

УДК 581.144.2+581.524+581.55

**ВПЛИВ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ НА РОСТОВІ ПОКАЗНИКИ,  
ВМІСТ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ І АКТИВНІСТЬ ПЕРОКСИДАЗИ  
РОСЛИН БОБУ (*VICIA FABA* L.)****О. Карпин, Н. Джура, О. Цвілинюк, О. Терек**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

e-mail: olgakarpyn@ukr.net

Досліджено вплив нафтового забруднення ґрунту на ріст рослин бобу. Встановлено, що нафтове забруднення приводить до зменшення розмірів рослин бобу. Вміст пероксиду водню у листках рослин бобу за дії нафтового забруднення у концентрації 100 г/кг залишається на рівні контролю, а при концентрації нафти у ґрунті 50 г/кг знижується. Водночас активність пероксидази у листках бобу зростає прямо пропорційно збільшенню концентрації нафти у ґрунті.

*Ключові слова:* нафтове забруднення, біб, ріст, пероксид водню, пероксидаза.

Відомо, що нафтове забруднення ґрунту негативно впливає на ріст і розвиток рослин. У ділянках нафтових виливів рослинність практично відсутня, а видовий склад її збіднений [8]. Бобові (*Fabaceae*), поряд із довгокореневищними видами рослин, є стійкими до нафтового забруднення. Дослідники пояснюють стійкість бобових їх здатністю фіксувати атмосферний азот і, таким чином, забезпечувати себе джерелом мінерального живлення у нафтозабрудненому ґрунті, де більшість необхідних рослинні елементів перебуває у недоступній формі через змінені фізико-хімічні властивості ґрунту. Окрім того, кореневі симбіоти бобових із роду *Rhizobium* в умовах нафтового забруднення здатні не лише фіксувати атмосферний азот, але й розкласти вуглеводні нафти і використовувати їх як альтернативне джерело живлення [9, 10]. Автори [13] досліджували участь бобових у фіторемерації ґрунтів, забруднених нафтопродуктами. Результати цих досліджень показали високий адаптаційний потенціал бобових в умовах нафтового забруднення. Рослини не лише виживали за токсичного впливу нафти, а й зберігали досить високі ростові показники. Опираючись на літературні дані, ми вирішили дослідити фізіологічні показники рослин бобу кормового в умовах нафтового забруднення ґрунту.

Нафту вносили до ґрунту в концентраціях 50 і 100 г/кг. Через 4 тижні після внесення нафти у ґрунт висаджували попередньо замочене насіння бобу (*Vicia faba* L.) сорту Пікуловицький. Через 6–8 діб насіння починало проростати. Аналізували 21-добові рослини бобу. У варіанті із рівнем забруднення 50 г/кг проросло 77,5%, а при 100 г/кг – 50% насіння, порівняно з 80% у контролі. Таким чином, відсоток схожості насіння при концентрації нафти 50 г/кг незначно відрізнявся від контролю і залишався досить високим при 100 г/кг. У природі при рівні забруднення 100 г нафти на 1 кг ґрунту рослини практично не ростуть, бо насіння пошкоджується токсичними сполуками нафти, а ті рослини, які розмножуються вегетативно, проникають своїми кореневищами у нафтозабруднений ґрунт лише після вивітріння летких токсичних компонентів нафти за дії фізичних факторів, а потім досить довго адаптуються до несприятливих умов зростання. Так, у попередніх наших дослідженнях рослини осоки шорстковолосистої відновлювали ріст через 1,5-2 місяці після висадження у нафтозабруднений ґрунт [4].

Ріст є одним із найважливіших показників, які характеризують відповідну реакцію рослин на стрес. Отримані нами результати ілюструють особливості пристосування рослин бобу до різного ступеня нафтового забруднення (табл. 1).

Довжина листової пластинки рослин бобу за концентрації нафти у ґрунті 100 г/кг зменшувалася на 15% порівняно з контролем, а ширина листків була меншою, ніж у контрольних, на 7 і 23% у варіантах відповідно до концентрації нафти у ґрунті (50 та 100 г/кг).

Результати дослідження впливу нафтового забруднення на висоту надземної частини рослин бобу показують, що збільшення концентрації нафти у ґрунті приводить до гальмування росту рослин. Значне зменшення розмірів рослин спостерігали при концентрації нафти у ґрунті 100 г/кг. Висота надземної частини рослин бобу у цьому варіанті зменшувалася на 16% порівняно з контролем. У рослин, які зростали за середнього рівня забруднення (50 мл/кг), висота надземної частини зменшувалася незначно.

Оскільки присутність нафти у ґрунті посилює його гідрофобні властивості і, відповідно, погіршує водний режим рослин, зменшення розмірів дослідних рослин може бути наслідком водного дефіциту. Так, згідно із законом Заленського, тривалий водний дефіцит приводить до появи ознак ксероморфності: зменшення розмірів листків, фотосинтезуючих клітин і міжклітинників, посиленого розвитку механічних тканин. Окрім того, товщина листків може зменшуватися за рахунок зміни розмірів клітин і кількості шарів тканин або навіть зникнення певних тканин [5].

Наші результати узгоджуються з даними літератури, у яких вивчався вплив нафтового забруднення на природні та агрофітоценози. Встановлено, що нафтове забруднення ґрунту пригнічує ріст і розвиток вівса, висота якого на забрудненій нафтою території становила 15 см, тоді як на незабрудненій ділянці – 100 см [6]. У наших попередніх дослідженнях показано, що висота надземної частини рослин осоки шершавої за дії нафти у концентрації 100 г/кг знижувалася на 37% [4]. Інгібуючий вплив нафтового забруднення дослідники пояснюють зміною повітряного і гідротермічного режимів, агрохімічних властивостей ґрунтів, зв'язуванням нафтою біогенних елементів, а також прямою дією нафтових кислот і інших токсичних вуглеводнів, які є в нафті, на рослини [2].

Аналіз морфометричних показників осоки шершавої у часовій динаміці показав, що висота надземної частини рослин зі збільшенням концентрації нафти у ґрунті знижується щодо контролю і на наступний рік після висадки рослин [4]. Отримані результати доводять, що фітотоксичність ґрунту і ступінь інгібування росту й розвитку рослин прямо залежить від інтенсивності та довготривалості забруднення, що зумовлено як токсичністю нафти, так і набутими гідрофобними властивостями ґрунту.

У відповідь на дію несприятливих чинників рослинний організм активізує процеси попередження про небезпеку, щоб рослина могла захиститися від пошкодження. Продуктування активних форм кисню (АФК) є однією з найоперативніших реакцій рос-

Таблиця 1

Вплив нафтового забруднення на ріст рослин бобу (*V. faba* L.), см

Концентрація нафти у ґрунті	Висота надземної частини, см	Ширина листків, см	Довжина листків, см
Контроль (ґрунт без нафти)	24,13±0,12	2,88±0,07	4,17±0,09
50 г/кг	22,69±0,15	2,63±0,10	3,71±0,11
100 г/кг	20,27±0,08	2,22±0,09	3,54±0,12

лини у відповідь на стрес. У несприятливих умовах електротранспортний ланцюг порушує свою роботу і замість звичного чотириелектронного відновлення кисню здійснює одно- чи двоелектронне відновлення. Найчастіше результатом такого процесу є утворення агресивного супероксидного аніону, який за допомогою ферменту супероксиддисмутази перетворюється на пероксид водню ( $H_2O_2$ ).  $H_2O_2$  нагромаджується у клітинах і з інших джерел. Концентрація цієї активної форми кисню коливається у досить широких межах, залежно від компартменту клітини, а також від виду рослини. Нагромадження пероксиду водню відбувається за сольового стресу, охолодження, ультрафіолетового випромінювання, наявності важких металів, забрудників атмосфери, механічного пошкодження, нестачі елементів мінерального живлення, патогенної інфекції та ін [6].

Нами проаналізовано вміст пероксиду водню у рослинах *Vicia faba* L. за впливу нафтового забруднення ґрунту. Результати представлені на рис. 1.

Показано, що вміст пероксиду водню у листках рослин бобу у кілька разів перевищує його вміст у коренях рослин. Це можна пояснити наявністю у листках хлоропластів, які є одним із головних джерел активних форм кисню у рослинній клітині. За концентрації нафти у ґрунті 100 г/кг вміст пероксиду водню у листках рослин бобу залишався на рівні контролю і становив у середньому 5,5 мкМ/1 г сирової маси, а за рівня нафтового забруднення 50 г/кг концентрація пероксиду у листках рослин бобу становила 4,4 мкМ/1 г сирової маси. Таке зниження вмісту цієї активної форми кисню можна пояснити активним функціонуванням системи антиоксидантного захисту рослин, котра протидіє кисневому пошкодженню компонентів клітини і забезпечує пристосування рослинного організму до несприятливих умов зростання. Ці дані узгоджуються з результатами досліджень впливу нафтового забруднення ґрунту на рослини осоки, котрі свідчать про інтенсивніший перебіг процесів перекисного окислення ліпідів у листках рослин порівняно з коренями [3]. Це вказує на інтенсивніше утворення високоактивних кисневих похідних саме у листках.

Водночас інтерес викликає зниження вмісту пероксиду водню у коренях рослин, обернено пропорційно зі зростанням концентрації нафти у ґрунті. У контрольних рос-

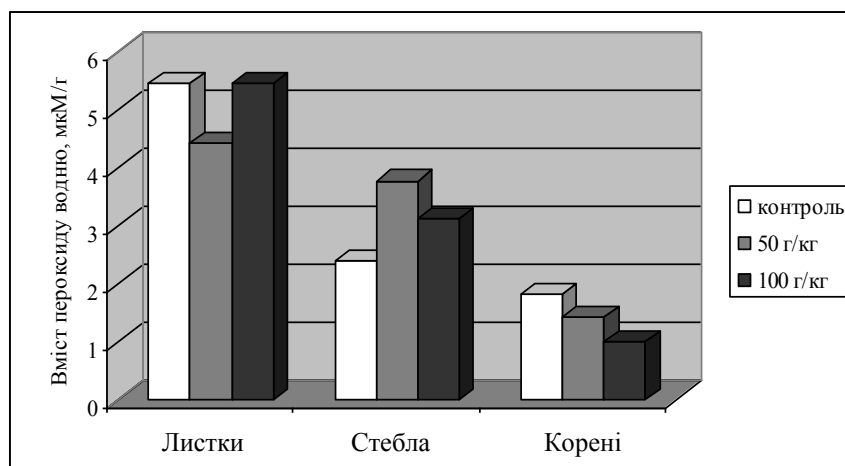


Рис. 1. Вміст пероксиду водню у рослинах бобу (*V. faba* L.) за дії нафтового забруднення, мкМ/1 г сирової маси.

лин вміст водню пероксиду становив 1,8 мкМ/1 г сирової маси і знижувався до 1,4 та 1,0 мкМ/1 г сирової маси за концентрації нафти у ґрунті 50 і 100 г/кг відповідно. Така реакція може свідчити про підвищення активності антиоксидантних процесів зі збільшенням стресового навантаження на рослини.

Результати ряду досліджень показують, що стійкість рослин до несприятливих впливів значною мірою визначається станом захисту рослинного організму від активних форм кисню [5, 6]. На сьогодні нагромаджений великий об'єм експериментального матеріалу, котрий вказує на те, що стійкі види і сорти рослин мають підвищений вміст аскорбату,  $\alpha$ -токоферолу, більшу активність СОД, пероксидази, каталази, глутатіонредуктази й інших ферментів, які беруть участь в елімінації кисневих радикалів. Властивістю рослин є здатність індукувати активність антиоксидантної системи у несприятливих умовах. Зазвичай це відбувається за рахунок збільшення активності окремих компонентів цієї системи, хоча інколи активуються відразу кілька компонентів [6].

Велика роль у підтриманні рослинного організму в необхідному для життя відновленому стані належить ферментові пероксидазі. Цей фермент присутній у всіх мікробних, рослинних і тваринних організмах і реагує на найрізноманітніші впливи, змінюючи набір ізоферментів, або шляхом підвищення активності вже існуючих молекулярних форм [1].

У реакціях, які каталізуються пероксидазами, водень від молекули субстрату переноситься на перекиси, в результаті чого виникають реакційні радикали субстрату. Більшість субстратів цього фермента – сполуки фенольної природи. Окислюючись до хінонів, вони набувають сильних окислювальних властивостей [1]. Феноли та хінони є проміжними продуктами розкладу вуглеводнів нафти і тому при потраплянні останніх у рослину можуть бути додатковими субстратами для ферменту і, таким чином, посилювати його активність.

Практично всі вагомні зовнішні впливи чи зміни метаболізму рослин супроводжуються змінами активності чи ізоферментного спектру пероксидази. Нами проаналізовано вплив нафтового забруднення ґрунту на активність пероксидази листків, стебел і коренів бобу. Отримані результати, представлені на рис. 2, засвідчують, що активність пероксидази у листках бобу зростає прямо пропорційно збільшенню концентрації нафти

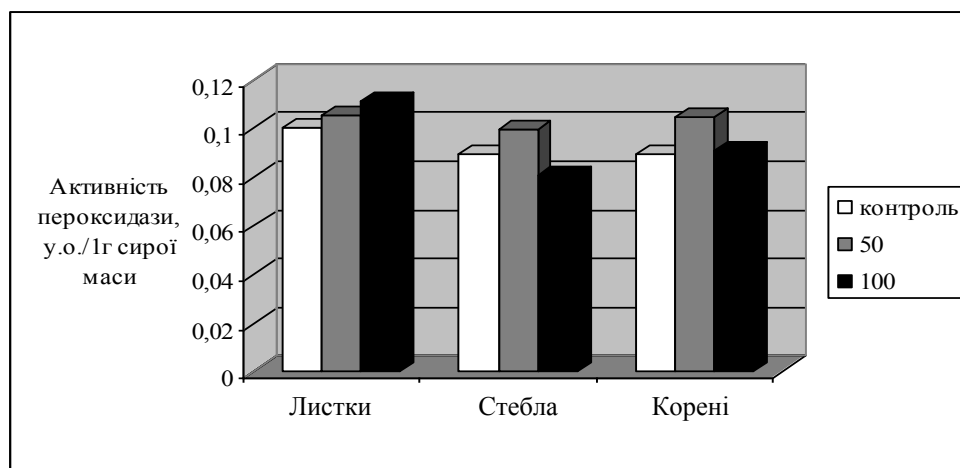


Рис. 2. Активність пероксидази у рослинах бобу (*V. faba* L.) за дії нафтового забруднення, у.о./ 1г сирової маси.

у ґрунті. Власне таке підвищення активності пероксидази веде до зниження вмісту водню пероксиду у листках дослідних рослин за дії нафтового забруднення (рис. 1).

Дозозалежна реакція активності ферменту спостерігалась і у дослідженнях авторів [10], котрі використовували для індукування стресу в рослинах ячменю паракват, пероксид водню та сульфат кадмію. Підвищена активність і зміна ізоферментного складу пероксидаз спостерігалися також при засоленні, водному дефіциті, нестачі кисню, низьких температурах, механічних пошкодженнях [1].

За впливу нафти у концентрації 50 г/кг активність ферменту підвищувалась у стеблах і коренях рослин бобу, а за дії нафтового забруднення 100 г/кг активність ферменту у коренях залишалась на рівні контролю, а у стеблах знижувалась. Підвищення активності ферменту за дії нафтового забруднення свідчить про реакцію рослин, спрямовану на захист від окислення компонентів рослинної клітини.

Отже, зміна активності пероксидаз у різних частинах рослин бобу за дії нафтового забруднення є однією із цілого ряду неспецифічних реакцій рослин на стрес.

1. Андреева В. А. Фермент пероксидаза: Участие в защитном механизме растений. М.: Наука, 1988. 128 с.
2. Андресон Р. К., Мукатанов А. Х., Бойко Т. Ф. Экологические последствия загрязнения почв нефтью // Экология. 1980. № 6. С. 21–25.
3. Джура Н. М., Карпин О. Л., Цвілинюк О. М., Терек О. І. Дія нафтового забруднення на фізіологічні показники осоки шершавої // Матер. XII з'їзду Укр. ботан. т-ва. Одеса, 2006. С. 93.
4. Джура Н. М., Цвілинюк О. М., Терек О. І. Особливості росту осоки шершаволистої (*Carex hirta*) за дії нафтового забруднення // Актуальні проблеми фізіології, генетики та біотехнології рослин і ґрунтових мікроорганізмів: Тези доп. ІХ конф. молодих дослідників. К., 2005. С. 12.
5. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях / Под ред. чл. кор. НАН Украины Е.Л. Кордюм. К.: Наук. думка, 2003. 277 с.
6. Мерзляк Н. Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений // Соросов. образов. журн. № 9. 1999. С. 20–26.
7. Цайтлер М. Й. Відновлення рослинного покриву і зміни структури ценопопуляцій трав'яних рослин на нафтозабруднених територіях Бориславського нафтового родовища: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. Дніпропетровськ, 2001. 16 с.
8. Crowley D. E., Brennerova M. V., Irwin C. et al. Rhizosphere effects on biodegradation 2,5-dichlorobenzoate by a bioluminescent strain of root colonizing *Pseudomonas fluorescens* // Microbiol. Ecol. 1996. N 20. P. 79–89.
9. Frassinetti S., Setti L., Corti A. et al. Biodegradation of dibenzothiophene by a nodulating isolate of *Rhizobium meliloti* // Can. J. Microbiol. 1998. N 44. P. 289–297.
10. Jita Patra, Brahma B. A comparison of biochemical responses to oxidative and metal stress in seedlings of barley, *Hordeum vulgare* L. // Environmental Pollution. 1998. N 101. P. 99–105.
11. Monk L. S., Fagerstedt K. V., Grawford R. M. Superoxide dismutase as an anaerobic polypeptide. A key factor in recovery from oxygen deprivation in *Iris pseudoacorus*? // Plant. Physiol. 1987. 85. P. 1016–1020.

12. *Suominen L.* et al. Evaluation of the *Galega–Rhizobium galegae* system for the bioremediation of oil-contaminated soil // *Environmental Pollution*. 2000. Vol. 107. Issue 2. P. 239–244.

**INFLUENCE OF OIL POLLUTION ON GROWTH PARAMETERS, HYDROGEN PEROXIDE AMOUNT AND PEROXIDASE ACTIVITY OF BEAN PLANTS (*VICIA FABA* L.)**

**O. Karpyn, N. Djura, O. Terek, O. Tsvilnyuk**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail:olgakarpyn@ukr.net*

Oil pollution of soil causes reduction of growth parameters of bean plants. Hydrogen peroxide concentration in leaves of bean under concentration of oil in soil 100 g/kg remains on control level and decreases under 50 g/kg. Peroxidase activity in bean leaves correlates positively with increasement of oil concentration in soil.

*Key words:* oil pollution, bean, growth, hydrogen peroxide, peroxidase.

Стаття надійшла до редколегії 22.05.08

Прийнята до друку 05.06.08