

DOI: 10.22620/agrisci.2009.01.007

**РАЗРАБОТВАНЕ И ПИЛОТНО ИЗПИТВАНЕ НА РАСТИТЕЛЕН ТЕСТ ЗА ОЦЕНКА НА ТОКСИЧНОСТТА НА  
ЗАМЪРСЕНИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ ПОЧВИ**

**DEVELOPMENT AND PILOT APPLICATION OF A PLANT TEST SYSTEM FOR EVALUATING THE TOXICITY OF  
SOILS CONTAMINATED WITH HEAVY METALS**

**Андон Василев\*, Малгожата Берова, Невена Стоева и Златко Златев**  
**Andon Vassilev\*, Malgojata Berova, Nevena Stoeva and Zlatko Zlatev**

Аграрен университет - Пловдив  
Agricultural University - Plovdiv

\* E-mail: [vassilev@au-plovdiv.bg](mailto:vassilev@au-plovdiv.bg)

**Резюме**

Разработена е растителна тест система за оценка на токсичността на замърсени с тежки метали почви. Системата се основава на промени в биометрични и физиологични параметри на млади краставични растения, отглеждани при контролирани условия върху замърсени с тежки метали хранителни среди. Тя позволява класифициране на фитотоксичността на замърсени с тежки метали среди в пет класа: нетоксична (I), слабо токсична (II), умерено токсична (III), силно токсична (IV) и летална (V). Системата е изпитана за оценка на замърсени с тежки метали почвени проби от района на предприятието Кумерио - Медет в Пирдоп. Получените резултати показват, че почвените проби, взети на разстояние до 1 km от предприятието, предизвикват фитотоксичност, която варира от летална до умерено токсична.

**Abstract**

A plant test system for evaluating the toxicity of heavy-metal-contaminated soils has been developed and applied. It is based on both morphological (leaf area and plant fresh biomass) and physiological (photosynthetic performance and root peroxidase activity) responses of young cucumber plant (hybrid Levina) grown in excess heavy metals in the root media at controlled environment. The system allows classifying phytotoxicity of metal-contaminated media into five toxicity classes: nontoxic (I), slightly toxic (II), moderately toxic (III), strongly toxic (IV) and lethal (V). The system has been applied to evaluating the phytotoxicity of soil samples taken from the region of Pirdop, which are industrially contaminated with heavy metals, mostly by copper. The obtained results showed that the toxicity of the soil samples taken up to 1 km from the Cu-producing plant varied from lethal to moderately toxic.

**Ключови думи:** тежки метали, фитотоксичност, растителен тест, фотосинтеза, пероксидазна активност.

**Key words:** heavy metals, phytotoxicity, plant test system, photosynthesis, peroxidase activity.

**ВЪВЕДЕНИЕ**

Замърсяването на почвите с тежки метали (ТМ) е актуален проблем у нас и в света (Grancharov and Pirova, 2003). Процесите на естествено почистване на почвите от ТМ продължават хиляди години (McGrath, 1987), така че замърсените почви представляват постоянен риск за здравето на хората и устойчивото функциониране на екосистемите. Това провокира интерес към провеждане на системни мониторингови проучвания и към разработване на технологии за безопасно и икономически рационално използване на

замърсени с ТМ почви (Angelova et al., 2004; Янков и съавт., 2000; Dinev et al., 2005).

Изборът на технология в голяма степен зависи от степента на здравния и на екологичния риск, който тези почви създават. При оценка на екологичния риск от замърсяване с ТМ наред със стандартните химични и физични методи се използват и биотестове с животински видове, микроорганизми и растения (Adriano, 2001). Исторически погледнато, растителните видове са считани за по-малко чувствителни към токсиканти от животинските (Lewis, 1995), поради което

фитотоксичната база данни е относително по-малка. Вече е общоприето, че чувствителността на отделните биологични организми към различни токсиканти е непредсказуема и видово-специфична (Smith, 1978).

Използването на биотестове за оценка на екологичния риск от замърсени почви се налага поради факта, че общата концентрация на отделните ТМ в почвата не дава представа за тяхната подвижност, достъпност и биотоксичност. Освен това в преобладаващия брой случаи почвите са замърсени с комплекс от ТМ и следователно тяхната токсичност може да бъде резултат както на действието на един конкретен метал, така и на взаимодействията между тях – синергистични, антагонистични или адитивни (Vangronsveld and Clijsters, 1992).

Използването на растителни тестове за определяне на фитотоксичността на замърсени с ТМ почви у нас е ограничено основно от липсата на подходяща инфраструктура за провеждане на опити при контролирани условия на средата. Преценката за фитотоксичността на замърсените почви често се прави индиректно, на базата на намаляването на добивите в сравнение с тези в близки, незамърсени райони (Yankov and Taxin, 2001). Този подход дава приблизителна оценка, тъй като не може да се избегне варирането в климатичните условия, както и влиянието на странични фактори, например ефекти от аерозолно замърсяване.

Известните растителни тестове за оценка на фитотоксичността на замърсени с ТМ почви са сравнително малко на брой. Тестът OECD – 208 (OECD, 1984) е основан на намаляването на масата на определени растителни видове при отглеждане върху замърсени с ТМ почвени проби. В друг тест като показатели за метална фитотоксичност се използват покълването на семената и сухата маса на растенията (An, 2004). Растежните параметри самостоятелно не дават достатъчно обективна информация за фитотоксичността на почвата, поради което в теста на Vangronsveld and Clijsters (1992) като функционални индикатори се използват и активностите на антиокислителни ензими.

Фотосинтетичните показатели също могат да бъдат подходящи функционални индикатори за метална фитотоксичност, защото ТМ оказват редица негативни ефекти върху отделните звена на фотосинтетичния процес (Vassilev, 2002). Те намаляват устичната проводимост и съответно дифузията на  $\text{CO}_2$  към мезофилните клетки, нарушават хлорофилната биосинтеза и фотосинтетичния електронен транспорт, инхибират биохимичните процеси и др. (Krupa and Baszynski, 1995). От друга страна, ТМ предизвикват редица индиректни негативни ефекти върху водообмена и минералното хранене на растенията, които в крайна сметка рефлектират върху фотосинтетичния процес

(Vassilev et al., 1998). Особено подходящи за растителни тестове са недеструктивните анализи, като листния газов обмен и хлорофилната флуоресценция, които се измерват бързо и имат висока чувствителност към стресови фактори.

Целта на проведеното изследване е разработване на растителен тест за оценка на фитотоксичността на замърсени с ТМ почви. В предварителни изследвания с различни растителни видове (царевица, салатата, фасул и краставица) е установено, че краставиците са подходяща култура за разработвания тест поради бързия им растеж, високата транслокация на ТМ към надземните органи и удобните за недеструктивни фотосинтетични измервания листа (Vassilev et al., 2007). В настоящата работа са представени резултати, отнасящи се до: (1) реакцията на краставиците към нарастващи нива на замърсяване с тежките метали Cd, Zn и Cu; (2) стойностите на индикаторите, въз основа на които замърсената с ТМ среда се класифицира в различни фитотоксични класове; (3) пилотното изпитване на теста върху замърсени с ТМ почви.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитите са проведени през 2007 и 2008 г. с краставични растения (хибрид "Левина") при контролирани условия на средата: фотопериод 14/10 часа (светло/тъмно), осветеност  $250 \mu\text{mol ФАР m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , температура  $22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  и относителна влажност на въздуха  $60 \pm 5\%$ .

Опитна постановка 1. Краставичните семена са засявани в съдове с перлит, в които ежедневно е внасян 1/2 хранителен разтвор на Хогланд с добавка на тежките метали Zn, Cu и Cd. Опитната постановка включва 4 варианта:

- (1) контрола – внасяне само на разтвор на Хогланд;
- (2) разтвор на Хогланд с добавка на тежките метали Cu, Zn и Cd в пълна доза, съдържаща  $25 \mu\text{M Cd}$ ,  $20 \mu\text{M Cu}$  и  $500 \mu\text{M Zn}$ ;
- (3) разтвор на Хогланд с добавка на 1/2 доза ТМ;
- (4) разтвор на Хогланд с добавка на 1/4 доза ТМ.

Разтворът с добавката на ТМ е внасян в обем 100 ml на съд, като излишъкът се оттича за поддържане на постоянен минерален режим. Третирането на растенията с ТМ продължава 3 седмици, след което растенията се анализират.

Опитна постановка 2. Краставичните растения са отглеждани при описаните контролирани условия върху почвени проби, взети от района около металургичното предприятие Кумерио в Пирдоп. От района са взети 5 средни почвени проби, отстоящи на различно разстояние от предприятието – от 200 m до



10 km (контрола). Общото съдържание на ТМ в избраните почвени проби е посочено в таблица 3. За изравняване на минералния фон в почвените проби е внесено по 100 ml 1/2 хранителен разтвор на Хогланд. Растенията са отглеждани 3 седмици след поникването, след което са анализирани.

**Показатели.** Основните параметри, които са определени в растенията и в почвата, са следните:

- Растежни параметри (свежа маса и листна площ на растенията);
- Хлорофилно съдържание (общо съдържание на Chl.a и Chl.b в листата);
- Функционални фотосинтетични параметри (скорост на нето фотосинтезата и интензивност на транспирацията с апарата LCA-4 (ADC, England) и скорост на фотосинтетичния електронен транспорт по параметри на хлорофилната флуоресценция, определена с апарата MINI-PAM (H. Walz, Germany);
- Активност на ензима гваякол пероксидаза в корените по Bergmeier et al. (1974);

- Общо съдържание на Cu, Zn, Cd и Pb в почвата чрез атомноабсорбционна спектрофотометрия след суха минерализация в Лабораторния комплекс на Аграрния университет – Пловдив.

Получените данни са обработени статистически и достоверността на разликите с контролата е преценена по критерия *t* на Стюdent.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Краставичните растения, отглеждани при нарастващи нива на Cd, Zn и Cu в кореновата среда, са по-ниски от контролните растения и формират по-малка листна площ. Необходимо е да се отбележи, че същинските листа и семеделите показват различна реакция към ТМ. Листата развиват признаци на хлороза, които отсъстват в семеделите. Хлоротичните признаци са особено силно проявени в растенията, третирани с пълна доза ТМ. Причината за този ефект вероятно е свързана с миксотрофното хранене на семеделите, което ги прави относително по-независими от стресови фактори.

**Таблица 1.** Растежни и фотосинтетични параметри в краставични растения, отглеждани при нарастващи концентрации на Zn, Cu и Cd. FW – свежа маса (g); LA – листна площ (cm<sup>2</sup>); A – скорост на нето фотосинтезата (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); E – интензивност на транспирацията (mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); ETR – скорост на действителния електронен транспорт (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); Chl.a+b хлорофилно съдържание (mg g<sup>-1</sup> свежа маса); гваякол пероксидазна активност в корените (GPOD – mU g<sup>-1</sup> свежа маса)

**Table 1.** Growth and photosynthetic parameters in cucumber plants grown at increasing concentrations of Zn, Cu and Cd. FW – fresh mass (g); LA – leaf area (cm<sup>2</sup>); A – net photosynthetic rate (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); E – transpiration rate (mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); ETR – apparent photosynthetic transport rate (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); Chl.a+b – chlorophyll content (mg g<sup>-1</sup> FW); Guaiacol peroxidase activity in roots (GPOD – mU g<sup>-1</sup> FW)

Параметри Parameters	Варианти / Treatments			
	Контрола (без ТМ) Control (without HM)	¼ доза ТМ ¼ dose HM	½ доза ТМ ½ dose HM	Пълна доза ТМ Full dose HM
FW	5,60 (100)	4,25* (76)	3,28* (59)	2,45* (45)
LA	105,5 (100)	86,3* (82)	67,9* (64)	35,1* (34)
A	12,24 (100)	9,25* (76)	5,56* (45)	3,35* (27)
E	2,11 (100)	1,95 (92)	2,04 (97)	2,15 (102)
ETR	31,5 (100)	26,5 (84)	18,9* (60)	15,4* (49)
Chl.a+b	1,90 (100)	1,45* (79)	1,12* (59)	0,72* (38)
GPOD листа / leaves	921 (100)	1210* (131)	1752* (190)	2040* (221)
GPOD корени / roots	3680 (100)	4315* (117)	6503* (177)	9523* (259)

\*Разликите с контролата са доказани при P = 0,05.

\*Differences between the treatments and the control values are significant at P = 0.05.

В таблица 1 са приведени данни за промените в някои растежни и фотосинтетични параметри в контролните и в третираните с ТМ растения. Резултатите показват, че с нарастване на нивата на ТМ в кореновата среда свежата маса и листната площ на растенията съществено намаляват. Инхибирането на листната площ варира от 18 (1/4 доза ТМ) до 66% (пълна доза ТМ), а на свежата маса - съответно от 24 до 55%. Силната чувствителност на растежа към приложеното въздействие с ТМ може да се обясни с интегралния му характер като физиологичен процес.

Скоростта на интегралния фотосинтетичен процес в третираните с ТМ краставични растения е силно инхибирана. С нарастване на дозата на ТМ скоростта на  $\text{CO}_2$  асимилацията намалява от 24 до 67%, докато интензивността на транспирацията не е съществено променена. Това категорично показва, че инхибирането на фотосинтезата е свързано предимно с нарушения в мезофилните процеси. Отсъствието на основания за устично лимитиране на фотосинтезата в известна степен може да се обясни с хидропонния начин на отглеждане на растенията и сравнително високите дози на третиране с ТМ.

Резултатите, представени в таблица 1, показват, че общото хлорофилно съдържание в третираните с ТМ краставични растения намалява от 21 до 62%. Фотосинтетичните пигменти са една от

основните мишени на токсичното въздействие на ТМ. Тежките метали оказват комплексно негативно въздействие както върху биосинтезата и агрегацията на хлорофилните молекули, така и върху тяхната деградация. Фотосинтетичният електронен транспорт (ETR) е намален, но в по-малка степен от скоростта на въглеродната асимилация. Инхибицията на ETR варира от 16 до 51%, като с разликите с контролата са достоверни при вариантите с 1/2 и 1/4 доза на ТМ.

Ензимът гваякол пероксидаза (GPOD) показва най-силно изразена реакция към въздействието с ТМ (табл. 1). С нарастването на нивата на ТМ активността на GPOD в листата и в корените се увеличава значително и достига при варианта с пълна доза стойности, които са над 2 пъти по-високи от тези в контролните растения. Високата активност на GPOD в третираните растения е свързана с нейната централна роля в антиокислителната защитна система на клетката и отразява негативното въздействие на ТМ върху окислително-редукционното състояние на клетките. Пероксидазната активност в корените е многократно по-висока от тази в листата.

Получените резултати потвърждават известни факти за негативното влияние на ТМ върху физиологичните процеси в растенията (Vangronsveld and Clijsters, 1992). Възможните причини за установените негативни ефекти се дискутират в обзорни

**Таблица 2.** Параметри на индикаторите в разработения тест с млади краставични растения за отделните фитотоксични класове (в % от контролата)

**Table 2.** Parameters of indicators in the developed test with cucumber plants for the different phytotoxicity classes (in % from the control)

Параметри / Parameters	Фитотоксични класове / Phytotoxicity classes				
	Нетоксична Клас I Nontoxic, Class I	Слабо токсична Клас II Slightly toxic, Class II	Умерено токсична Клас III Moderately toxic, Class III	Силно токсична Клас IV Strongly toxic, Class IV	Летална Клас V Lethal, Class V
Свежа маса / Листна площ Fresh mass / Leaf area	> 90	85–75	75–40	< 40	Няма поникване No germination
Скорост на ФС; Net photosynthetic rate	95–110	> 70	70–40	< 40	-
ETR	95–105	> 80	80–50	< 50	-
GPOD корени / roots	100–125	125–150	150–200	> 200	-



статии и монографии (Krupa and Baszynski, 1995; Vassilev and Yordanov, 1997; Adriano, 2001). В конкретния случай интерес за разработването на растителния тест представлява чувствителността на отделни физиологични параметри към замърсяване на средата с ТМ, както и зависимостта между тях при различни степени на замърсяване. Получените данни показват силната чувствителност на  $\text{CO}_2$  фиксацията (А) и фотосинтетичния електронен транспорт (ЕТР) към метална фитотоксичност. Това дава основание за включване на тези параметри, наред с активността на GPOD и растежните параметри, като функционални индикатори в разработвания растителен тест.

В таблица 2 са представени интервалните стойности на индикаторите за различни по степен на метална фитотоксичност среди – нетоксична (клас I), слабо токсична (клас II), умерено токсична (клас III), силно токсична (клас IV) и летална (клас V). Индикаторните стойности са изразени като процент от тези в контролните растения. Стойностите на растежните индикатори за отделните фитотоксични класове кореспондират с тези от теста на Vangronsveld and Clijsters (1992), а на останалите индикатори са определени емпирично на базата на установени зависимости между инхибицията на растежа и изследваните функционални параметри в третираните с ТМ краставични растения. Общата оценка на фитотоксичността на замърсената с ТМ среда се

изчислява като средноаритметична от класовете за отделните индикатори. За летална (клас V) се определя тази среда, в която замърсяването с ТМ не позволява нормално поникване на растенията. Нетоксична (клас I) е тази среда, в която намаляването на растежните параметри не надхвърля 10%, а активността на GPOD не надвишава стойностите в контролните растения с повече от 25%. Фотосинтетичните параметри в този случай могат да бъдат и слабо завишени в резултат на промени в специфичната плътност на листата, както е установено по-рано (Vassilev and Yordanov, 1997).

Растителният тест е разработен в условия на субстратна хидропонна култура, за да бъде независим от свойствата на конкретна почва. Същевременно хидропонните и почвените култури се различават съществено, в това число и при моделиране на излишък на ТМ. В почвата е налице динамично равновесие между фондовете на ТМ в твърдата и в течната фаза, поради което най-лесноуловимите им форми в почвения разтвор са в сравнително ниски концентрации. Излишъкът на ТМ в хидропонни условия е изцяло достъпен, поради което фитотоксичният им ефект е по-директен и по-силен.

Ефикасността на разработения растителен тест е проучена чрез пилотно изпитване върху почвени проби от района около металургичното предприятие на Кумерио край Пирдоп. За контрола са използвани почвени проби, взети на 10 km от предприятието, в които

**Таблица 3.** Общо съдържание на ТМ в почвени проби, взети от района около металургичното предприятие Кумерио край Пирдоп

**Table 3.** Total content of heavy metals in the soil samples, taken in the region around metallurgic factory Kumerio near Pirdop

Варианти / местоположение Treatments / location		Cu (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Pb (mg/kg)
Вариант 1 Treatment 1	200 m южно от предприятието 200 m South of the factory	1125	0,4	170	34
Вариант 2 Treatment 2	1 km източно от предприятието 1 km East of the factory	272	< 0,1	129	19
Вариант 3 Treatment 3	2 km източно от предприятието (с. Антон) 2 km East of the factory (v. Anton)	356	< 0,1	85	23
Вариант 4 Treatment 4	5 km източно от предприятието – местност "Козница" 5 km East of the factory "Koznitsa"	119	< 0,1	79	20
Вариант 5 (контрола) Treatment 5 (control)	10 km източно от предприятието 10 km East of the factory	79	< 0,1	28	20

**Таблица 4.** Индикаторни параметри в краставични растения, отглеждани върху замърсени с тежки метали почвени проби. Свежа маса на растенията (g); скорост на нето фотосинтезата ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); ETR (скорост на фотосинтетичния електронен транспорт -  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); гваякол пероксидазна активност (GPOD -  $\text{mU g}^{-1}$  свежа маса)

**Table 4.** Indicator parameters in cucumber plants grown in heavy metal contaminated soil samples. FW – fresh mass (g); A – net photosynthetic rate ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); ETR – apparent photosynthetic transport rate ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); Guijacol peroxidase activity in roots (GPOD –  $\text{mU g}^{-1}$  FW)

Параметри Parameters	Варианти / Treatments				
	Вариант 5 (контрола) Treatment 5 (control)	Вариант 1 (200 m) Treatment 1	Вариант 2 (1 km) Treatment 2	Вариант 3 (2 km) Treatment 3	Вариант 4 (5 km) Treatment 4
Свежа маса Fresh mass	5,47 (100)	Няма поникване No germination	2,31* (42)	4,95 (90)	4,88* (89)
Скорост на ФС Net photosynthetic rate	15,19 (100)	-	8,15* (54)	13,12* (86)	13,25* (87)
ETR	38,1 (100)	-	22,5* (59)	34,3 (90)	33,1* (88)
GPOD корени roots	2750 (100)	-	5120* (189)	3110 (113)	3268 (119)
Фитотоксичен клас Phytotoxic class	-	V	III	I	I

\*Разликите с контролата са доказани при  $P = 0,05$ .

\*Differences between the treatments and the control values are significant at  $P = 0.05$ .

общото съдържание на ТМ е под установените ПДК норми. Контролните и замърсените с ТМ проби не се различават съществено по физико-химични качества, а за изравняване на съдържанието на необходими и полезни минерални елементи е внесен еднакъв обем хранителен разтвор на Хогланд.

Реакцията на всички почвени проби [ $\text{pH}_{(\text{H}_2\text{O})}$ ] е в диапазона 4,5-5,5. Стойностите на ПДК за Cu, Cd, Zn и Pb при посочения интервал на pH са следните - съответно 80, 1,5, 150 и 60 mg/kg (Наредба № 3 на МОСВ от 2008 г.). Съгласно с получените резултати, отразени в таблица 3, общото съдържание на Cu надвишава ПДК във всички почвени варианти, с изключение на контролата, а това на Zn – само в първия вариант, непосредствено около предприятието.

Краставичните растения, отглеждани върху незамърсените и замърсените с ТМ почвени проби, се различават по скоростта на растежа и развитието си. Растенията от най-замърсения вариант (вариант 1) не поникват нормално, не образуват корени и напълно

спират началния си растеж. Със слаб растеж и със силна инхибиция на растежа на корените и листата се отличават растенията от вариант 2. Известна инхибиция на растежа на корените, но не и на листата, се наблюдава при вариант 3, а растенията от вариант 4 не се различават съществено от контролните растения (вар. 5). Може да се допусне, че наблюдаваните токсични ефекти върху растежа се дължат предимно на елемента Cu, който е основният замърсител на почвата. Известен негативен ефект вероятно оказват йоните на Al и Mn, които при установената кисела реакция на почвата имат висока подвижност.

В таблица 4 са представени резултати за индикаторните стойности на контролните и отглежданите върху замърсени почви краставични растения, на базата на които е извършено нормиране на фитотоксичността на замърсените почвени проби. Резултатите показват, че замърсяването с ТМ предизвиква съществени нарушения във физиологичните процеси на растенията от вариант 2 (проби,



взети на 1 km източно от предприятието) и не влияе съществено върху тези от вариантите 3 и 4 (проби, взети на 2 и 5 km източно от предприятието, землище на с. Антон и местността "Козница"). Физиологичният статус на растенията от вариант 2 класифицира почвата като умерено фитотоксична (клас III). Растенията от варианти 3 и 4 са с понижена свежа маса и с по-ниски фотосинтетични показатели спрямо контролните, но установените разлики са в рамките на допустимите граници за нетоксична почва (клас I).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В резултат на проведените предварителни и настоящи изследвания е разработен растителен тест за оценка на фитотоксичността на замърсени с ТМ почви. Той е базиран на морфологични (листа площ и свежа маса) и функционални (фотосинтетични параметри и пероксидазна активност в корените) промени в млади краставични растения, отглеждани върху замърсена с ТМ коренова среда при контролирани условия на средата. Тестът позволява класифициране на замърсената среда в 5 фитотоксични класа: нетоксична (клас I), слабо токсична (клас II), умерено токсична (клас III), силно токсична (клас IV) и летална (клас V) среда. Растителният тест е приложен за оценка на фитотоксичността на почвени проби от района на металургичното предприятие Кумерио край Пирдоп. Установено е, че конкретните почвени проби, взети в зоната от 200 m до 1 km източно от предприятието, проявяват фитотоксичност от V-III клас. Растителният тест може да бъде прилаган за оценка на фитотоксичността на почвата в замърсени с ТМ райони. За целта е необходимо да се подберат представителни почвени проби, отразяващи варирането в степента на замърсяване с ТМ и в основните физико-химични свойства на почвата в дадения регион.

### ЛИТЕРАТУРА

- Наредба № 3 за нормите за допустимо съдържание на вредни вещества в почвите на Министерството на околната среда и водите. – ДВ № 71 от 01.08.2008 г.
- Янков, Б., В. Делибалтова, М. Божинов, 2000. Съдържание на Cu, Zn, Cd и Pb във вегетативните органи на памукови сортове, отглеждани в индустриално замърсени райони. – Растениевъдни науки, 37: 525-531.
- Adriano, D., 2001. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. 2nd edition. – Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg.
- An, Y-J., 2004. Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants. – Environm. Poll., 127: 21-26.
- Angelova, V., R. Ivanova, K. Ivanov, 2004. Heavy metal accumulation and distribution in oil crops. – Communications in soil science and plant analysis, 35 (17-18): 2551-2566.
- Bergmeyer, H.U., K. Gawehn, M. Grassl, 1974. Enzymes as biochemical reagents. – In: H. U. Bergmeyer (Editor), Methods in Enzymatic Analysis, Academic Press, New York, pp. 425-522.
- Dinev, N., T. Raytchev, M. Benkova, 2005. Comparative research on the effect of organo-mineral liming on heavy metal polluted soil. II. Heavy metal content of cabbage production. – In: Proceedings of National Conference with international participation "Management, use and protection of soil resources", May 15-19, 2005, Sofia, ISBN 954-749-058-3, pp. 443-447.
- Grancharov, I., S. Popova, 2003. Heavy metals pollution around the metallurgy plants in some regions in Bulgaria. – In: Proceedings of the workshop "Bulgarian Priorities in Chemical Risk Assessment and Management", held on 12 September 2003, Sofia, pp.38-47.
- Krupa, Z., T. Baszynski, 1995. Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus - direct and indirect effects on light and dark reactions. – Acta Physiol. Plant., 7: 55-64.
- Lewis, M. 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. – Environm. Poll., 87: 319-336.
- McGrath, S. P., 1987. Long-term studies of metals transfers following applications of sewage sludge. – In: P. Coughtrey, M. Martin, M. Unsworth (Editors), Pollutant Transport and fate in Ecosystems. Special publication N 6 of the British Ecological Society, Blackwell Scientific, Oxford, pp. 301-317.
- Organisation for Economic Cooperation and Development - OECD, 1984. Terrestrial plants, growth test, OECD-208. – Paris.
- Smith, B., 1978. An inter- and intra-agency survey of the use of plants for toxicity assessment. – In: J. Gorsuch, W. Lower, W. Wang, M. Lewis (Editors), Plants for toxicity assessment, vol. 2, ASTM STP 1115, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1978, pp. 41-59.
- Vangronsveld, J., H. Clijsters, 1992. A biological test system for the evaluation of metal phytotoxicity and immobilisation by additives in metal contaminated soils. – In: E. Merian and W. Haedi (Editors), Metal compounds in environment and life, 4. Special supplement to

Chemical Speciation and Bioavailability., Wilmington: Science Reviews Inc., 1992, pp. 117-125.

Vassilev, A., 2002. Use of chlorophyll fluorescence for phytotoxicity testing. – J. Environm. Protection and Ecology, 2002, 3 (4): 901-912.

Vassilev, A., M. Berova, Z. Zlatev, 1998. Influence of Cd<sup>2+</sup> on growth, chlorophyll content, and water relations in young barley plants. – Biologia Plantarum, 41 (4): 601-606.

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

Vassilev, A., I. Yordanov, 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of Cd-treated plants: a review. – Bulg. J. Plant Physiol., 23 (3-4), 114-133.

Yankov, B., N. Taxin, 2001. Accumulation and distribution of Pb, Cu, Zn and Cd in sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown in an industrially polluted region. – Helia, 24: 131-136.

**Статията е приета на 27.02.2009 г.  
Рецензент - проф. д-р Красимир Иванов  
e-mail: kivanov1@abv.bg**

Авторите изказват благодарност на Фонда за научни изследвания за предоставеното финансиране на проект ВУ-АН-3/2005, в рамките на който бяха проведени посочените в статията изследвания.