**Gymnázium Gelnica, SNP 1, 056 01 Gelnica**

**Vplyv environmentálnych faktorov na vybrané druhy rastlín z čeľade bôbovité**

(Správa)

**Autor:**

Stanislava Augustiňáková

Nikola Imrichová

**Abstrakt**

Práca sa zaoberá environmentálnym vplyvom toxických kovov v pôde po banskej činnosti, vplyvom hnojenia v súvislosti s poľnohospodárskou činnosťou a pôsobením herbicídov v železničnej doprave na vybrané rastliny z čeľade bôbovité. Konkrétne pozorovania a tiež pokusy boli uskutočnené s fazuľou záhradnou, hrachom siatym, ďatelinou lúčnou a plazivou. Cieľom práce bolo zistiť, na ktorej z vybraných lokalít sa častejšie vyskytuje ploídia u listov ďateliny, nájdené ploídne listy dokumentovať, izolovať niekoľko nájdených rastlín a pozorovať ich po odtrhnutí viacpočetných lístkov v domácom prostredí. Pozorovali sme tiež rast fazule a hrachu nekontaminovanej a v kontaminovanej pôde, ktorú sme spolu s vypestovanou rastlinou fazule podrobili analýze metódou AAS. Dokumentovali sme 43 viacpočetných lístkov ďateliny, prevažne druhu *Trifolium pratense*. Najviac ploidných rastlín sa vyskytovalo na hnojenej v minulosti poľnohospodársky využívanej ploche. Rastliny fazule a hrachu rástli rýchlejšie v kontaminovanej pôde, v ktorej sme stanovili vysoké množstvá Fe, Cu, Sb, Pb, Zn. Súčasťou práce je fotodokumentácia z pozorovania a pestovania rastlín, časový harmonogram zmien v raste a tiež konzervované štvor a päťpočetné lístky rodu *Trifolium*.

**Úvod**

Práca sa zaoberá environmentálnymi vplyvmi – vplyvom toxických kovov po banskej činnosti, vplyvom hnojenia v súvislosti s poľnohospodárskou činnosťou a železničnou dopravou na vybrané rastliny z čeľade bôbovité. Konkrétne pozorovania a tiež pokusy boli uskutočnené s fazuľou záhradnou, hrachom siatym, ďatelinou lúčnou a plazivou a vypestovali a pozorovali sme aj rast geneticky upravenej štvorlístkovej ďateliny objednanej prostredníctvom internetu.Cieľom práce bolo zistiť, na ktorej z vybraných lokalít ovplyvnených ľudskou činnosťou sa bude vyskytovať viac ploidných (štvor a päťpočetných) listov ďateliny, nájdené ploidné listy dokumentovať, izolovať niekoľko nájdených rastlín a pozorovať ich po odtrhnutí viacpočetných lístkov v domácom prostredí. V súvislosti s trvalou environmentálnou záťažou v podobe banských háld sme pozorovali rast fazule a hrachu v kontaminovanej a nekontaminovanej pôde. Kontaminovanú pôdu a tiež rastlinu fazule sme podrobili analýze metódou AAS.

Dokumentovali sme 43 viacpočetných lístkov ďateliny, prevažne druhu *Trifolium pratense*. Najviac ploidných rastlín sa vyskytovalo na hnojenej poľnohospodársky využívanej ploche **a na železničnej trati** v Gelnici. Po odtrhnutí štvorpočetných lístkov z izolovaných rastlín ďateliny dorástol na rovnakej stonke jeden z troch.

Zistili sme, že rastliny fazule a hrachu rástli rýchlejšie v kontaminovanej pôde, v ktorej sme stanovili vysoké množstvá Fe, Cu, Sb, Pb, Zn.

**a taktiež v pôde, ktorá bola ošetrovaná herbicídom Roundup**. V rastline fazule boli prítomné vysoké množstvá tých prvkov, ktoré boli v pôde. V prípade zinku, bola koncentrácia v rastline dvojnásobne vyššia ako v pôde, čím môžeme fazuľu klasifikovať ako hyperakumulátor tohto kovu.

Súčasťou práce je fotodokumentácia z pozorovania a pestovania rastlín, časový harmonogram zmien v raste a tiež konzervované štvor a päťpočetné lístky rodu *Trifolium*.

**Ciele práce:**

* porovnať výskyt viacpočetných lístkov na rastlinách druhu *Trifolium* na troch vybraných lokalitách ovplyvnených ľudskou činnosťou,
* zozbierať a vylisovať nájdené viacpočetné listy z rastlín rodu Trifolium
* určiť, ktorý z konkrétnych druhov rodu Trifolium sa vyznačoval väčším počtom ploidných lístkov,
* izolovať niekoľko ploidných rastlín z pôdy a pozorovať ich v domácich podmienkach,
* zasadiť semená a pozorovať rast rastlín fazule záhradnej a hrachu siateho v kontaminovanej pôde z banskej ťažby a v nekontaminovanej pôde,
* analyzovať a porovnať obsah ťažkých kovov v banskej pôde a vo vypestovanej rastline fazule záhradnej.

**Metódy**

Na začiatku pozorovania výskytu ploidných rastlín rodu *Trifolium* sme si určili tri lokality, na ktorých sme ich výskyt predpokladali. Vybrali sme si v minulosti poľnohospodársky využívanú lúku v Gelnici, ďalej lokalitu v Margecanoch, presnejšie v blízkosti Bystrého potoka, miestnymi označovanú aj ako cesta „Hore Bystrím“, a poslednou vybranou lokalitou bolo tréningové ihrisko vedľa frekventovanej cesty v Mária Hute. Pozorovanie a hľadanie ploidných rastlín ďateliny sme realizovali v priebehu druhého septembrového týždňa. Zozbierané viacpočetné listy sme vylisovali a konzervovali laminovaním do PVC fólie.

Z poľnohospodárskej plochy v Gelnici sme tiež izolovali tri polyploidné rastliny *Trifolium*. Pozorovali sme ich v domácom prostredí v priebehu troch mesiacov. Zmeny sme zaznamenávali do kalendára a priebežne sme vytvárali aj fotodokumentačný materiál priložený v prílohe práce.

V októbri sme prostredníctvom internetu objednali geneticky upravené štvorlístky, ktoré sme zasadili podľa pokynov výrobcu a následne sme rast rastlín v priebehu dvoch mesiacov pozorovali.

Pre pozorovanie vplyvu environmentálneho faktora na rast rastlín sme si zvolili fazuľu záhradnú a hrach siaty. Semená týchto rastlín sme zasadili do štyroch črepníkov, dvoch s kontaminovanou pôdou z banskej haldy v Gelnici a dvoch s nekontaminovanou pôdou a pozorovali ich rast od septembra do decembra v priebehu troch mesiacov.

Podobne sme pokus zopakovali aj v novembri, kedy sme vypestované rastliny ako aj pôdu podrobili analýze metódou atómovej absorpčnej spektrometrie (AAS).

**Metodika analýzy pôdy**

Z pôdy sme odstránili rastliny a koreňový systém. Pôda bola voľne vysušená pri teplote okolia 19 °C, pomletá, presitovaná na veľkosť zŕn 0,2 mm a následne bola vzorka kvartovaná. Na vstupnú AAS analýzu bola odobraná vzorka 5 g. Uskutočnili sme porovnávacie meranie. Anorganická analýza bola uskutočnená trepaním vzorky v 2M HNO3 po dobu 6 hod. Organická analýza bola vykonaná trepaním 5 g vzorky v 0,05M EDTA komplexon III s úpravou pH pomocou NH3 z pH 4 na požadované pH 7 po dobu 1 hodiny. Vzorka bola prefiltrovaná a aj kvapalná aj tuhá zložka (filtračný koláč) bola podrobená AAS analýze.

**Metodika analýzy rastliny**

Rastlina boli vysušená voľne pri teplote okolia 19 °C. Následne bola rozdrvená v mažiari na jemný prášok a spálená (mspálenej rastliny = 0,43 g) pri teplote 300 °C po dobu 15 minút. Vzorka bola rozpustená v 2M HNO3 a podrobená AAS analýze.

**Výskyt ploidných rastlín rodu *Trifolium* a ich pozorovanie v domácom prostredí**

Kritériom pre výber lokalít s predpokladaným výskytom rastlín s viacpočetnými listami rodu *Trifolium,* bol dostatočný výskyt rastlín tohto rodu a predpokladaný environmentálny vplyv na tieto lokality, a to v podobe niekdajšieho poľnohospodárskeho hnojenia, znečistenia automobilovou dopravou, prípadne výsadba ihriskovej, resp. parkovej trávy s vysokým podielom ďateliny. Zaujímalo nás, v ktorej lokalite nájdeme najviac ploidných rastlín, resp. kde nájdeme najviac viacpočetných lístkov rodu *Trifolium*a tiež to, u ktorého druhu pozorovaných rastlín (*T.repens* alebo *T.pratense)* bude ploídia zastúpená viac.

V lokalite v Gelnici (Príloha A, obr. 1) bola zastúpená ďatelina lúčna aj plazivá, s prevahou ďateliny lúčnej. Na tréningovom ihrisku v miestnej časti Gelnice, Mária Huta (Príloha A, obr. 2), bola zastúpená iba ďatelina plazivá. V lokalite v Margecanoch rástla iba ďatelina lúčna.

Najviac ploidných rastlín rodu *Trifolium* sme našli v lokalite v Gelnici. Najzaujímavejšie rastliny sme odfotografovali a tri z nich sme s koreňovým systémom izolovali z pôdy.

Spolu sme našli 26 ploidných lístkov ďateliny. Z toho 22 kusov štvorpočetných a 4 kusy päťpočetných. Nechali sme ich vylisovať a aby sa zachovali, zalaminovali sme ich do PVC fólií, ktoré sú súčasťou našej práce.

Pozorovanie troch spomínaných izolovaných ploidných rastlín pokračovalo v domácom prostredí. Rastliny sme zasadili do črepníkov a pri zabezpečenej pravidelnej zálievke, dostatku svetla a tepla, sme pozorovali ich rast na okne. Jedna z rastlín, konkrétne druh ďatelina lúčna, mala prítomné dva štvorlístky a jeden päťlístok. Pri pozorovaní sme sa zamerali na to, ako bude rastlina rásť po odtrhnutí tropočetných a aj viacpočetných lístkov. Chceli sme zistiť, či sa objavia štvorlístky na tom istom mieste, kde vyrástli na rastline pred odtrhnutím.

Najprv sme z izolovaných rastlín odtrhli štvorlístky. Stonky, na ktorých sa predtým nachádzali štvorlístky sme označili červenou šnúrkou (Príloha A). Potom sme odtrhli z rastlín niekoľko trojlístkov a tieto stonky sme označili šnúrkou čiernej farby pre rozlíšenie. Približne po dvoch týždňoch sme pozorovali opätovný nárast listov na stonkách. Z troch odtrhnutých štvorlístkov nám na rovnakom mieste vyrástol jeden štvorlístok a jeden trojlístok. Na stonke tretieho odtrhnutého štvorlístka nedorástlo nič. Na miestach troch odtrhnutých trojlístkov vyrástli na všetkých miestach opäť trojlístky. Na jednej z rastlín, na ktorej sa vyskytoval aj päťlístok, sa objavil úplne nový štvorlístok.

**Pestovanie fazule záhradnej a hrachu siateho v pôde s vysokým obsahom ťažkých kovov**

Na uskutočnenie pozorovania rastu rastlín v kontaminovanej pôde a nekontaminovanej pôde sme si zvolili hrach siaty a fazuľu záhradnú. Oba druhy rastlín sme zasadili do črepníkov s kontaminovanou a nekontaminovanou pôdou. Už po piatich dňoch od zasadenia sme mali možnosť pozorovať prvé náznaky klíčenia rastlín.

Ako prvý začal klíčiť hrach siaty v črepníku s kontaminovanou banskou hlušinou. Jeho rast sa však zastavil pri štyroch centimetroch, pričom v rovnakom čase už boli na rastline zasadenej v nekontaminovanej pôde prítomné oba klíčne listy. Po osemnástich dňoch od zasadenia začala klíčiť aj rastlina fazule zasadená v nekontaminovanej pôde. Ako posledná vyklíčila rastlina fazule zasadená v hlušinovom substráte. Časový harmonogram priebehu rastu rastlín sa nachádza v Prílohe B.

Fazuľu záhradnú sme zasadili do kontaminovanej aj nekontaminovanej pôdy v decembri ešte raz, z dôvodu určenia akumulácie kovov z kontaminovanej pôdy do rastliny. Na druhýkrát, začala rásť najprv rastlina zasadená v nekontaminovanej pôde. Rastlina zasadená v troske, vyklíčila o dva dni neskôr. Avšak potom sa rast zastavil na štyroch centimetroch.

**Analýza kontaminovanej pôdy**

Prostredníctvom atómového absorpčného spektrometra sme v spolupráci s Hutníckou fakultou Technickej univerzity v Košiciach uskutočnili analýzu kontaminovanej pôdy z banskej haldy. V súvislosti s dávnou banskou ťažbou v Gelnici bola analýza zameraná práve na prvky, ktoré sa tu ťažili. V minulosti sa v tejto oblasti ťažili hlavne medené a železné rudy.

V pôde boli stanovované prvky Zn, Cu, Ni, Fe, Pb, Sb a Cd. Vstupná analýza potvrdila prítomnosť prvkov Fe, Cu, Pb a Sb (Tabuľka 1). Vo vzorke bolo najviac zastúpené železo.

**Tabuľka 1** Vstupná analýza - obsah prvkov v pôde banskej haldy v Gelnici

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Zn** | **Cu** | **Ni** | **Fe** | **Pb** | **Sb** | **Cd** |
| Obsah prvkov v pôde **[%]** | 0 | 0,45 | 0 | 3,01 | 0,10 | 0,32 | 0 |
| Obsah prvkov v pôde **[**mg**]** | 0 | 2,25 | 0 | 15,05 | 0,5 | 1,6 | 0 |

Z dôvodu zistenia koncentrácie jednotlivých ťažkých kovov vo vzorke kontaminovanej banskej hlušiny, sme extrahovali tieto kovy do roztoku trepaním. Koncentrácie kovov získaných trepaním do roztoku anorganického rozpúšťadla (2M HNO3) a tiež organického rozpúšťadla (0,05M EDTA) sú uvedené v Tabuľke 2. Ako vyplýva z tejto tabuľky, vyššie koncentrácie týchto kovov sme získali ich extrakciou do anorganického rozpúšťadla.

**Tabuľka 2** Koncentrácia kovov v roztoku anorganického a organického rozpúšťadla

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Koncentrácia kovu v roztoku** | **cZn**  **[μg.ml-1]** | **cCu**  **[μg.ml-1]** | **cNi**  **[μg.ml-1]** | **cFe**  **[μg.ml-1]** | **cPb**  **[μg.ml-1]** | **cSb**  **[μg.ml-1]** | **cCd**  **[μg.ml-1]** |
| **Názov**  **vzorky** |
| Vzorka rozpustená anorganickom rozpúšťadle  (2M HNO3) | 21,6 | 392,3 | 2,3 | 736 | 9,92 | 40,59 | 0 |
| Vzorka rozpustená v organickom rozpúšťadle  (0,05M EDTA) | 14,4 | 322,2 | 0,8 | 70,64 | 6,73 | 18,31 | 0 |

Po extrakcii kovov zo vzorky do roztoku anorganického, ako aj organického rozpúšťadla, boli v tuhom zvyšku (filtračnom koláči) ešte prítomné malé množstvá kovov Cu, Fe, Pb a Sb, čo prezentuje tabuľka 3. Nižšie zastúpenie kovov vo filtračnom zvyšku vzorky rozpustenej v 2M HNO3 potvrdzuje vyššiu účinnosť získania kovov, práve pomocou tohto anorganického rozpúšťadla.

**Tabuľka 3** Analýza tuhého filtračného zvyšku pôdnej vzorky

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Obsah kovov** | **Zn**  **[%]** | **Cu**  **[%]** | **Ni**  **[%]** | **Fe**  **[%]** | **Pb**  **[%]** | **Sb**  **[%]** | **Cd**  **[%]** |
| **Názov**  **vzorky** |
| Filtračný zvyšok po trepaní vzorky rozpustenej v anorganickom rozpúšťadle | 0 | 0,10 | 0 | 2,08 | 0 | 0,24 | 0 |
| Filtračný zvyšok po trepaní vzorky rozpustenej v organickom rozpúšťadle | 0 | 0,16 | 0 | 2,71 | 0,13 | 0,27 | 0 |

**Obsah ťažkých kovov v rastline fazule záhradnej**

V rastline fazule záhradnej boli prítomné prvky Zn, Cu, Fe a Ni. Ako prezentuje Tabuľka 4, najviac bolo zastúpené železo, meď a zinok. Obsah olova, antimónu a kadmia sme z dôvodu nedostatočného množstva vzorky nemohli stanoviť. Paradoxom je, že v prípade prvku Zn, bol jeho obsah v rastline dvojnásobne vyšší ako bol jeho obsah v banskej hlušine.

**Tabuľka 4** Obsah kovov v rastline fazule záhradnej

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Prvky** | **cZn** | **cCu** | **cNi** | **cFe** | **cPb** | **cSb** | **cCd** |
| Koncentrácia  [μg.ml-1] | 42 | 58,46 | 1 | 575 | \*1 | \*1 | \*1 |

\*1 – nestanovené z dôvodu nedostatočného množstva vzorky