

УДК 581.133+581.134.4+631.811.1

**ВМІСТ НІТРОГЕНУ В РОСЛИН КОНЮШИНИ ЛУЧНОЇ
(*TRIFOLIUM PRATENSE* L.) ЗА ДІЇ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ
І ПІДЖИВЛЕННЯ МІНЕРАЛЬНИМИ ДОБРИВАМИ**

М. Довгаюк-Семенюк, О. Величко, О. Терек

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: maria.dovgauk@rambler.ru*

Досліджували роль метаболізму нітрогену в адаптації рослин конюшини лучної до умов нафтозабрудненого ґрунту. Встановлено, що забруднення ґрунту нафтою спричинювало істотне нагромадження у коренях і пагонах конюшини лучної небілкових нітрогеновмісних сполук, а вміст білкових – або не змінювався (у коренях), або зменшувався (у пагонах рослин). Внесення у забруднений ґрунт безазотних мінеральних добрив сприяло зменшенню нагромадження в органах рослин конюшини низькомолекулярних сполук нітрогену, яке було індуковане забрудненням ґрунту нафтою.

Ключові слова: нітроген, конюшина лучна, нафтове забруднення, мінеральні добрива.

Господарська діяльність людини практично неможлива без використання нафти і нафтопродуктів. Проте функціонування нафтовидобувних і нафтопереробних підприємств, окрім отримання нафти і нафтопродуктів, є також причиною забруднення навколишнього середовища. Надходження нафти до природного середовища можливе у результаті аварій на підприємствах нафтової індустрії, унаслідок втрат нафти під час її транспортування та ін. Екологічні катастрофи, пов'язані з виливами нафти і нафтопродуктів, стали закономірними для сучасної цивілізації. Унаслідок цього системного нафтохімічного забруднення зазнають поверхневі та підземні води, ґрунтовий покрив [3].

Ґрунтові умови після нафтового забруднення негативно змінюються, і ці зміни зберігаються тривалий час (десятиліттями). Упродовж цього періоду забруднений ґрунт стає непридатним для життєдіяльності більшості живих організмів, і рослинних зокрема. Лише окремі вищі рослини здатні адаптуватись до екстремальних умов нафтозабрудненого ґрунту. До таких, зокрема, належать рослини родини Бобових. Показано, наприклад, що у ґрунті з вмістом нафти 5% проростало 46% насіння сої. Нафтове забруднення ґрунту пригнічувало ростові процеси отриманих проростків, проте адаптовані рослини сої вегетували у забрудненому ґрунті й досягали репродуктивної стадії [2].

У наших попередніх дослідженнях виявлено толерантність до умов нафтозабрудненого ґрунту рослин конюшини лучної [6]. Метою подальших експериментів було встановити особливості обміну нітрогену рослин конюшини за умов нафтового забруднення ґрунту, оскільки передбачали, що саме пластичність метаболізму N може бути одним із ключових механізмів адаптації рослин конюшини до забруднення ґрунту нафтою. З метою оптимізувати умови росту рослин конюшини у нафтозабрудненому ґрунті здійснювали їх підживлення мінеральними добривами та досліджували особливості метаболізму нітрогену рослин за цих умов.

Матеріали та методи

Особливості обміну нітрогену під впливом нафтового забруднення ґрунту визначали для рослин конюшини лучної (*Trifolium pratense* L.) сорту Передкарпатська 6. Рослини вирощували у лабораторних умовах. Сухий ґрунт вимішували з нафтою і наповнювали ним горщики. Кількість нафти у ґрунті становила 5%. Наповнені ґрунтом горщики залишали на 30 діб для вивітрювання летких фракцій нафти. Контролем був ґрунт без нафти. У експериментах, де вивчалася можливість стимуляції ростових процесів рослин у забрудненому ґрунті унаслідок підживлення мінеральними добривами, до ґрунту в горщиках вносили мінеральні солі (NH_4NO_3 , NaH_2PO_4 , KH_2PO_4), розраховуючи, аби кількість внесених елементів становила 30 і 60 кг/га. Розрахунок необхідної кількості, наприклад, нітрогену, здійснювали в такий спосіб: грам-молекула NH_4NO_3 (80 г) містить N – 28 г, а в 1 г NH_4NO_3 міститься N – X г, що становить 0,35 г N. Досліджено дію мінеральних елементів у комбінаціях: $\text{N}_{30}\text{P}_{60}\text{K}_{60}$ та $\text{P}_{60}\text{K}_{60}$. Підготовлений ґрунт зволожували і здійснювали посів сухого насіння. Для аналізу використовували 21-добові рослини конюшини.

Вміст білкового і небілкового нітрогену визначали з однієї наважки. Білки осаджували сульфатом міді та відділяли центрифугуванням. Розділені розчини випарювали і спалювали зі сірчаною кислотою та каталізаторами у колбах К'єдаля. Вміст нітрогену у витяжках визначали хлораміновим методом [15]. Результати опрацьовували статистично.

Результати і їхнє обговорення

Метаболізм нітрогеновмісних сполук відіграє важливу роль у життєдіяльності рослин, оскільки N входить до складу білків, ферментів, нуклеїнових кислот і багатьох інших компонентів рослинного організму. Значною мірою спрямованість метаболізму нітрогеновмісних сполук визначає і стійкість рослин до негативних умов навколишнього середовища. Враховуючи те, що пластичність метаболізму нітрогену є одним із важливих чинників пристосування рослин до дії негативних чинників широкого діапазону, вивчали роль метаболізму нітрогену в адаптації рослин конюшини до дії нафтового забруднення ґрунту.

Раніше нами отримані дані, згідно з якими забруднення ґрунту нафтою у кількості 5% інгібувало ріст рослин конюшини лучної [6]. Як виявилось у подальших дослідженнях, пригнічення ростових процесів *T. pratense* L. під дією 5% нафти відбувалося на тлі несуттєвих відхилень кількості загального нітрогену в органах рослин (табл. 1).

Дані табл. 1 засвідчують, що як у коренях, так і в пагонах рослин конюшини вміст загального нітрогену за дії нафтового забруднення ґрунту варіював у межах похибки.

Таблиця 1

Вміст загального нітрогену в органах 21-добових рослин конюшини лучної за умов нафтозабрудненого ґрунту та підживлення мінеральними добривами

Умови вирощування	Довжина, висота, см		Вміст загального нітрогену, % маси сухої речовини	
	корінь	пагін	корінь	пагін
Ґрунт без нафти	7,30±0,79	8,53±0,72	2,89±0,26	4,26±0,41
Ґрунт із вмістом нафти (5%)	5,80±0,96	3,57±0,40	3,12±0,46	4,56±0,4
Ґрунт без нафти + $\text{N}_{30}\text{P}_{60}\text{K}_{60}$	6,20±0,86	9,43±0,99	3,44±1,25	4,79±0,76
Ґрунт із вмістом нафти (5%) + $\text{N}_{30}\text{P}_{60}\text{K}_{60}$	6,50±0,43	5,03±0,83	3,05±0,54	4,97±0,70
Ґрунт без нафти + $\text{P}_{60}\text{K}_{60}$	7,21±0,90	11,75±1,19	2,90±0,30	4,40±0,46
Ґрунт із вмістом нафти (5%) + $\text{P}_{60}\text{K}_{60}$	7,60±0,89	5,30±0,98	3,17±0,38	4,36±0,33

Подібні результати отримані у дослідженнях О.Є. Іванченко, де показано, що забруднення середовища залізом і хромом не спричинювало змін вмісту загального нітрогену в *Tagetes patula*. Ці рослини є стійкими до дії Fe і Cr. Проте суттєве зменшення кількості

кості загального нітрогену спостерігали у чутливого до дії заліза та хрому виду – *Lathyrus odoratus* [7]. Зменшення вмісту загального нітрогену спостерігали й у листках пшениці за умов впливу фітотоксичних концентрацій Pb, Zn, Co [4]. Цікаво, що рівень загального нітрогену знижувався у представників чутливих до дії поллютантів видів і залишався незмінним у органах стійких рослин. Отримані нами дані сталості кількості загального нітрогену в органах рослин конюшини, вирощених у нафтозабрудненому ґрунті, можуть свідчити про толерантність цих рослин до забруднення ґрунту нафтою.

Зміни спрямованості процесів метаболізму нітрогену виражаються співвідношенням білкових і небілкових форм. В органах рослин конюшини під дією нафти кількість білкових форм змінювалася мало, але істотно зростав вміст небілкових нітрогенвмісних сполук. Як видно з рис. 1, практично на рівні контролю залишалася кількість білкового нітрогену в коренях і лише на 7% зменшувалася у пагонах рослин конюшини, що вирощувались у забрудненому ґрунті.

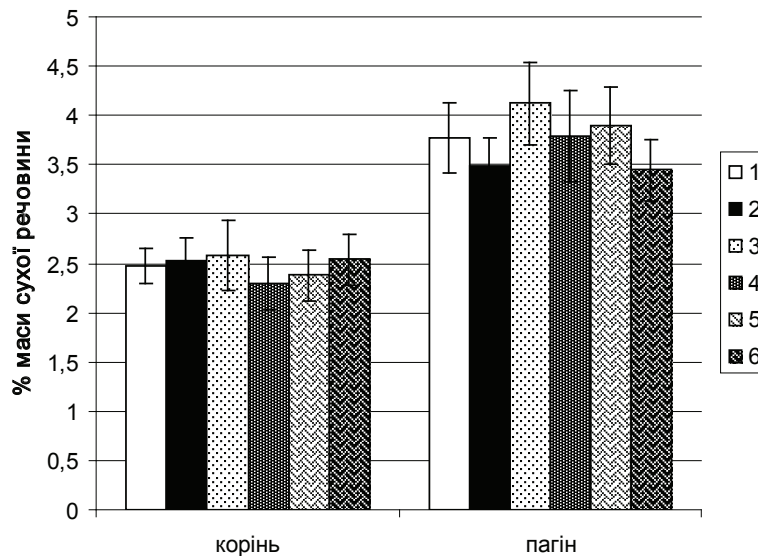


Рис. 1. Вміст білкового нітрогену в органах 21-добових рослин конюшини лучної за дії нафтового забруднення ґрунту і підживлення мінеральними добривами: 1 – ґрунт без нафти; 2 – ґрунт із вмістом нафти (5%); 3 – ґрунт без нафти + $N_{30}P_{60}K_{60}$; 4 – ґрунт із вмістом нафти (5%) + $N_{30}P_{60}K_{60}$; 5 – ґрунт без нафти + $P_{60}K_{60}$; 6 – ґрунт із вмістом нафти (5%) + $P_{60}K_{60}$.

Вміст білкового нітрогену в органах рослин конюшини, вирощених у забрудненому ґрунті з внесеними мінеральними солями, залежав від виду добрива (рис. 1). Так, у разі використання азотовмісних добрив спостерігали незначне зниження кількості білкового нітрогену (на 9%) в коренях та деяке збільшення його кількості у пагонах рослин. Як відомо, підживлення азотними добривами бобових культур не завжди доцільне, бо може призвести до перевищення певного рівня мінерального азоту у ґрунті, що інгібує ріст і розвиток рослин, а також – властиву бобовим рослинам здатність до симбіотичного зв'язування азоту атмосфери [12]. Істотного впливу на вміст білкового нітрогену як у коренях, так і у пагонах рослин конюшини із забрудненого ґрунту не спостерігали й у разі використання добрив без вмісту азоту. Отримані дані щодо неоднозначності впливу $N_{30}P_{60}K_{60}$ та $P_{60}K_{60}$ на кількість білкового нітрогену в органах рослин конюшини вказують на необхідність подальшого дослідження доцільності внесення мінеральних добрив у нафтозабруднений ґрунт.

Отримані нами результати зменшення вмісту білкового нітрогену в пагонах рослин конюшини за дії нафтового забруднення ґрунту (рис. 1) узгоджуються з літературними даними про інгібування білкового синтезу внаслідок дії стресових чинників. Зокрема, І. І. Коршиков спостерігав зниження вмісту білкової форми нітрогену в листках клена гостролистого за умов урботехногенного забруднення середовища [10]. В.П. Тарабрін встановив зменшення кількості білкового нітрогену в листках і коренях дуба звичайного на тлі дії комплексу солей важких металів (Zn+Mn+Cu+Fe) [16]. У досліджах О.Є. Іванченко показано, що вміст білкового нітрогену знижується у *Lathyrus odoratus* при забрудненні середовища залізом і хромом [7]. Дослідники розглядають зниження інтенсивності загального білкового синтезу як розвиток адаптаційного синдрому. Це явище може бути не стільки результатом пошкодження клітини, скільки типовим проявом захисної реакції, а часткове гальмування синтезу білка зменшує інтенсивність деструктивних процесів [9]. Дані про вплив нітрату нікелю на пептидний склад білків, отримані у дослідженнях В. Лашко, засвідчили, що крім зменшення загальної інтенсивності білкового синтезу, унаслідок дії важких металів відбувається активація новоутворення стресових білків [13].

Водночас, коли зміни вмісту білкового нітрогену в органах рослин конюшини під дією нафтового забруднення ґрунту були маловираженими, кількість небілкових азотовмісних сполук змінювалася суттєво.

У наших дослідженнях, результати яких представлені на рис. 2, нафтове забруднення ґрунту спричинило збільшення вмісту небілкового нітрогену в пагонах рослин конюшини удвічі, а в коренях рослин – на 40%. Внесення у нафтозабруднений ґрунт азотовмісних мінеральних добрив ($N_{30}P_{60}K_{60}$) спричинювало ще більше підвищення вмісту небілкового нітрогену: в пагонах – на 9%, а у коренях – на 25%.

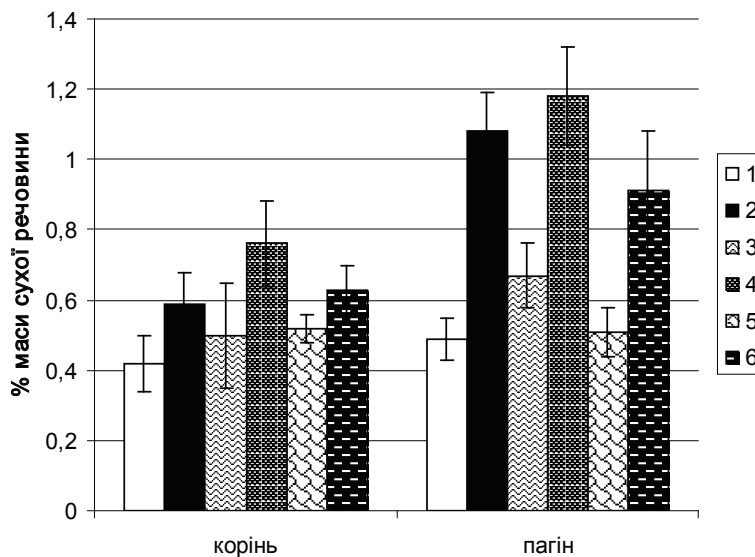


Рис. 2. Вміст небілкового нітрогену в органах 21-добових рослин конюшини лучної за дії нафтового забруднення ґрунту і підживлення мінеральними добривами: 1 – ґрунт без нафти; 2 – ґрунт із вмістом нафти (5%); 3 – ґрунт без нафти + $N_{30}P_{60}K_{60}$; 4 – ґрунт із вмістом нафти (5%) + $N_{30}P_{60}K_{60}$; 5 – ґрунт без нафти + $P_{60}K_{60}$; 6 – ґрунт із вмістом нафти (5%) + $P_{60}K_{60}$.

У разі внесення в нафтозабруднений ґрунт безазотних добрив ($P_{60}K_{60}$) вміст небілкового нітрогену в пагонах рослин конюшини зменшився на 15% (рис. 2). У літературі тра-

пляються дані про збільшення кількості небілкового нітрогену в органах деревних рослин унаслідок урботехногенного забруднення середовища [10], дії солей важких металів [16]. У дослідженнях В. І. Парпан зі співавторами встановлено зменшення вмісту білкового нітрогену на фоні зростання частки його небілкової форми в листках рослин тополі пірамідальної у послідовному ряді: рослини з умовно чистої → помірно забрудненої → середньо забрудненої → максимально забрудненої території [14]. А в роботах О.Є. Іванченко [7] встановлено, що єдиного напрямку змін нагромадження низькомолекулярних нітрогенвмісних сполук у листках *Tagetes patula* при промисловому забрудненні залізом і хромом не виявлено.

Низькомолекулярні сполуки нітрогену, які нагромаджуються за стресових умов, становлять особливий інтерес, оскільки ці речовини не лише посідають важливе місце у формуванні осмотичного потенціалу клітини, а й виконують різні протекторні та регуляторні функції [17]. Причини нагромадження низькомолекулярних нітрогенвмісних сполук дослідники пов'язують із гальмуванням білкового синтезу, або – як результат активного протеолізу [5].

До небілкового нітрогену належить нітроген розчинних у воді сполук: вільних амінокислот, амідів, аміаку, азотистих основ та ін. Проте основну частину небілкової фракції становить вільні амінокислоти, які є головним резервуаром для синтезу нових білкових молекул. У літературі є повідомлення стосовно збільшення кількості вільних амінокислот в органах рослин за дії різних несприятливих екологічних чинників. Оскільки ми спостерігали істотне нагромадження небілкових форм N у пагонах і коренях рослин конюшини під дією нафтового забруднення ґрунту, метою подальших досліджень буде визначити, за рахунок яких саме сполук відбувалося це нагромадження.

Таким чином, у результаті проведених експериментів встановлено, що вміст загального нітрогену в органах рослин конюшини за дії нафтового забруднення ґрунту змінювався неістотно. Це свідчить про толерантність рослин конюшини до умов нафтозабрудненого ґрунту. Також встановлено, що особливістю обміну N у органах *T. pratense* L. під дією нафтового забруднення ґрунту є інтенсифікація процесів синтезу низькомолекулярних нітрогенвмісних сполук на фоні незначного зниження синтезу його білкових форм. Імовірно, нагромаджені низькомолекулярні нітрогенвмісні сполуки в органах рослин конюшини за дії забруднення ґрунту нафтою виконують протекторні функції. Внесення безазотних мінеральних добрив у забруднений ґрунт сприяло зменшенню вмісту небілкових форм нітрогену в органах рослин конюшини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Брей С. Азотный обмен в растениях. М.: Агропромиздат, 1986. 200 с.
2. Величко О. Формування й функціонування бобово-ризобіального симбіозу сої з *Bradyrhizobium japonicum* в умовах нафтозабрудненого ґрунту // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 58. С. 150–157.
3. Воробьев Ю. А., Екимов В. А., Соколов Ю. И. Предупреждение и ликвидация аварийных разливов нефти и нефтепродуктов. М.: Ин-октаво, 2005. 368 с.
4. Гармаш Н. Ю. Влияние металлов на содержание химических элементов в растениях пшеницы // Химия в сельском хозяйстве. 1987. № 3. С. 57–60.
5. Гнатів П. С. Антропогенне зрушення азотного балансу і реакція деревних рослин // Пром. ботаника. 2003. Т. 3. С. 113–119.
6. Довгаюк-Семенюк М., Величко О. Проростання насіння та початкові етапи росту рослин конюшини лучної у нафтозабрудненому ґрунті // Молодь та поступ біології: матеріали X Міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів, (Львів, 15–19 квітня 2013 р.). Львів, 2013. С. 472–473.

7. Іванченко О. Є. Еколого-фізіологічні особливості азотного обміну декоративних одно-річних рослин як індикатора забруднення промислових територій залізом та хромом: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16. Дніпропетровськ, 2006. 20 с.
8. Колесников С. И., Казеев К. Ш., Татосян М. Л. Влияние загрязнения нефтью и нефтепродуктами на биологическое состояние чернозема обыкновенного // Почвоведение. 2006. № 5. С. 6–16.
9. Колупаєв Ю. Є. Стресові реакції рослин: молекулярно-клітинний рівень. Х.: Харків. держ. аграр. ун-т, 2001. 173 с.
10. Коршиков І. І., Виноградова Е. І. Мінливість фізіолого-біохімічних показників листків двох видів клену залежно від індивідуальної стійкості рослин до вихлопних газів автотранспорту // Пром. ботаника. 2000. Т. 4. С. 243–249.
11. Косаківська І. В., Голов'янюк І. В. Адаптація рослин: біосинтез та функції стресових білків // Фітоценол. збірник. 2006. Сер. С. Вип. 24. С. 3–17.
12. Коць С. Я., Ничик М. М., Старченко Е. П. Влияние возрастающих доз азота на интенсивность азотфиксации, усвоение азота и продуктивность люцерны // Агротехника. 1990. № 6. С. 11–17.
13. Лашко В., Вінниченко О. Вплив нітрату нікелю на поліпептидний склад білків у проростаючому насінні кукурудзи // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 60. С. 315–319.
14. Парпан В. І, Миленька М. М. Морфофізіологічні особливості *Populus pyramidalis* в умовах урботехногенного забруднення середовища // Екологія та ноосферологія. 2009. Т. 20. № 3–4. С. 84–90.
15. Починюк Х. Н. Методы биохимического анализа растений. К.: Наук. думка, 1976. С. 72–95.
16. Тарабин В. П. Механизмы устойчивости растений к загрязнению среды тяжелыми металлами // Микроэлементы в обмене веществ и продуктивность растений. К.: Наук. думка. 1984. С. 34–36.
17. Jiang Y., Huang B. Protein alterations in tall fescue in response to drought stress and abscisic acid // Crop Sci. 2002. Vol. 42. P. 202–207.

Стаття: надійшла до редакції 03.10.13

прийнята до друку 07.04.14

THE CONTENT NITROGEN IN THE RED CLOVER PLANTS (*TRIFOLIUM PRATENSE* L.) FOR THE ACTIONS OF OIL POLLUTED SOIL AND PROVIDED WITH FERTILIZERS DRESSING

M. Dovgajuk-Semenuk, O. Velychko, O. Terek

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: maria.dovgajuk@rambler.ru*

Have studied the value of the nitrogen metabolism in the adaptation of the red clover plants (*T. pratense* L.) to the conditions of the oil polluted soil. It was shown that the oil pollution of the soil have caused the significant accumulation of the non-protein nitrogen-containing composites in the roots and shoots of *T. pratense* L., the protein content in roots didn't change, but decreased in the shoots of the plants. Adding the non-nitrogen fertilizers to the polluted soil have assisted the decrease of the accumulation of the low molecular nitrogen composites induced by the soil pollution with oil in the organs of clover plants.

Keywords: nitrogen, *T. pratense* L., the oil polluted soil, fertilizers.

**СОДЕРЖАНИЕ АЗОТА В РАСТЕНИЯХ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО
(*TRIFOLIUM PRATENSE* L.) ПРИ НЕФТЯНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВЫ
И ПОДКОРМКЕ МИНЕРАЛЬНЫМИ УДОБРЕНИЯМИ**

М. Довгаюк-Семенюк, О. Величко, О. Терек

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: maria.dovgauk@rambler.ru*

Исследовали роль метаболизма азота в адаптации растений клевера лугового в условиях нефтезагрязнения почвы. Установлено, что загрязнение почвы нефтью вызывало существенное накопление в корнях и побегах клевера лугового небелковых азотсодержащих соединений, а содержание белковых – или не изменялось (в корнях), или уменьшалось (в побегах растений). Внесение в загрязненную почву безазотистых минеральных удобрений способствовало уменьшению содержания в органах растений клевера низкомолекулярных соединений азота, накопление которых было индуцировано загрязнением почвы нефтью.

Ключевые слова: азот, клевер луговой, нефтяное загрязнение, минеральные удобрения.