння.

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 (рис. 4.13).

Висновки по розділу:

- 1) Встановлено зміни площі листової поверхні *Trifolium pratense* L. за різного рівня забруднення ґрунту цинком та міддю: зі зростанням концентрації металу в ґрунті, площа листових пластинок зменшується.
- 2) Максимальні коефіцієнти варіації спостерігалися в ознак площа листової поверхні (28,34) при забрудненні ґрунту цинком в концентраціях рівних 10 МДК. При забрудненні ґрунту Cu^{2+} найбільші коефіцієнти варіації були в кількості при розрахунку показників пагонів на 1 рослину.
- 3) Максимальна кількість хлорофілу $a+b$ спостерігається в період бутонізації, найнижчі сумарні показники нами спостерігалися під час цвітіння.
- 4) При перевищенні допустимих концентрацій ВМ у 10 разів вміст хлорофілів у порівнянні з контролем зменшувався на 60 – 80%.
- 5) Встановлені нами особливості впливу підвищеного вмісту цинку та міді на рослини *Trifolium pratense* L. дозволяють здійснювати постійний моніторинг вмісту важких металів у ґрунтах за цими ознаками.

Основні публікації дисертанта за матеріалами розділу

Denchyliya-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: 10.15421/2017_247 (Web of Science).

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.

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.

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.

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.

Денчиля-Сакаль, Г. М. (2018). Вплив ВМ на пластидний апарат *Trifolium pratense* L. *Пермакультура та екологічно-безпечне землеробств*. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. (С. 59–61). Ужгород: Вид-во УжНУ «Говерла».

Перелік посилань:

Бессонова, В. П. (1991). Пасивний моніторинг забруднення середовища важкими металами з використанням рослин. *Український ботанічний журнал*, 48(2), 77 – 80.

Бессонова, В. П. (1991). Влияние полистимулина К на фотосинтетический аппарат растений чины душистой, выращенных при избытке в среде железа, марганца и хрома. *Физиология и биохимия культурных растений*, 23(2), 159–164.

Бессонова, В. П. (1992). Вплив важких металів на пігментну систему листка. *Український ботанічний журнал*, 49(2), 63–66.

Бессонова, В. П. (2006). *Вплив важких металів на фотосинтез*. Запоріжжя: Юлік-ЛТД.

Гливляс, Н. В., Ніколайчук, В. І. (2001). Вплив важких металів на ріст рослин та вміст хлорофілу в листках *Lotus corniculatus* L. . *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 9, 311–313.

Дячук, П. В., Перфільєва, Л. П. (2015). *Ботаніка*. Умань: ФОП Жовтий О. О.

Кавулич, Я. З., Кобилецька, М. С, Терек, О. І. (2016). Вплив саліцилової кислоти на пігментну систему рослин гречки за токсичного впливу кадмію хлориду. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 72, 210–217.

Маєвська, С. М., Кардаш, О. Р., Демків, Л. О., Лобачевська, О. В. (2000). Особливості поглинання іонів важких металів мохом *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) Т. Кор. та його реакція на їх токсичну дію. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 26, 134–141.

Михайлов, О. Р., Бессонова, В. П., Лыженко, И. И., Карасева, О. Д. (1985). Влияние избытка цинка на рост проростков, ячменя, подсолнечника, гороха, кукурузы. *Интродукция и экспериментальная экология растений*, 3–11.

Титов, А. Ф., Таланова, В. В., Казнина, Н. М., Лайдинен, Г. Ф. (2007). Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводськ: Ин-т биологии КарНЦ РАН.

Случик, І. Й., Стефурак, В. П. (2000). Акумуляція важких металів у пагонах видів роду *Populus* L. в умовах урбанізованого середовища. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія*, 77, 51-59.

Busuioc, G., Nitu, I., Stihic, C., & Gheboianu, A. (2008). The capacity of some *Trifolium pratense* cultivars for accumulation heavy metals. *Bulletin of university of Agriculturae Sciences And Veterinary Medicine Clus Napocaulture*, 2, 174.

Blaylock, M. J., Salt, D. E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B. D., & Raskin, I. (1997): Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environmental Science & Technology* 31, 860–865.

Godzik, B. (1993). Heavy metals content in plants from zinc dumps and reference areas. *Polish Bot. Stu.*, 5, 113–132.

Kabata-Pendias, A., & Pendias, H. (2001). *Trace Elements in Soil and Plants*. CRC Press, Boca Raton.

Muthuchelian, K. (1988). Differential action of Cu^{2+} and Cd^{2+} on chlorophyll biosynthesis and nitrate reductase activity in *Vigna Sinesis* L. *Indian J. Plant Physiol.*, 41(2), 169–173.

Versieren, L., Evers, S., Elgawag, H., Asard, H., Smolders, E. (2017). Mixture toxicity of copper, cadmium, and zinc to barley seedlings is not explained by antioxidant and oxidative stress biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36, 220–230.

РОЗДІЛ 5

ВМІСТ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ У ҐРУНТАХ ТА РОСЛИНАХ

КОНЮШИНИ ЛУЧНОЇ

5.1. Дослідження вмісту важких металів (Zn^{2+} та Cu^{2+}) у ґрунті

Питанням забруднення ґрунтів території Закарпаття важкими металами різної форми рухливості займалися такі науковці як В. Г. Рошко, О. В. Грабовський (1999), В. І. Ніколайчук (2004, 2001), С. М. Сухарев, О. І. Симканич (2013), В. І. Козловський та ін., 2005). Встановлено, що ступінь токсичності ґрунтів, забруднених ВМ, визначається не тільки валовим вмістом, але і рухомими формами, які беруть участь в біогенній міграції (Фатєєв та ін., 1999).

За результатами досліджень Ж. З. Гуральчук (1994), А. Кабата-Пендіас та Х. Пендіас (1989), відомо, що міграція важких металів у системі ґрунт-рослина перебуває в прямій залежності від особливостей ґрунту – його агрохімічних і фізико-хімічних показників. З огляду на це було проведено хімічний аналіз ґрунту та рослин конюшини лучної.

Проведені дослідження виявили істотне забруднення ґрунту в модельному експерименті. Вміст рухомих форм Zn^{2+} і Cu^{2+} у всіх варіантах експерименту перевищував фоновий рівень (82 мг/кг і 58,8мг/кг відповідно) (табл.5.1). Середній вміст рухомих форм цинку перевищує фоновий в 1,5–2 рази. Вміст рухомих форм цинку перевищує ГДК в 3,5–4 рази.

Таблиця 5.1

Вміст важких металів у ґрунті

Варіанти дослідів	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$		$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	
	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	–

Розрахунки коефіцієнта концентрації K_c показали, що у всіх варіантах експерименту він перевищує одиницю і коливається в межах 1,0-2,6. Величина коефіцієнту концентрації (1) свідчить про активність процесів вилугування ($K_c < 1$) і накопичення ($K_c > 1$) речовин у ґрунті.

Забруднення ґрунту цинком впливає на вміст та розподіл міді. При збільшенні концентрації цинку в ґрунті, збільшується вміст рухомих форм міді (рис 5.1).

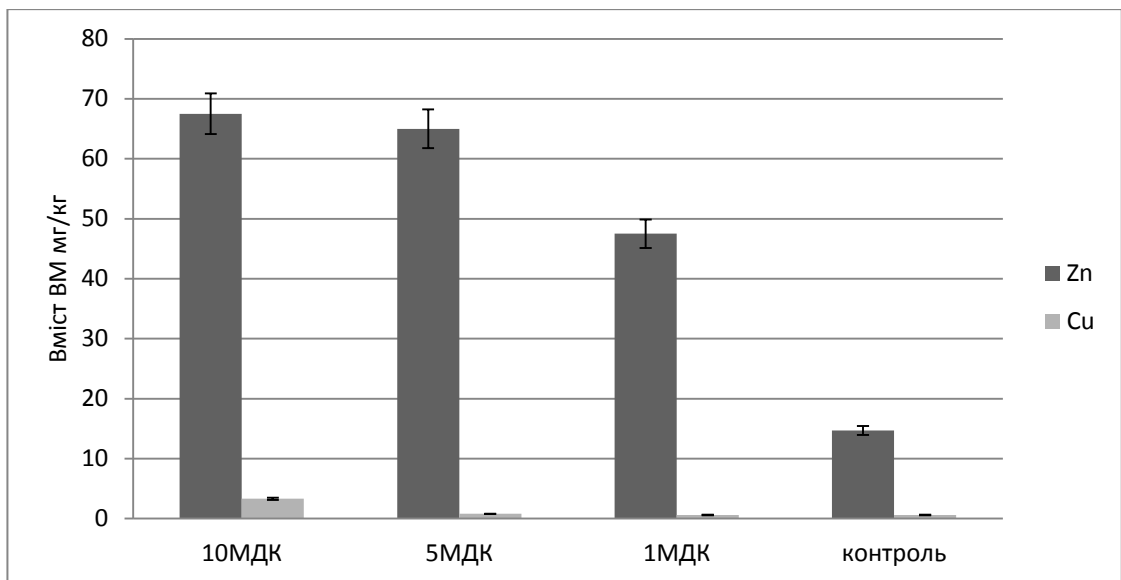


Рис. 5.1. Вміст рухомих (Zn^{2+} та Cu^{2+}) в ґрунті із внесенням сульфату цинку

За дії солей міді (10 МДК) вміст іонів цинку зменшується (рис. 5.2).

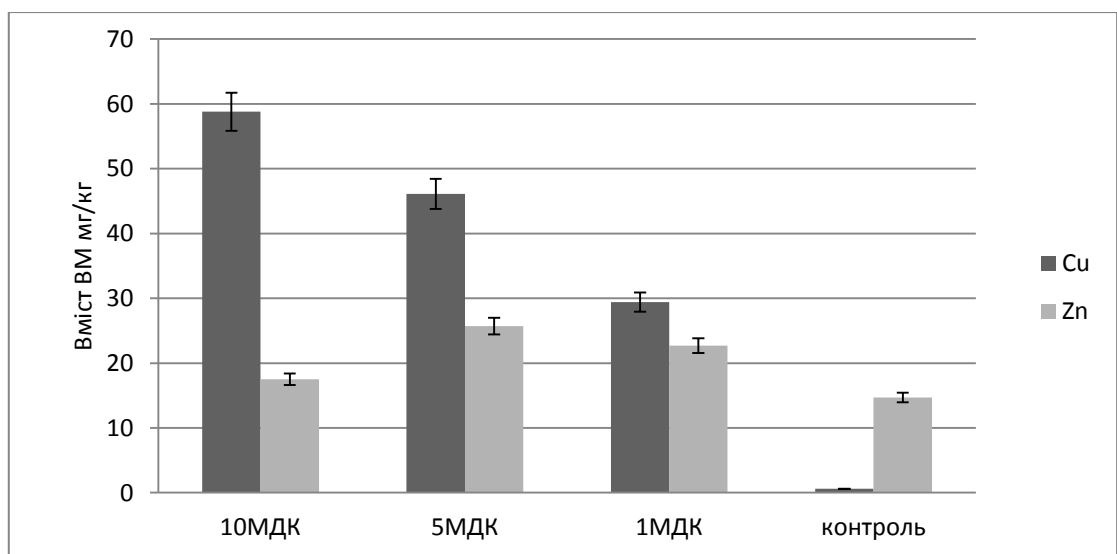


Рис. 5.2. Вміст рухомих (Zn^{2+} та Cu^{2+}) в ґрунті із внесенням сульфату міді

Максимальний вміст Zn^{2+} в ґрунті було відмічено за концентрації 5 МДК $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ за змодельованого рівня забруднення.

Аналіз зразків ґрунту за рівня змодельованого забруднення виявив, що вміст досліджених важких металів у ґрунтах перевищує фонові (рис. 5.2). Аналізуючи вміст рухомих форм Zn^{2+} та Cu^{2+} спостерігається, що їх вміст є не рівномірний, очевидно це зумовлено самою природою металів. Аналіз наявних у літературі даних показує, що сполуки цинку надходять у ґрунти у вигляді важкорозчинних сполук, а сполуки міді у формі хімічно активних речовин, здатних взаємодіяти з гумусовими кислотами, які володіють високою ємністю катіонного обміну і здатністю до утворення хелатних сполук, активно зв'язують фактично всі важкі метали (Метод.указ, 1992).

5.2. Дослідження вмісту 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. Це насамперед, пов'язане з наявністю різних форм елементів, що мають різну силу зв'язку та по різному поглинаються рослинами. Оцінюючи рівень забруднення рухомими формами важких металів Zn^{2+} та Cu^{2+} ґрунту ми встановили особливості їх накопичення рослинами конюшини лучної. Надходження цинку в рослини за рівня змодельованого забруднення ґрунту цим елементом супроводжувалось зменшенням вмісту міді за дії концентрації 1 МДК. За дії високих концентрацій цинку поступово збільшувався вміст Cu^{2+} , проте його вміст був нижчим ніж у контрольному варіанті (без внесення ВМ) (рис. 5.3).

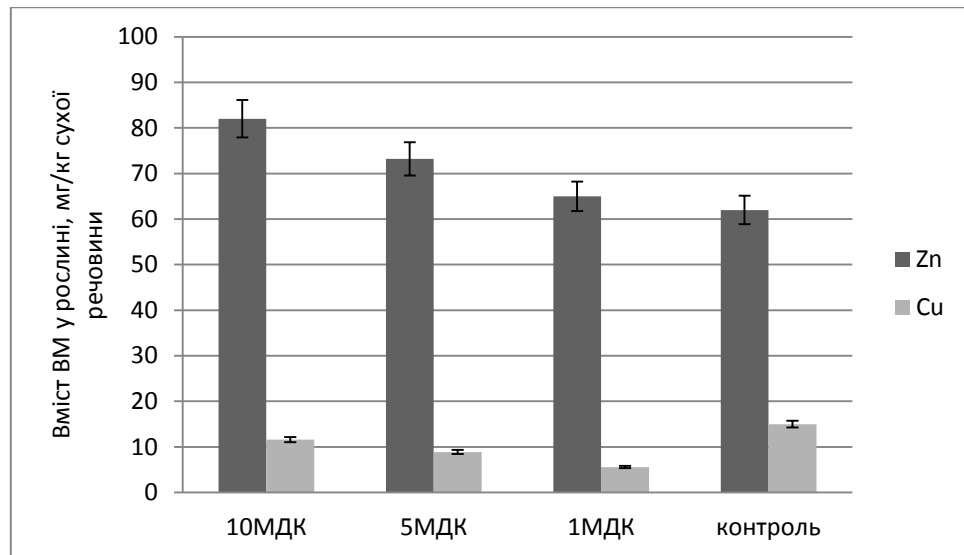


Рис. 5.3. Вміст Zn^{2+} та Cu^{2+} у рослині із внесенням сульфату цинку

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

За дії солей міді особливо при 5 МДК вміст цинку зростав. Зниження вмісту Zn^{2+} за дії Cu^{2+} спостерігали при 1 МДК (рис. 5.4).

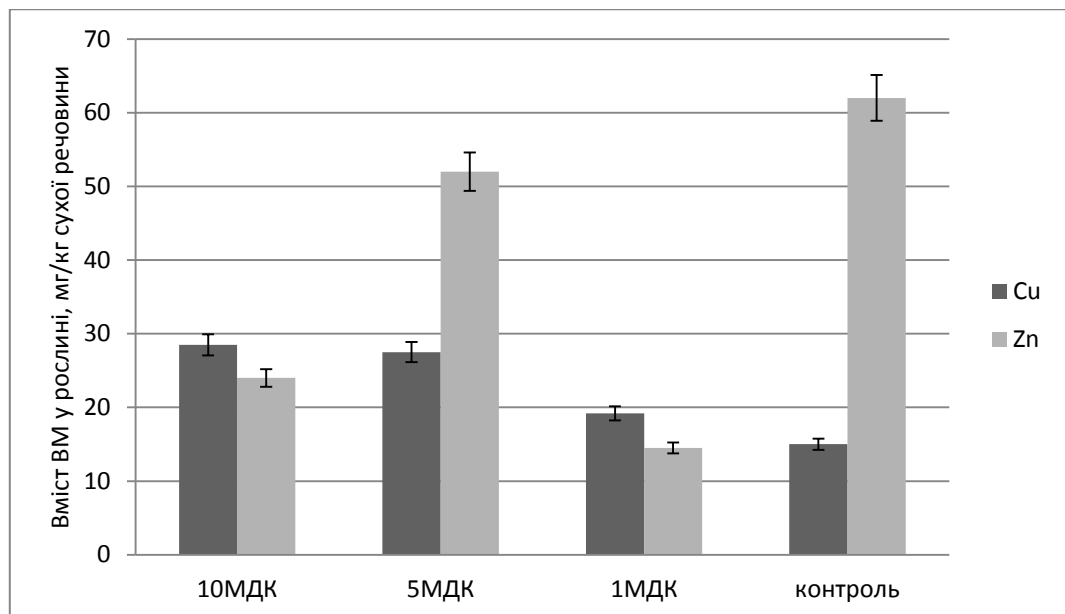


Рис. 5.4. Вміст Zn^{2+} та Cu^{2+} у рослині із внесенням сульфату міді

Очевидно, це пояснюється тим, що цинк є незамінним елементом, який входить до складу активних центрів багатьох ферментів, що відповідають за процес формування генеративних органів і утворення плодів. Вважається, що це є наслідком еволюційних процесів у рослин, які спочатку росли на бідних доступним цинком ґрунтах, і тому при постійній потребі в цьому мікроелементі захисні реакції не проявляються, або відсутні зовсім (Усманов и др., 2001; Мельник, 2010; Ильин, 2006).

5.3. Акумуляція важких металів у органах *Trifolium pratense* L.

При дослідженні нагромадження Zn^{2+} 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 коренях та листках, порівняно з пагоном (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Вміст цинку в органах конюшини лучної

Варіанти досліджу	Вміст в рослині, мг/кг								
	корінь			стебло			листок		
	мг/кг	Кс	Кбп	мг/кг	Кс	Кбп	мг/кг	Кс	Кбп
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 та ін., 2005). За

літературними даними, коефіцієнт біологічного поглинання (Кбп) важких металів змінюється залежно від виду рослин і для кожного з них є сталим (Алексеев, 1987; Kabata-Pendias, & Pendias, 2001). Усе це свідчить про те, що потрібні детальні дослідження особливостей нагромадження іонів важких металів.

Значення коефіцієнта біотичного поглинання (Кбп) є прямо пропорційним до інтенсивності біотичного поглинання елементів (Перельман, 1999). Потрапляючи у біогеохімічний кругообіг, метали фіксуються рослинністю і через певний час опиняються в опаді. Після розкладання опадів хімічні елементи переходять у водорозчинні форми, знову потрапляючи у біотичний кругообіг або виводячись за межі ґрунтового профілю і екосистеми. Разом з опадом ВМ можуть мігрувати у фіксованому стані з вітром та водними потоками і нагромаджуватися в зонах акумуляції або виноситися за межі екосистеми. З огляду на це, Кбп, відображає здатність ґрунтів до самоочищення.

Розрахунки коефіцієнта біологічного поглинання Кбп свідчать, що органи конюшини лучної мають різні захисні властивості щодо поглинання Zn^{2+} . Як видно з табл. (5.2.) Zn^{2+} інтенсивно накопичували корінь та листок при концентрації 5-10 МДК - Кбп >1, найменш інтенсивно – стебло, у всіх варіантах експерименту Кбп <1. Аналогічні дані щодо розподілу цинку у вегетативних органах рослин відображені у роботі І. О. Комарової (2019). Як зазначає автор при аналізі розподілу цинку в рослинах *Taraxacum officinale* Wigg. Zn^{2+} є лідером накопичення як в коренях так і в листових пластинках (Комарова, 2019). Наявні літературні дані свідчать, що рослини здатні поглинати цинк у вигляді Zn^{2+} , а концентрація його в листках рослин коливається в межах 20-100 мкг/г сухої речовини (Колупаев, Карпец, 2010; Kabata-Pendias, 2011).

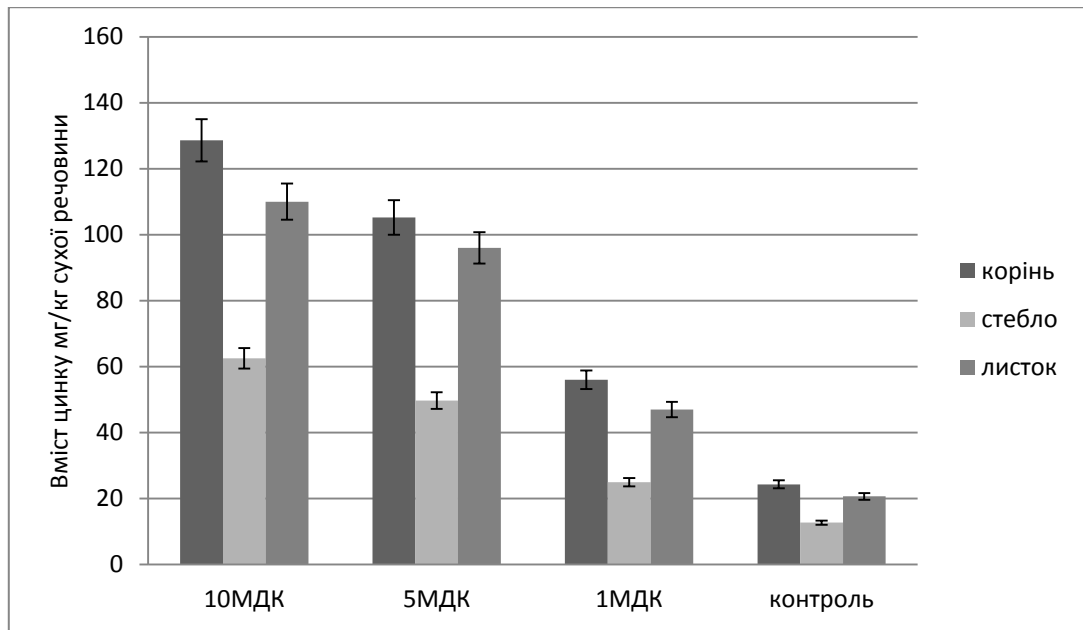


Рис. 5.5. Акумуляція цинку в органах *Trifolium pratense* L.

Нами встановлено, що при збільшенні концентрації елементів в ґрунті їх концентрація в рослині зростає до певної межі, а при низьких концентраціях зростає лінійно (рис. 5.5). Так, при 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 за дії солей міді 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. 5.3.). Значно менше іонів у стеблах рослин конюшини $K_{bp} < 1$. Листки конюшини накопичували мідь у межах 0,89-1,29.

Як стверджує А. Кабата-Пендіас, Х. Пендіас (1989), рухомість міді у рослинних тканинах залежить від рівня її надходження, досягаючи максимуму за оптимального рівня. Однак мідь має меншу рухомість порівняно з іншими елементами. Велика її частина міститься в тканинах

коренів та листків, до тих пір поки рослина не загине і тільки невелика частина може переміститися у молоді органи. З літературних джерел також відомо, що мідь є біофільним елементом, основна маса якого після надходження до ґрунту активно використовується рослинами для утворення вегетативної маси рослин (Борисюк та ін., 2010).

Таблиця 5.3

Вміст міді в органах конюшини лучної

Варіанти дослідів	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

До кореневої системи рослин мідь може надходити у вигляді катіону Cu^{2+} , який накопичується в коренях, хлоропластах і є малорухливим. В рослинах концентрація купруму знаходиться в межах 5 – 20 мкг/г сухої маси (Коць, Петерсен, 2005).

Отже, згідно з нашими дослідженнями, концентрація іонів міді зменшується у ряді: корені > листки > стебло.

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.

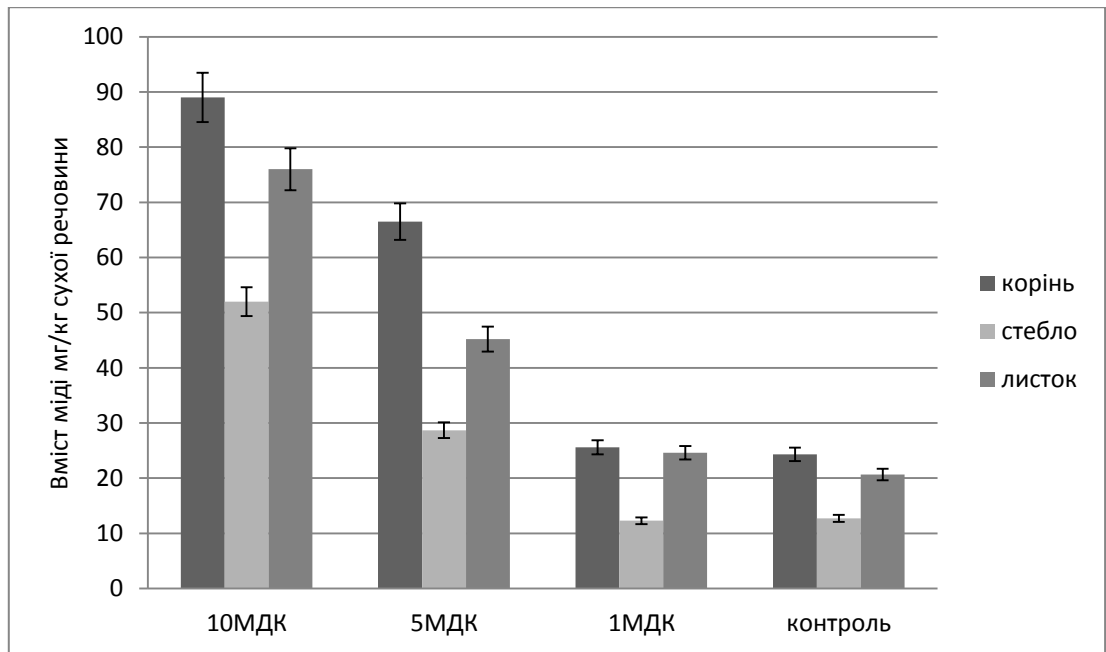


Рис. 5.6. Акумуляція міді в органах *Trifolium pratense* L.

Отримані нами дані щодо вмісту ВМ у рослинах конюшини лучної показують, що в коренях їх накопичується значно більше, ніж у пагонах (рис. 5.6.).

Проведені на сьогодні дослідження дозволяють зробити висновок про вірогідну взаємозалежність вмісту ВМ в надземних частинах рослини від вмісту рухомих форм ВМ в ґрунті. Також при досягненні границі токсичності змінюється характер накопичення ВМ.

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

Вперше гістохімічний метод було використано для вивчення поглинання свинцю і його розподілу у коренях проростків, що росли на середовищі з додаванням цього елемента (Серегин, 1997). Проведені нами дослідження з рослинами конюшини виявили дитизонати ВМ у малих кількостях у коренях, клітинних стінках ризодерми і в шарах паренхіми.

З літературних джерел відомо, що ризодерма виконує роль поглинаючої тканини, тому що має розвинену активною систему мембран-транспортних механізмів (Козловський та ін., 2005). Клітини ризодерми дають початок кореневим волоскам, які дозволяють кореню засвоювати більший об'єм ґрунту і збільшувати швидкість надходження іонів у тканини

кореня. Дитизонати концентрувались у клітинах зовнішніх шарів кореня біля клітинних стінок. 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 (рис. 5.7.а, б; 5.8).

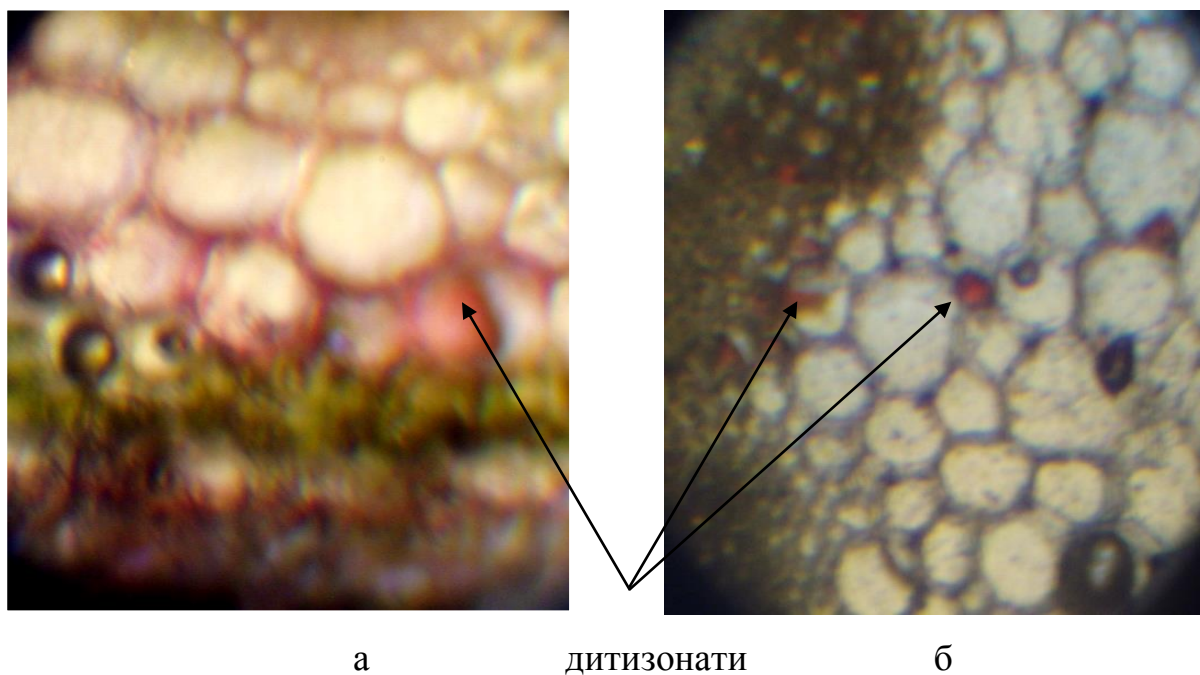


Рис. 5. 7. а, б. Локалізація іонів Zn^{2+} в коренях рослин *Trifolium pratense* L.

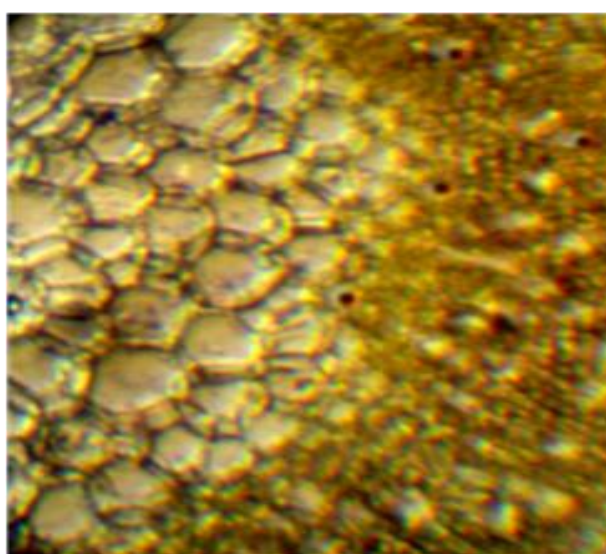


Рис. 5.8. Поперечний зріз кореня *Trifolium pratense* L. в контрольному варіанті

Розподіл важких металів у пагонах має свої особливості. Результати наших досліджень показали, що у пагонах, порівняно з коренем, цинк локалізувався в провідній тканині, в епідермісі. Накопичення металу було досить низьким (рис. 5.9. а, б). 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.

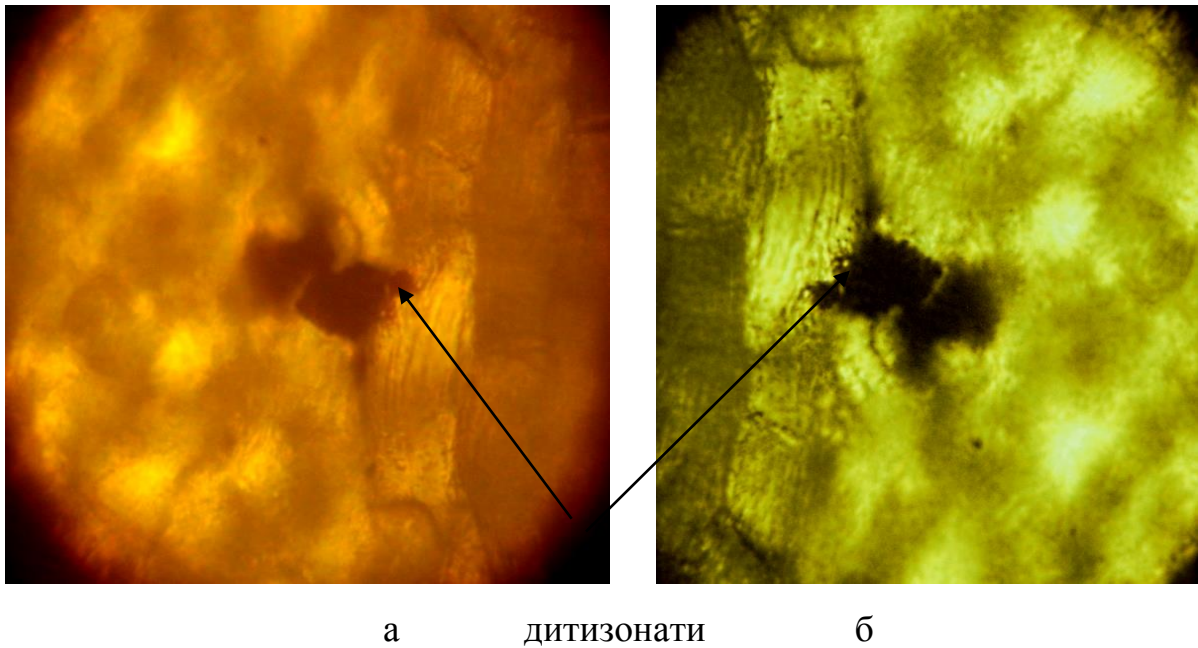


Рис 5.9. а, б. Локалізація іонів Zn^{2+} в пагонах рослин *Trifolium pratense* L.

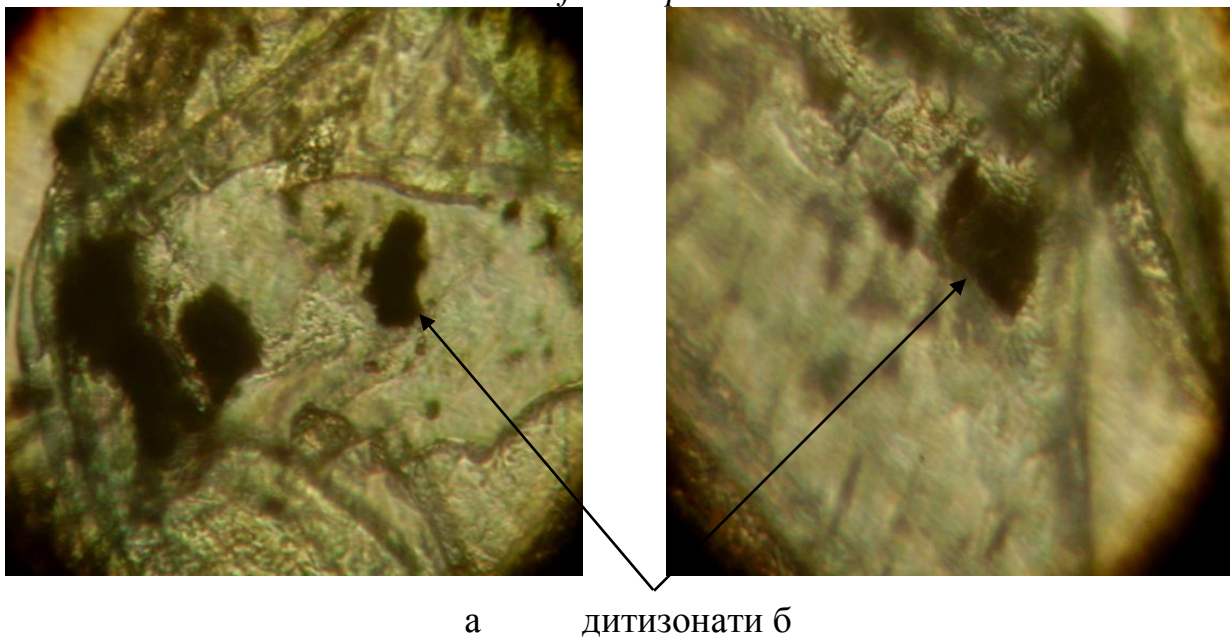
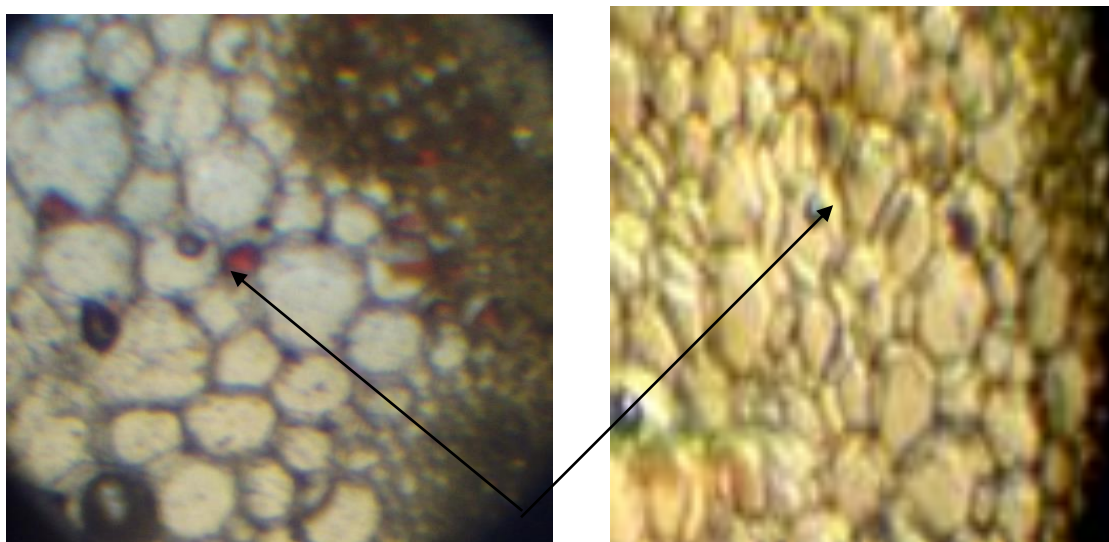


Рис.5.10. а, б. Локалізація іонів Zn^{2+} в листках рослин *Trifolium pratense* L.

Гістохімічні дослідження асиміляційного апарату показали, що цинк надходячи в листки, розподіляється в них нерівномірно. Поодинокі гранули дитизонатів було виявлено у провідних тканинах (ксилемі). Червоно-бурий колір виявляли в окремих клітинах листової пластинки, які втратили хлорофіл, або зазнали незначних морфо-фізіологічних змін (рис. 5.10. а, б).

Досліджуючи Cu^{2+} , вже через 5 хв. від початку експерименту виявили червоне забарвлення комплексу катіонів з дитизоном (дитизонати) в коренях конюшини лучної. У літературних джерелах зазначено, що максимальна кількість ВМ накопичується в коренях, бо на межі корінь-стебло існує фізіологічний бар'єр, який пропускає до надземних частин лише невелику кількість металу, що надійшов до кореня (Серегин, Иванов, 1997).



дитизонати

Рис. 5.11. а, б. Локалізація іонів Cu^{2+} в коренях *Trifolium pratense* L.

В усіх варіантах експерименту, нам вдалося відмітити локалізацію важких металів у стеблі. Незалежно від рівня забруднення металу, метал-дитизонатні комплекси ми спостерігали переважно в серцевинній паренхімі і ксилемі (рис. 5.12. а, б.). Практично усі зрізи стебла конюшини характеризувалися наявністю метал-дитизонатних комплексів. За даними літератури (Серегин 2001; Wyjcik, Tukiendorf, 1999) такі забарвлені комплекси зосереджуються головним чином на зовнішній поверхні клітинної

оболонки, вздовж внутрішньої поверхні клітинної оболонки та безпосередньо всередині клітинної оболонки, що підтвердили і результати наших досліджень.

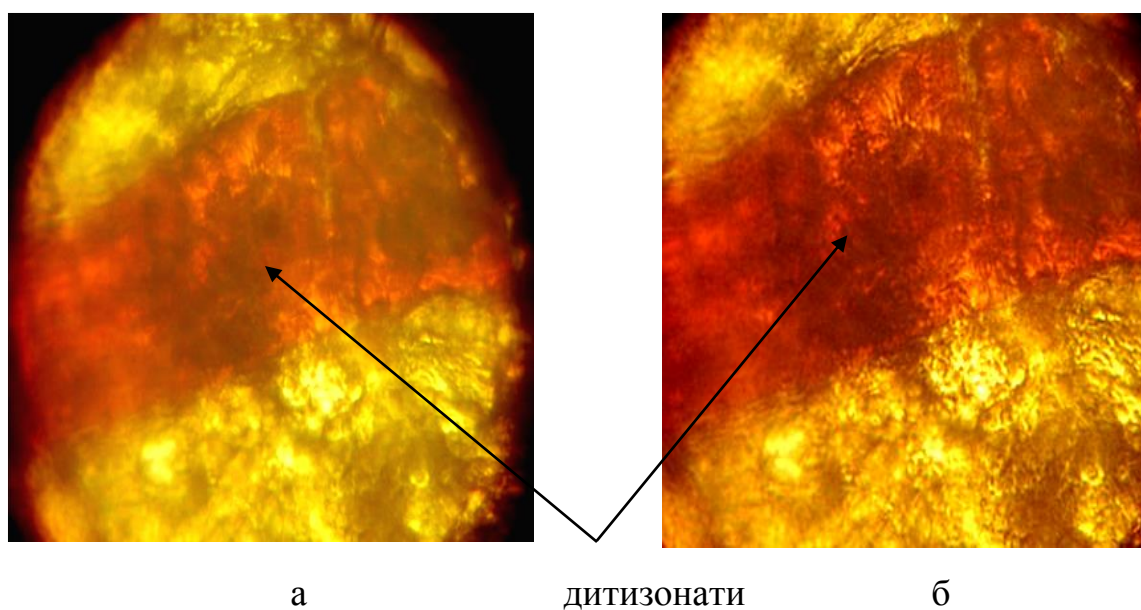


Рис. 5.12. а, б. Локалізація іонів Cu^{2+} в пагонах рослин *Trifolium pratense* L.

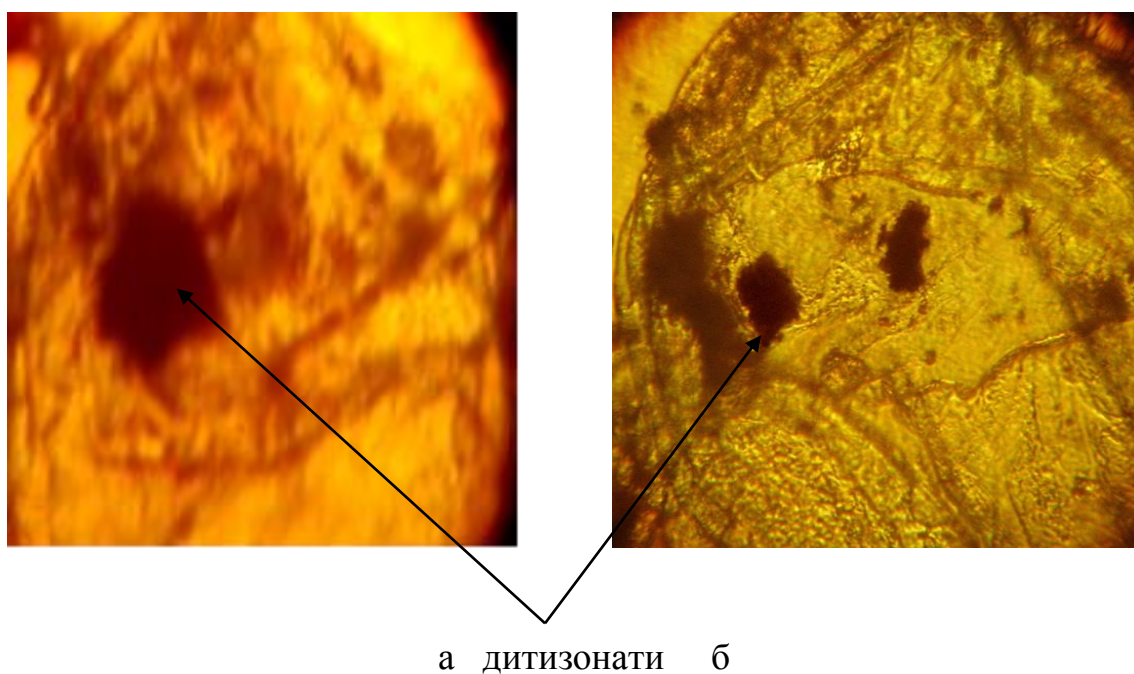


Рис. 5.13. а, б. Локалізація іонів Cu^{2+} в листках рослин *Trifolium pratense* L.

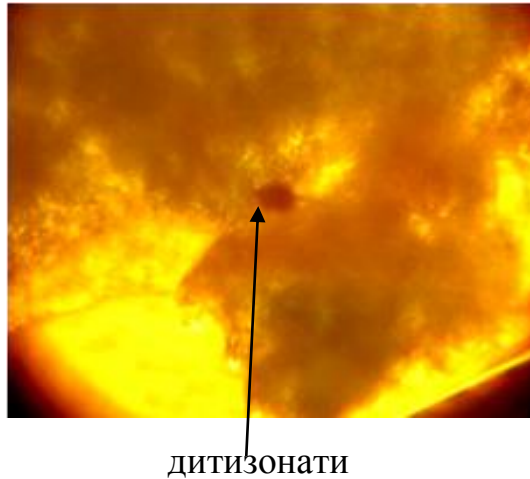


Рис 5.14. Локалізація іонів Cu^{2+} в листках рослин *Trifolium pratense* L.

Вибіркове поглинання Cu^{2+} відбувалося переважно листками. Червоні відклади дитизонатів було виявлено у паренхімі та покривній тканині (рис. 5.13-5.14)

Гістохімічна локалізація важких металів у тканинах надземних пагонів за допомогою дитизону дозволила виявити відмінності у рівнях їх акумуляції. Рівень нагромадження свідчить про здатність рослини транспортувати метал. Інтенсивність забарвлення свідчить про кількість іонів важких металів у відкладах. Найвища концентрація іонів важких металів спостерігалась у покривних тканинах як кореня, так і пагона. Розподіл та інтенсивність забарвлення залежали від місця концентрації металу в поживному середовищі.

Таким чином використання дитизону для визначення вмісту та розподілу іонів цинку та міді в тканинах *Trifolium pratense* L. забезпечує швидкий та ефективний спосіб аналізу вмісту поллютантів у живих організмах. Гістохімічний метод локалізації іонів важких металів можна використовувати для попередньої оцінки нагромадження важких металів у рослині, а їх кількісний вміст визначати методом атомно-абсорбційного аналізу.

5.5. Шляхи запобігання прояву токсичної дії ВМ на рослини

Trifolium pratense L.

Як відомо погіршення якості продукції супроводжується не тільки акумуляцією в ній токсичних сполук, а й порушенням співвідношення між поживними компонентами: нагромадження нітритів, нітратів, та інших отруйних для організму форм азоту (Зось-Кіор, 2015).

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 полютанти значно менше, ніж на легких. Поглинання рослинами ВМ мінімальне при рН близько 6,5, при закисненні, або залуженні ґрунтів, поглинання токсичних речовин збільшується.

Ґрунтові умови, також накладають свій відбиток на характер накопичення ВМ. Встановлено, що при внесенні в ґрунт кальцію важкі метали (мідь та цинк) переходять у малорухомий стан. На важких ґрунтах рослини поглинають полютанти значно менше, ніж на легких. Поглинання рослинами ВМ мінімальне при рН 6,5, при закисненні, або залуженні ґрунтів, поглинання токсичних речовин збільшується. Ґрунти, що мають значний вміст гумусу сильніше зв'язують ВМ, що робить їх менш доступними для рослин. Адсорбуюча здатність ґрунтів також зростає зі збільшенням вмісту в них глинистої фракції та органічних речовин. І навпаки, при недостатній аерації ґрунтів, збіднення їх на органічні речовини, зростає степінь поглинання рослинами ВМ.

Відомо, що величина активності багатьох іонів у рослинах або ґрунті, насамперед, залежить не від дози або концентрації внесеного іону, а від особливостей взаємодії іонів у багатокомпонентних сумішах (Rengel, 1999).

Встановлено, що позакореневе застосування кальциніту фірми Яра (нітрат кальцію), магнію у формі сірчаної солі та складним добрив із вмістом амінокислот та пептидів на прикладі Ізобіону є перспективним шляхом зниження фітотоксичності важких металів до рослин *Trifolium pratense* L.

Таблиця 5.4

Вплив кальцію, магнію та амінокислот на фітотоксичність важких металів до *Trifolium pratense* L.

Варіант	Ушкодження листків <i>Trifolium pratense</i> L., %
Контроль	0
ZnSO₄ • 7H₂O, 10МДК	58
+ кальциніт, 0,1 мМ	22
+ сульфат магнію, 0,1 мМ	29
+ ізобіон, 0,01%	45
CuSO₄ • 5H₂O, 10МДК	77
+ кальциніт, 0,1 мМ	51
+ сульфат магнію, 0,1 мМ	57
+ ізобіон, 0,01%	59
НІР 0,5	7

Підбираючи рослини, придатні для використання при фіторе mediaції забруднених ділянок, треба враховувати два фактори: толерантність різних видів та сортів до надмасивних концентрацій ВМ, та коефіцієнти нагромадження ними ВМ в різних частинах. Всім цим вимогам відповідає наш модельний об'єкт – конюшина лучна.

Основні шляхи запобігання прояву токсичності ВМ:

- 1) Підвищення вмісту у ґрунті гумусу.
- 2) Збільшення вмісту кальцію та магнію знижує доступність ВМ (мідь, цинк) для рослин.

3) Внесення лужних добрив (доломитове борошно, вапно гашене фосфоритне борошно) або фізіологічно лужні добрива (натрієва та кальцієва селітри) знижують фітотоксичну дію ВМ.

Висновки по розділу:

1) 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.

2) 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 даного полютанта в коренях зростає в 2-3, в надземній частині в 1,5-2 рази. За дії солей міді 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. Значно менше іонів у стеблах рослин конюшини $K_{bp} < 1$. Листки конюшини накопичували мідь у межах 0,89–1,29.

3) Використання дитизону для визначення вмісту та розподілу іонів цинку та міді в тканинах *Trifolium pratense* L. забезпечує швидкий та ефективний спосіб аналізу вмісту полютантів 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.

4) 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.

Основні публікації дисертанта за матеріалами розділу:

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.

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.

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.

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».

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».

Денчиля-Сакаль, Г. М. (2016). Міграція та накопичення важких металів у ґрунті і рослинах *Trifolium pratense* L. *Сучасні аспекти збереження здоров'я людини: Збірник праць ІХ міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції*. (С. 388). Ужгород.

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.

Денчиля-Сакаль, А. М., Вакерич, М. М. (2010). Локализация ионов кадмия в тканях *Trifolium pratense* L. *Биология – наука XXI века: Тезы докладов 14-Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых*. Том 2. (С.25–26). Пущино.

Перелік посилань:

Алексеева-Попова Н. В. (1991). Клеточно-молекулярные механизмы металлоустойчивости растений. *Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов*, 5–15.

Алексеев, Ю. В. (1987). *Тяжелые металлы в почве и растениях*. Ленинград: Наука.

Борисюк, Б. В., Залевський, Р. А., Мількевич, В. М. (2010). Закономірність перерозподілу міді в орному шарі сірого лісового ґрунту. *Агроекологічний журнал: науково-теоретичний журнал*, 1, 30–38.

Гуральчук, Ж. З. (1994). Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам. *Физиология и биохимия культурных растений*, 26(2), 107–117.

Зось-Кіор, М. В. (2015). *Удосконалення системи управління земельними ресурсами аграрних підприємств в умовах глобалізації*. Полтава: ПолтНТУ.

Ильин, В. Б. (2006). К оценке массопотока тяжелых металлов в системе почва-сельскохозяйственная культура. *Агрехимия*, 3, 52–65.

Ильин, В. Б. (1991). *Тяжелые металлы в системе почва - растение*. Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние.

Кабата-Пендиас, А., Пендиас Х. (1989). *Микроэлементы в почвах и растениях*. Москва: Мир.

Козловський, В. І., Романюк, Н. Д., Терек, О. І., Чонка, І. І., Колесник, О. Б., Болаші Ш., Бойко Н. В. (2005). Важкі метали у ґрунтах та рослинах заплави ріки Тиса. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 40, 35–50.

Комарова, Ірина. (2019). Еколого–біологічні особливості *Taraxacum officinale* Wigg за дії забруднення важкими металами в умовах промислового Криворіжжя. Автореф. дис. канд. біол. наук, Дніпровський національний університет ім. Олеся Гончара.

Коць, С. Я., Петерсен, Н. В. (2005). *Мінеральні елементи і добрива в живленні рослин*. Київ: Логос.

Колупаев, Ю. Е., Карпец, Ю. В. (2010). *Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров*. Киев.

Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельскохозяйственных угодий и продукции растениеводства. (1992). Москва: ЦИНАО.

Перельман, А. И., Касимов, Г. Н (1999). *Геохимия ландшафтов*. Москва: Астрейя.

Рошко, В. Г., Грабовський, О. В. (1999). Оцінка забруднення важкими металами агроценозів, межуючих з автомагістралями. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 6, 259–262.

Ніколайчук, В. І., Рошко, В. Г., Грабовський, О. В. (2001). Важкі метали та їх вплив на екологічну ситуацію в Закарпатській області. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*, 9, 30–32.

Ніколайчук, В. І., (2004). *Екологічний стан Закарпаття. Проблеми і перспективи*. Ужгород: П.П. «Медіум».

Серегин, И. В., Иванов, В. Б. (2001). Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения. *Физиология растений*, 48(4), 606–630.

Серегин, И. В., Иванов, В. Б. (1997). Гистохимические методы изучения распределения Cd и Pb в растениях. *Физиология растений*, 44(6), 915–921.

Серегин, И. В., Иванов, В. Б. (1997). Является ли барьерная функция эндодермы единственной причиной устойчивости ветвления корней к солям тяжелых металлов. *Физиология растений*, 44, 922–925.

Серегин, Илья. 2009. «Распределение тяжелых металлов в растениях и их действие на рост». Дис. докт. биол. наук, Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева.

Серегин, И. В., Кожевникова, А. Д. (2006). Физиологическая роль никеля и его токсическое действие на высшие растения. *Физиология растений*, 53(2), 285–308.

Симканич, О. І., Сухарев, С. М. (2013). Розподіл важких металів по профілю ґрунтів Національного природного парку «Зачарований край». *Екологічна безпека та збалансоване ресурсокористування*, 1(7). 53–59.

Усманов, Т. Ю., Рахманкулова, З. Ф., Кулагин, А. Ю. (2001). *Экологическая физиология растений*. Москва: Логос.

Фатеев, А. І., Мірошніченко, М. М., Самохвалова, В. Л., Биндич, Т. Ю. (1999). До питання оцінки рівнів небезпеки забруднення ґрунтів важкими металами. *Вісник аграрної науки*, 10, 39–62.

Kabata-Pendias, A. (2011). *Trace elements in Soil and Plants*. CRC Press, Boca Raton.

Kabata-Pendias, A., & Pendias, H. (2001). *Trace elements in Soil and Plants*. CRC Press, Boca Raton.

Kabata-Pendias, A., & Pendias, H. (1992). *Trace elements in Soil and Plants*. CRC Press, Boca Raton.

Rengel, Z. (1996). Tansley Review, 89: Uptake of aluminium by plant cells. *New Phytologist*, 134, 389–406.

Wyjciek M., & Tukiendorf A. (1999). Cd-tolerance of maize, rye and wheat seedlings. *Acta Physiology Plant*, 21(2), 99–107.

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 5МДК -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 Кбп<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 полютантів 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 листкової 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.

Додаток 1

Список публікацій здобувача, в яких опубліковані основні наукові результати 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: 10.15421/2017_247 (**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 тканинах *Trifolium pratense* L. *Биология – наука XXI века: Тезы докладов 14-Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых*. Том 2, (С.25–26). Пущино. (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 конюїни 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 фіто активності 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 ґрунті 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).