

## Лабораторна робота № 6

### Біотестування фітотоксичності ґрунту за проростанням насіння крес-салату

#### **Основні поняття**

**Фітотоксичність** - здатність деяких груп хімічних сполук і продуктів метаболізму мікроорганізмів здійснювати негативний вплив на рослинні організми, що проявляється у порушенні багатьох фізіологічних процесів.

Нерациональне і науково необґрунтоване застосування різних агротехнологій призводить до зміни екологічного стану ґрунтового середовища, що веде до перебудови мікробного ценозу і викликає розмноження токсинсинтезуючих мікроорганізмів, накопичення токсичних продуктів фенольного ряду, які утворюються в процесі розкладу рослинних решток і накопичення фітотоксичних форм мікроорганізмів.

Фітотоксичні форми є в усіх основних груп ґрунтових мікроорганізмів, але найбільша їх кількість виявлена серед мікроскопічних грибів (*Penicillinase*, *Aspergillus*, *Fusarium*) та бактерій родини *Pseudomonas*, *Bacillus*.

Крім фітотоксинів мікроорганізмів та продуктів розкладу залишків сільськогосподарських культур існують також прижиттєві виділення надземних органів рослин та їх кореневі виділення. Наприклад, при беззмінному вирощуванні конюшини, люцерни, льону метаболізм їх кореневих систем призводить до значної «ґрунтовтоми» та появи фітотоксичності ґрунту.

Хімічна природа фітотоксичних речовин (колінів), що обумовлюють токсичні властивості ґрунту, дуже різноманітна. Це похідні фенолів, хіонів і нафтазину, поліпептиди й інші сполуки.

Крім того, фітотоксичність ґрунту може обумовлюватись внесенням пестицидів, осіданням важких металів, випаданням кислотних опадів тощо.

Розглядаючи фітотоксичність, або «ґрунтовому» з екологічної точки зору, можна охарактеризувати це явище як кризу і дисгармонію в відношеннях рослин і ґрунтового покриву.

Впровадження біотестування дозволяє істотно скоротити обсяг регулярно виконуваних детальних хімічних аналізів. На відміну від

фізичних та хімічних підходів до оцінки забруднення ґрунту, біологічне тестування має прогностичне значення. За станом організмів, їх здатності до розвитку можна прогнозувати зміни, які очікують біоту при даному рівні забруднення середовища проживання (проростання).

Вибір тест-організмів визначається їх поширеністю, простотою утримання й культивування в лабораторії, низькою вартістю, легкістю спостережень за дією забруднювачів на організм і наявністю простих методик таких спостережень. Одночасно, при оцінці субстратів із низьким вмістом токсикантів тест-об'єкт (тест-організм) повинен бути досить чутливим до присутності в середовищі чужорідної хімічної речовини. Крім цього, необхідно визначити правила обробки даних і інтерпретації отриманих результатів.

Крес-салат (*Lepidium sativum*) – однорічна овочева рослина род. Капустяні (*Brassicaceae*), використовується як рання зелень), швидко ростуча, відрізняється гарним сходженням, а також дуже чутлива до забруднення ґрунтів колінами та важкими металами, а також атмосферного повітря газоподібними викидами автотранспорту.

### ***Методика виконання досліджень***

1. Попередньо перевіряють насіння на сходження (відсоток пророслого насіння від числа посіяних): норма 90-95% пророслого насіння за температури 20-25 °C за 3-4 доби. Для цього розміщують насіння на вкритий фільтрувальним папером просіяний та вологий стерильний річний пісок шаром 0,4-0,6 см. Вологість досліджуваного зразка ґрунту з піском перед посівом насіння повинна бути в межах 70-80% від повної вологості.

2. Дослідний субстрат розміщують у чашках Петрі (проби ґрунту, які були відіbrane з досліджуваної території) розкладають по 100 насінин на приблизно одинаковій відстані одна від одної, присипають тим же субстратом та зволожують (до 70-80% від повної вологості). Повторність для кожного варіанту досліду та контролю – не менше трьох чашок.

3. В якості контролю використовують стерильний річний пісок. У всіх досліджуваних зразках вага ґрунту в чашках Петрі, а

також шар нанесеного піску, повинні бути однаковими.

4. Дослід повинен тривати 4-10 діб при підтриманні вологості субстратів та температури приміщення (20-25 °C) на одному рівні.

5. Кожної доби фіксують дані по кількості пророслого насіння (табл. 6.1).

Таблиця 6.1

Результати біотестових досліджень з пророщування насіння кресс-салату

Субстрат	Кількість пророслого насіння, %				Схожість, %
	1 доба	2 доба	....	10 доба	
Контроль					
Варіант 1					
Варіант 2					

6. При розрахунках фітотоксичності ґрунту, схожість в контролі приймається за 100%. Наприклад, у контролі зійшли 85 насінин зі 100. А в певному варіанті схожість за середньою величиною повторностей становила 21 насінину.

7. Тоді:  $85 = 100\% ; 21 = X ; X = 25\%$ .

Отже, фітотоксичність ґрунту, або відсоток інгібування схожості обчислюється як:  $100 - 25 = 75\%$ .

8. Необхідно мати на увазі, що на родючому ґрунті (гумусовому, добре аерованому) схожість та якість паростків завжди краще, ніж на важкому, глинистому. Тому субстрат краще стандартизувати (якщо ґрунти різні) та використовувати водні витяжки.

9. Дані за повторюваністю кожного варіанту обробляють математично та визначають достовірність різниці між дослідом та контролем за критерієм Стьюдента ( $p \leq 0,05$ ).

10. Рівні забруднення субстрату оцінюють за шкалою:

- забруднення відсутнє – схожість 90-100%, паростки однорідні, щільні, міцні, рівні;

- забруднення слабке – схожість 60-90%, паростки майже однакової довжини, міцні, рівні;

- забруднення середнє – схожість 20-60%, паростки тонкі та короткі порівняно з контролем, деякі можуть мати морфологічні

порушення;

- забруднення значне – схожість дуже низька (до 20%) паростки дрібні та морфологічно спотворені.

*Обладнання, реактиви, матеріали:* проби ґрунту, стерильний річковий пісок, насіння крес-салату, чашки Петрі.