

БИОТЕСТИРАНЕ НА ЗАМЪРСЕНИ ВОДИ ОТ ВОДОСБОРА НА РЕКА ТОПОЛНИЦА

*Славей Петрова, Богдан Николов, Весела Янчева, Илиана Велчева
ПУ „Паусий Хилендарски“, Биологически факултет, Катедра
„Екология и ООС“*

АБСТРАКТ

Растенията абсорбират токсичните и нетоксичните елементи от почвата и водата и ги акумулират в своите тъкани, където те въздействат директно и индиректно върху растежа и метаболизма. Проведен е биотест за установяване влиянието на някои тежки метали, съдържащи се във води от поречието на р. Тополница, върху кълняемостта и нарастването на подбрани видове растения. Установено е негативно влияние върху посочените физиологични процеси.

Ключови думи: биотест, растения, замърсяване, тежки метали, р. Тополница

ВЪВЕДЕНИЕ

Влошеното състояние на околната среда е причина за пораждането на стрес, който влияе негативно върху всички живи организми.

Поречието на река Тополница, включително и язовир Тополница, се характеризират с концентриране на множество промишлени предприятия и производства, свързани с добива и преработката главно на медни руди. Отделяните от технологичните процеси отпадни води преминават през етап на пречистване в локалните пречиствателни съоръжения, след което се заустват в р. Тополница или нейни притоци, като по този начин достигат и до едноименния язовир.

Според Димов и Христов (1998) постоянни компоненти на водите от р. Тополница са елементите Fe, Mn, Ni, Cu, Ba, Mo, Al, често се установяват Zn, Cd, Pb, Co, Ti, Sr, а по-рядко Ga, V, Ag, P, As. Почти всички изброени тежки метали се съдържат в концентрации над фоновете. Водите на р. Тополница (рН ср.= 6,7) показват съдържание на сулфидни йони в концентрации около 380

mg/l при ПДК=300 mg/l; на медни йони - повече от 26,5 пъти над ПДК; на манганови йони – 3,5 пъти над ПДК. За р. Медетска (приток на р. Тополница) е характерно рН ср. = 4,5, а общата минерализация показва тенденция към влошаване, като концентрациите на мед и манган са над ПДК.

Регулярно провежданият физико-химичен мониторинг на повърхностните води в района не е достатъчно представителен за оценка на риска за съществуващите екосистеми, тъй като не взема предвид биологичната достъпност и токсичността на замърсителите. Това поражда необходимостта от извършване на биотестове за оценка състоянието на водите.

Растителните биотестове са широко използвани в подобни проучвания, като най-често се проследяват кълняемостта на семената и параметрите на нарастване (Ernst *et al.*, 1992; Vangronsveld & Clijsters, 1992; Clijsters *et al.*, 1999; Vassilev *et al.*, 2007).

Покълването на семената е критична фаза от жизнения цикъл при повечето растителни видове, особено при културните такива. Неблагоприятните условия на средата оказват силно въздействие върху процесите на покълване и поникване.

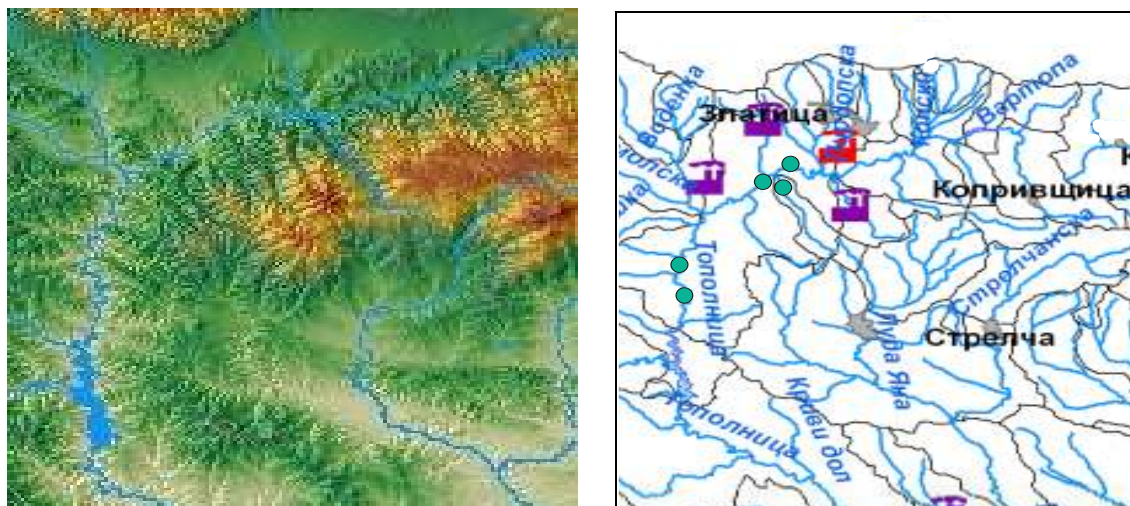
Корените на растенията първи влизат в контакт със съдържащите се в средата замърсители, следователно, анализирайки протичащите в корените процеси бихме могли да определим съответния отговор на растението към тях (Baker & Walker, 1989). Чувствителността при корена е свързана с факта, че се повлиява директно клетъчното делене и удължаване. При надземната част подтискането на нарастването е следствие от това на корена, тъй като се ограничава поемането на вода и минерални вещества, а също и поради директното въздействие на металите върху клетъчния метаболизъм.

Основната цел на настоящото проучване е чрез поредица от биотестове да се оцени физиологичния отговор на различни културни видове растения към замърсени с тежки метали води от водосбора на река Тополница.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

По поречието на р. Тополница бяха избрани 5 пункта за вземане на водни проби (Фиг. 1): Пункт 1 - р. Тополница, след гр. Копривщица и преди гр. Златица; Пункт 2 - р. Медетска, преди вливането ѝ в р. Тополница; Пункт 3 - р. Тополница, след вливане на р. Медетска; Пункт 4 и Пункт 5 - р. Тополница, съответно край с. Чавдар и с. Поибрене.

Пробонабирането бе извършено в периода 04-05.07.2011 год. От всеки пункт бяха взети по 2 литра вода, поставени в стерилни стъклени банки и етикирани. Паралелно с вземането на водните проби бяха отчитани показателите температура, рН (БДС 17.1.4.27) и електропроводимост (БДС EN 27888).



Фигура 1. Карта на поречието на р. Тополница и местоположение на избраните пунктове.

Анализът на водните проби за съдържание на Pb и негови съединения (БДС EN ISO 17294-2), Ni и негови съединения (БДС EN ISO 17294-2), Cu (БДС EN ISO 17294-2) и As (БДС EN ISO 17294-2) бе направен в Централна лаборатория-София към ИАОС. Бiotестирането бе извършено в Лабораторията по Екология към Биологическия факултет на ПУ „Паисий Хилендарски“. За целта бяха използвани семена от два стандартни тест-обекта, *Sinapis alba* (Бял синап) и *Pisum sativa* (Грах), както и от няколко други селскостопански култури, които се отглеждат в изследвания район - *Zea mais* (Царевица), *Helianthus annuus* (Слънчоглед), *Triticum aestivum* (Пшеница).

Тестът със семена от синап бе извършен по следната схема:

В петриево блюдо с диаметър 14 cm беше поставена филтърна хартия, върху която бяха поставени по 50 броя семена. В съответното петриево блюдо бяха добавени 20 ml от тестираната вода. След това те бяха затворени и поставени в луминистат при стайна температура. Периодично беше доливана вода и след престой 7 дни бяха отчетени резултатите, като преди отчитането растителният материал бе фиксиран с 60% етанол (Гечева и Юркова, 2010).

Тестът със семена от селскостопански култури бе извършен по следната схема:

В съдове с перлит бяха засети съответно по 25 броя семена от царевица, слънчоглед, пшеница и грах, на дълбочина 2 cm. Към всеки от тях бяха добавени съответно по 100 ml от тестираната вода. Съдовете бяха поставени в луминистат при стайна температура. Периодично беше доливана вода и след престой 7 дни бяха отчетени резултатите, като преди отчитането растителният материал бе фиксиран с 60% етанол (Велчева и кол., 2008, с изменения).

За всеки тестови вариант бяха извършени по две повторения.

След отчитане на резултатите бяха изчислени следните параметри:

- Кълняемост = (брой покълнали семена / общ брой семена) × 100, %
- Средна дължина на хипокотил, cm

- Средна дължина на корен, cm
- Съотношение дължина хипокотил /дължина корен.

Резултатите бяха обработени статистически чрез корелационен анализ на STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., 2004).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Водни проби

Съдържанието на изследваните тежки метали и физико-химичните параметри на водните проби са представени в Таблица 1.

Таблица 1. Физико-химични показатели на изследваните водни проби.

Водна проба	t° C	pH	Електропроводимост, $\mu\text{S/cm}$	Pb, mg/dm^3	Ni, mg/dm^3	Cu, mg/dm^3	As, mg/dm^3
1	20,3	7,33	163	< 0,005	<0,004	< 0,001	<0,0005
2	20,1	4,36	2020	0,005	0,140	39,4	0,001
3	18,6	6,87	230	< 0,005	0,005	0,167	0,001
4	19,6	8,02	342	0,0005	0,0002	0,027	0,004
5	20,7	8,6	452	< 0,005	<0,004	0,012	0,008

Резултатите от анализа сочат, че най-влошени са показателите на водата от Пункт 2 (р. Медетска), където рН достига до кисело. Отчетената висока електропроводимост (2020 $\mu\text{S/cm}$) е в синхрон с установеното високо съдържание на тежко-метални йони в тази проба. Това замърсяване значително намалява след Пункт 3 (вливане на р. Медетска в р. Тополница) поради ефекта на разреждане. В по-надолу разположения Пункт 4 се установява отново повишаване, както в стойностите на рН, така и в електропроводимостта и съдържанието на арсен и мед. В Пункт 5 (с.Поибрене) бе отчетено силно алкално рН, висока електропроводимост, корелираща с високо съдържание на мед и арсен (най-висока концентрация на арсен от всички проби). Местоположението на пункта дава основание на считаме, че вероятно в тези води присъства и силно органично замърсяване, резултат от установеното нерегламентирано заустване на битови отпадни води.

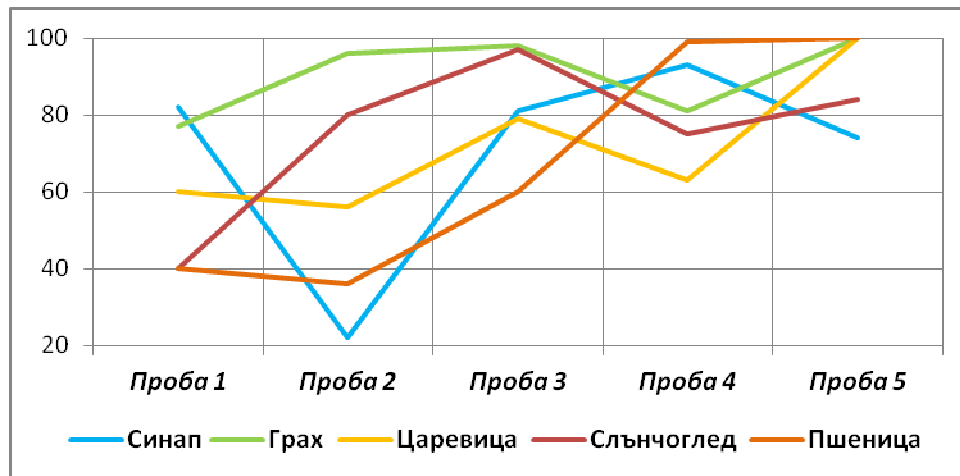
Биотестиране

При използваните в биотестовите растителни видове бяха отчетени различия както в степента на инхибиране на кълняемостта, така и в растежа на хипокотила и корена.

Резултатите от биотеста със синап показаха най-ниски стойности за кълняемостта на семената във вода от Пункт 2 (22%), следвани от тази от Пункт 5 (74%). При пшеницата, подобно на синапа, най-ниска кълняемост имаше във водната проба от Пункт 2 (36%). При всички тестове със семена от грах не бе установено негативно повлияване върху кълняемостта (>77%). Същата тенденция бе наблюдавана при тестирането на семена от царевица (> 56%) и слънчоглед (> 40%), с изключение на резултатите за водна проба 2.

Понижаване на кълняемостта и на други опитни семена от културни растения при третирането им с води, замърсени с никел, олово, мед, се посочва

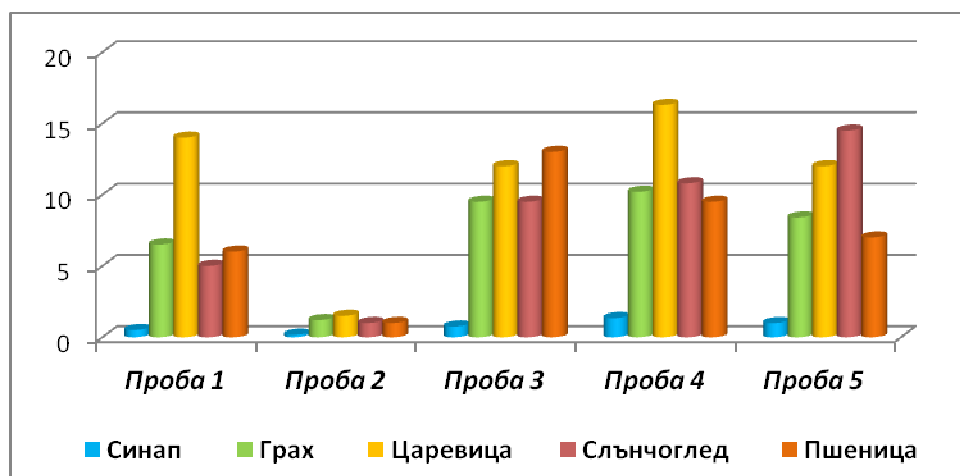
и в работите на Wierzbicka & Obidzinska (1998), Uruç & Yilmaz (2008) и Pandey (2008).



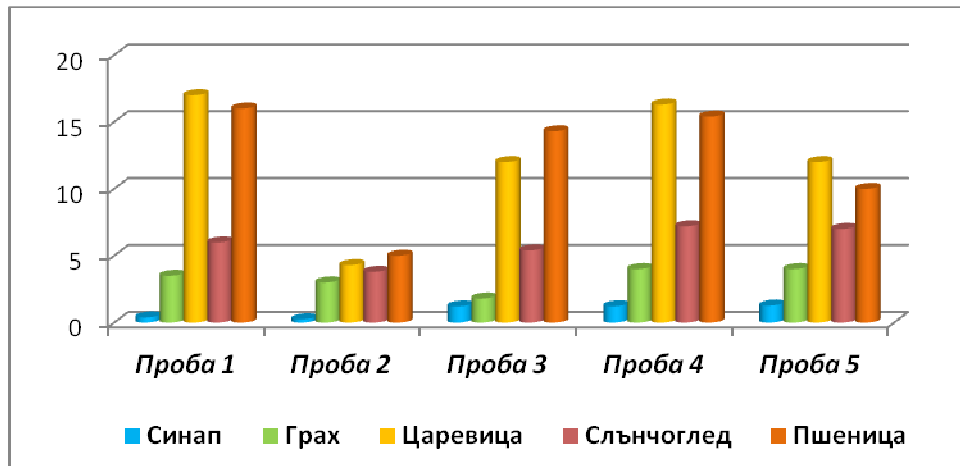
Фигура 2. Кълняемост на семената от изследваните видове, %.

При проведените биотестове най-силен инхибиращ ефект върху нарастването на подземната (Фиг. 3) и надземната (Фиг. 4) част при всички използвани растителни видове бе отчетен при водна проба 2, с изключение надземната част на синап при водна проба 3.

Aydinalp & Marinova (2009) изследват въздействието на поредица от разтвори с нарастващи концентрации на тежки метали (кадмий, хром, мед и никел) върху семена от люцерна. Получените от тях резултати, подобно на нашите показват, че присъствието на ниски дози от тези елементи стимулира нарастването на корена и хипокотила, но в големи количества те инхибират покълването на семената и растежа, като по-силно повлияни са корените. Сходни резултати са посочени от Stoeva *et al.* (2003) и от Vasilev *et al.* (2007).

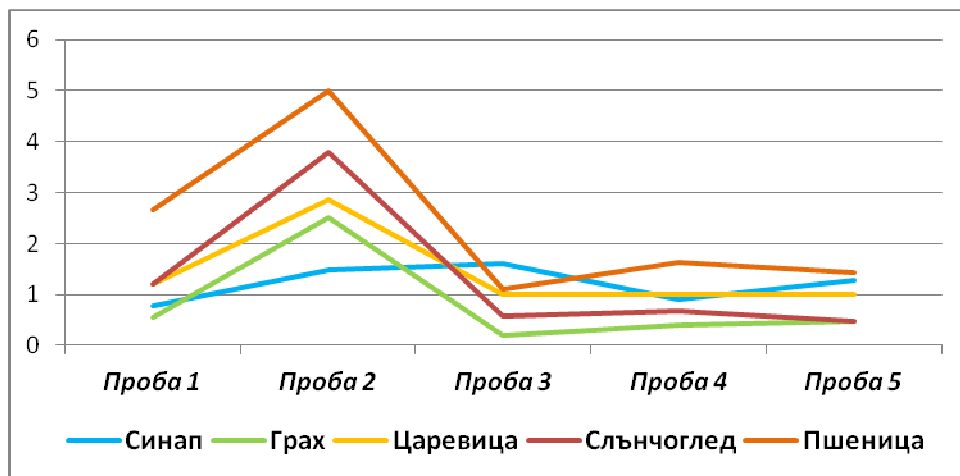


Фигура 3. Дължина на корена на третираните растения, cm.



Фигура 4. Дължина на надземната част на третираните растения, см.

Освен подтискане на нарастването като цяло, при всички опитни семена в проба 2 бе констатирано и най-значително редуциране дължината на корена в сравнение с тази на хипокотила: съотношението между тях превишаваше от 2 до 10 пъти установеното при останалите водни проби (Фиг. 5). Това показва, че е налице проява на токсично действие на съдържащите се във водите замърсители.



Фигура 5. Съотношение между надземната и подземната част.

Като цяло, резултатите от проведените биотестове сочат, че от използваните растителни видове най-слабо негативно въздействие на изследваните води върху всички проучвани параметри бе отчетено при семената от грах. При останалите опитни растения, подтискане на кълняемостта на семената бе установено при третирането им с вода от най-силно замърсения Пункт 2. Процесът на нарастване на корена при всички изследвани растителни видове показва по-висока чувствителност в сравнение с този при надземната част, което доказва посоченото и от други автори (Stoeva *et al.*, 2003; Vassilev *et al.*, 2007; Audinalp & Marinova, 2009) влияние на тежките метали предимно

върху протичащите в него клетъчни и физиологични процеси. Нашите резултати сочат тенденция за повишаване съотношението между дължината на надземната и тази на подземната част с влошаване качеството на водата (Пункт 2). Математическата обработка на данните от биотестирането потвърди това и показва, че е налице висока ($p < 0,05$) корелация между изследваните параметри на водата и измерваните показатели при растенията.

Представените данни са първични и на този етап не са достатъчни за извеждане на категорични твърдения относно степента на влияние само на посочените тежки метали. Вероятно, значение за изследваните процеси имат и други компоненти и токсиканти, съдържащи се във водата. Това налага необходимост от по-детайлно проучване в тази посока.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проникването на отпадни води от минната дейност и металодобивната промишленост в почвите в дадения район (чрез просмукване, напояване и др.) оказва въздействие върху свойствата на почвата, растежа и развитието на растителността. Като резултат е възможно да се редуцира количеството на произведената биомаса, без при това да се наблюдават видими симптоми за метална токсичност (хлорози, некрози, изсъхване и др.). Следователно, използването на водите от поречието на р. Тополница крие риск за отглежданите селскостопански култури в района. Бъдещи научни разработки ще са необходими за по-детайлно изследване, както на механизмите на биоаккумуляция и биомагнификация, така и на възможностите за биоремедиация на почвите.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторите изказват благодарност на Национална система за мониторинг на околната среда към МОСВ за предоставените данни. Настоящото проучване е осъществено с финансовата подкрепа на ПУ „Паисий Хилендарски“, договор БФ 006.

ЛИТЕРАТУРА

Велчева И., А. Цеков, А. Ириков, Б. Темелков, Г. Гечева, И. Моллов, Д. Георгиев. 2008. Ръководство за лабораторни и теренни упражнения по екология. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 8-14.

Гечева Г., Л. Юркова. 2010. Ръководство по екологичен мониторинг. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 72-73.

Димов С., С. Христов. 1998. Анализ на екологичното състояние и възможностите за устойчиво развитие в районите с минна промишленост. Минно дело и геология, бр. 1, стр. 28-32.

Aydinalp S., S. Marinova. 2009. The effect of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 15(4): 347-350.

Baker A., P. Walker. 1989. Physiological response of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity. *Chemistry of Species Bioavailability*, 1: 7-17.

Clijsters H., A. Cuypers, J. Vangronsveld. 1999. Physiological responses to heavy metals in higher plants: Defense against oxidative stress. *Zeitschrift für Naturforschung*, 54c: 730-734.

Ernst W.H.O., J.A.C. Verkleij, H. Schat. 1992. Metal tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica*, 41(3): 229-248.

Fargasova A. 1994. Effect of Pb, Cd, Hg, As and Cr on germination and root growth of *Sinapis alba* seeds. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 52: 452-456.

Pandey S. 2008. Germination and seedling growth on field pea *Pisum sativum* Malviya Matar-15 (HUDP-15) and Pusa Prabhat (DDR-23) under varying level of copper and chromium. *The Journal of American Science*, 4(1): 33-47.

STATSOFT INC. 2004. STATISTICA (Data analysis software system), Vers. 7. Computer software. [<http://www.statsoft.com>].

Stoeva N., M. Berova, Z. Zlatev. 2003/4. Physiological response of maize to arsenic contamination. *Biologia Plantarum*, 47(3): 449-452.

Uruç K., D. Yilmaz. 2008. Effect of cadmium, lead and nickel on imbibition, water uptake and germination for the seeds of different plants. *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1: 1-10.

Vangronsveld J., H. Clijsters. 1992. A biological test system for the evaluation of metal phytotoxicity and immobilization by additives in metal contaminated soils. In: Merian E., Haedi W. (Eds.) – *Metal compounds in environment and life. Special Supplement to Chemical Speciation and Bioavailability*. Wilmington, Science Reviews Inc., pp. 117-125.

Vassilev A., L. Koleva, M. Berova, N. Stoeva. 2007. Development of a plant test system for evaluation of the toxicity of metal contaminated soils. I. Sensitivity of plant species to heavy metal stress. *Journal of Central European Agriculture*, 8(2): 135-140.

Wierzbicka M., J. Obidzinska. 1998. The effect of lead on seed inhibition and germination in different plant species. *Plant Science*, 137: 155-171.

BIOTESTING OF CONTAMINATED WATERS FROM TOPOLNITZA RIVER BASIN

Slaveia Petrova, Bogdan Nikolov, Vesela Yancheva, Iliana Velcheva
University of Plovdiv „Paisii Hilendarski“, Faculty of Biology, Department of
Ecology and Natural Conservation

ABSTRACT

Plants have the tendency to absorb toxic and non-toxic elements from the soil and water and accumulate them into their tissues and organs, where they impact

directly or indirectly on the growth and metabolism. A bio-test was conducted for determining the influence of some heavy metals in the waters from the catchment of Topolnitza River on the seed germination and growth of selected plants species. A certain negative influence was registered on the studied physiological processes.

Key words: *bio-test, plants, pollution, heavy metals, Topolnitza River*