

УДК 633.11:581.1:504.054:543.275.2

© 2011

*Колеснікова Л. А., здобувач**
Полтавська державна аграрна академія

ВПЛИВ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ НА ХЛОРЕНХІМНИЙ КОМПОНЕНТ ЛИСТКА ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ

Рецензент – доктор сільськогосподарських наук, професор Г. П. Жемела

Проведено морфометричний аналіз динаміки вмісту хлоренхімного компоненту листкової пластинки (далі – ЛП) четвертого листка проростків пшениці ярої, вирощених на ґрунті з модульованим забрудненням, відповідно, наступних рівнів: 0; 5; 10; 30; 40; 50 мл сирової нафти на 1 кг ґрунту. Мікроскопічно виявлено три ефекти впливу нафтозабрудненого ґрунту на розвиток хлоренхіми ЛП. Встановлено, що малі дози нафтового забруднення (5 мл/кг) стимулюють процеси проліферації та фізіологічної гіпертрофії хлоренхімних клітин, у цитоплазмі яких суттєво збільшується кількість зерен хлорофілу. Середні дози (10–20 мл/кг) суттєво не впливають на розвиток хлоренхіми, а великі (40–50 мл/кг) викликають її незворотні зміни.

Ключові слова: морфометрія, хлоренхіма, хлоропласти, листкова пластинка, нафтове забруднення.

Постановка проблеми. Добре відомо, що нафтозабруднені ґрунти не здатні повноцінно виконувати свої екологічні та сільськогосподарські функції [1]. Це обумовлено тим, що під впливом складових компонентів сирової нафти відбуваються глибокі незворотні зміни фізико-хімічних, мікробіологічних властивостей ґрунту, що негативно впливає на живу систему «ґрунт – рослина» і є причиною деградації родючих земель. Фітотоксичність нафтозабруднених ґрунтів призводить до суттєвого уповільнення розвитку й функціональної активності сільськогосподарських рослин [3]. Тому проблема зменшення фітотоксичності ґрунтів, забруднених сировою нафтою, та можливість використання для їх рекультивативної рослин – вкрай актуальна для України, зокрема Полтавщини [2, 4, 6].

Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. Система «ґрунт – рослина» знаходяться у тісному співіснуванні. Відомо, що деякі нафтові вуглеводні здатні до транслокації у клітини, судини сільськогосподарських культур, а далі – через трофічні ланцюги – в організм людини, що може завдати

значної шкоди здоров'ю [10–12]. В окремих наукових дослідженнях вказується на прямий зв'язок між рівнем забруднення родючого шару ґрунту сировою нафтою та зменшенням схожості, подальшого розвитку проростків пшениці ярої [2, 7]. Негативний вплив компонентів сирової нафти на метаболізм клітин надземних частин рослин проявляється у пригніченні фізіологічних процесів, у тому числі фотосинтезу у клітинах хлоренхіми [8]. Поскілки хлоренхіма і фотосинтетичні органоїди (хлорофіл) формуються на ранніх етапах росту й розвитку надземних частин пшениці ярої, зміна мікроструктури цих біооб'єктів виступає досить чутливим індикатором функціонального стану листкової пластинки рослин [8–9].

Мета досліджень – виявлення особливостей впливу різних доз нафтового забруднення ґрунту на мікоморфологію хлоренхіми та хлорофілу надземних частин проростків пшениці ярої.

Об'єкт дослідження: ЛП четвертого листка проростків пшениці ярої, вирощені на ґрунтах із модульованим забрудненням, відповідно, наступних рівнів: 0; 5; 10; 30; 40; 50 мл сирової нафти на 1 кг ґрунту.

Методика проведення досліджень. Для мікроскопічних досліджень вирізали центральну частину листкової пластинки шириною 1–2 мм у десяти проростків у шестиразовій повторності. Отримані зразки ЛП обробляли за класичною методикою приготування препаратів для електронної мікроскопії [5]. Напівтонкі поперечні зрізи ЛП досліджували за допомогою методів морфометрії за оптичного збільшення 700^x мікроскопу XS-4130. Визначали наступні кількісні показники мікроструктури ЛП: об'ємну частину хлоренхіми – Vv^{xl} , у %; середню площу зрізів клітин хлоренхіми – $S\bar{O}$, мк²; кількість зображень клітин хлоренхіми на тотальному зрізі ЛП – $N(\text{кл. хл})$; об'ємну частку хлорофілових зерен у клітинах хлоренхіми – $Vv(\text{хл. зер})$, у %; сумарну площу, яку займають зерна хлорофілу у гістопрепаратах клітин хлоренхіми – $S_{\text{хл}}$, у мк².

* Керівник – доктор сільськогосподарських наук, професор П. В. Писаренко

Результати морфометричних вимірювань опрацьовували за допомогою методів варіаційної статистики з використанням пакетів програм Statistica 4.5, Microsoft Excel 2003. Визначали середні значення морфометричного показника та інтервали їх коливання.

Результати дослідження. У всіх групах спостережень хлоренхіма займає центральну частину ЛП й утворена розсипчасто розміщеними хлоренхімними клітинами, що виконують і забезпечують процеси фотосинтезу (рис. 1). Виявляється гетерогенність цих клітин, що обумовлено їх функціональним станом. Наявність міжклітинників і прорихів забезпечує клітинам хлоренхіми оптимальні умови для газообміну та процесів фотосинтезу. Залежно від освітлення листка відбувається активне переміщення гранул хлорофілу у цитоплазмі хлоренхімоцитів. Морфологічно це проявляється у розміщенні зерен хлорофілу в центральній зоні на периферії хлоренхімоцитів. За нашими даними, на хлоренхіму припадає від 50–60 % об'єму ЛП четвертого прикореневого листка пшениці ярої. Специфіка функції клітин хлоренхіми визначається наявністю в їх цитоплазмі багаточисленних «зерен» хлоропластів. Саме в цих рослинних органідах відбуваються ферментативні процеси утворення із відносно простих сполук (CO_2 , H_2O) високомолекулярних органічних речовин, що необхідні для анаболічних процесів росту та розвитку зелених рослин, у тому числі й проростків пшениці ярої.

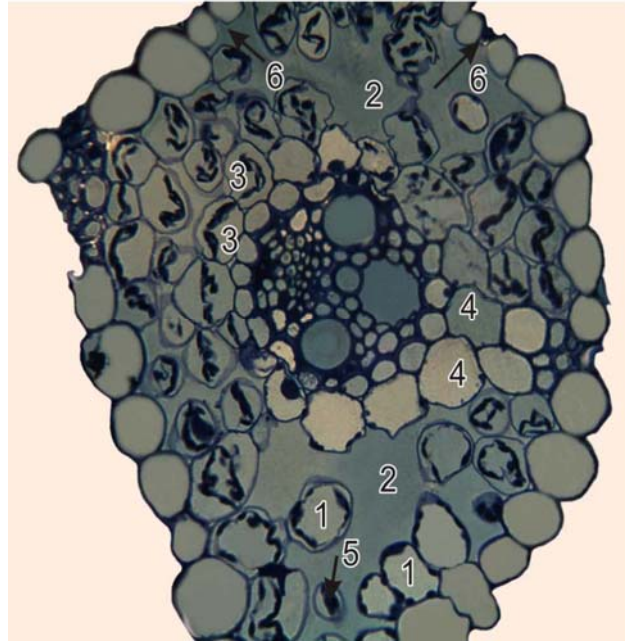


Рис. 1. Мікроструктура ЛП проростка пшениці ярої в нормі. Зб. 400*, заб. – метиленовий блакитний.
 1 – хлоренхімні клітини мезофілу;
 2 – макропора у центральному гребені;
 3 – хлоропласти в центрі хлоренхімних клітин; 4 – облягаючі клітини центрального СВП;
 5 – малодиференційовані клітини.

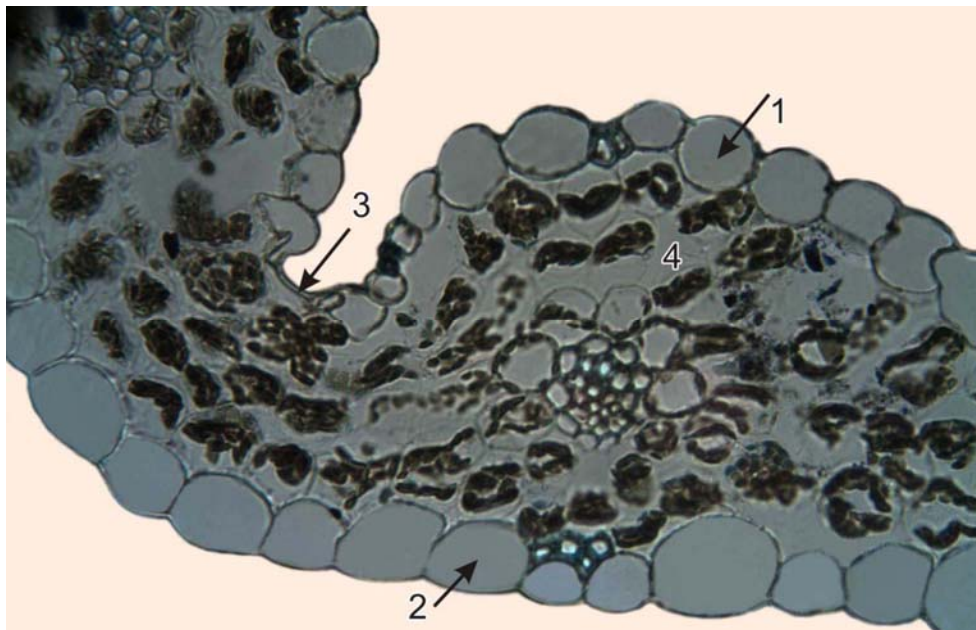


Рис. 2. Мікроструктура ЛП проростка пшениці ярої за концентрації сирої нафти у ґрунті 5 мл/кг. Зб. 400*; заб. – метиленовий блакитний; 1 – епідерміоцити зовнішнього контуру ЛП; 2 – епідерміоцити внутрішнього контуру ЛП; 3 – епідермальні рухомі клітини у стані дегідратації складної форми; 4 – скупчення зерен хлорофілу в цитоплазмі хлоренхімних клітин.

Залежно від дози нафтового забруднення ґрунту змінюється спрямованість, вираженість структурних змін і пошкодження в асимілюючій паренхімі ЛП. За концентрації нафти у ґрунті 5 мл/кг визначається збільшення розмірів ЛП і ріст вмісту хлоренхіми (рис. 2), об'ємна частка якої збільшується від 49,0 % (у нормі) до 59 % \pm 2,0 %.

Ріст об'ємної частки хлоренхіми обумовлений збільшенням сумарної площі зрізів клітин хлоренхіми в ЛП від $210,7 \cdot 10^3$ мк² у нормі до $387 \cdot 10^3$ мк² (рис. 3). Отже, спостерігається стимуляція процесів анаболізму та збільшення вмісту асимілюючої паренхіми в ЛП відносно норми в 1,84 разу. За дози нафтового забруднення ґрунту 10 мл/кг, відносно норми спостерігається певне уповільнення росту хлоренхіми ЛП четвертого листка. Це проявляється у незначному зменшенні об'ємної частки хлоренхіми в ЛП і зменшенні площі асимілюючої тканини від $210,7 \cdot 10^3$ мк² (у нормі), до $196,8 \cdot 10^3$ мк². При збільшенні дози нафтового забруднення ґрунту від 20 до 50 мл/кг спостерігається поступове зниження вмісту хлоренхіми в ЛП від $170,5 \cdot 10^3$ мк² до $122 \cdot 10^3$ мк². За максимальної концентрації сирої нафти в ґрунті 50 мл/кг вміст хлоренхіми в ЛП, порівняно з нормою, зменшується в 1,73 разу.

Наведені дані переконливо свідчать про те, що відносно високі дози нафтового забруднення ґрунту негативно впливають на розвиток проростків пшениці ярої, знижують вміст у прикореневих листках асимілюючої тканини.

Основу хлоренхіми складає значна кількість живих клітин, взаємопов'язаних одна з одною міжклітинними контактами. Доцільно припустити, що зміни вмісту в ЛП хлоренхіми безпосередньо обумовлені: «збільшенням \leftrightarrow зменшенням»

числа клітин; «збільшенням \leftrightarrow зменшенням» розмірів клітин, що проявляється у динаміці середньої площі на поперечних зрізах ЛП.

На рис. 4 наведені графіки зміни середньої кількості зрізів клітин хлоренхіми, а на рис. 5 – середньої площі зрізів цих клітин у ЛП залежно від дози нафтового забруднення ґрунту. Форма емпіричних графіків свідчить про зменшення числових значень морфометричних показників $N_{хл}$ і S_{ϕ} у досліджуваному інтервалі доз нафтового забруднення ґрунту (5–50 мл/кг). Так, за малих доз нафтового забруднення ґрунту (5 мл/кг) морфометричні дані вказують на наявність процесів активної проліферації й водночас фізіологічної гіпертрофії клітин хлоренхіми в ЛП. Кількість зрізів цих клітин зростає від 600 (у нормі) до 780 ± 50 . Спостерігається також збільшення середньої площі їх зрізів від 350 мк² (у нормі) до $500 \text{ мк}^2 \pm 50$. Фізіологічна гіпертрофія клітин хлоренхіми обумовлена не тільки збільшенням вакуолярного простору, але й, передусім, ростом вмісту в цитоплазмі таких клітин кількості хлоропластів (рис. 2). На це вказують також і дані морфометричних досліджень. Якщо в нормі об'ємна частка хлоропластів у клітинах асимілюючої тканини становить 19 %, то за нафтового забруднення ґрунту 5 мл/кг, вона суттєво збільшується (до 28,4 % \pm 2,0 %). За норми сумарна площа хлоропластів хлоренхіми ЛП становить $40 \cdot 10^3$ мк², за нафтового забруднення ґрунту 5 мл/кг ця площа зростає до $110 \cdot 10^3$ мк² \pm 500 мк² (рис. 3). Аномальний ріст хлоренхіми у ЛП викликають, ймовірно, органічні сполуки, що входять до складу сирої нафти. У малих концентраціях компоненти нафти стимулюють процеси анаболізму в клітинах хлоренхіми.

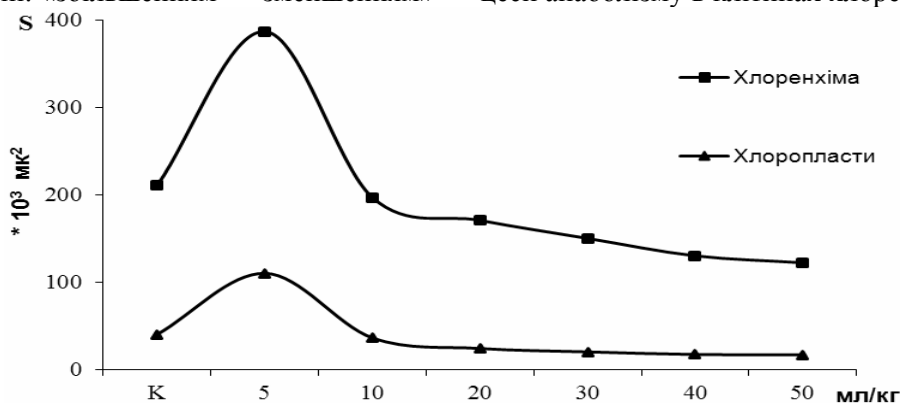


Рис. 3. Графіки зміни площі хлоренхіми і хлоропластів на поперечних зрізах ЛП четвертого прикореневого листка проростків пшениці. По вісі абсцис – концентрація сирої нафти у ґрунті (мл/кг); по вісі ординат – площа структурних компонентів ЛП (мк²).
К – контрольні значення показників (норма).

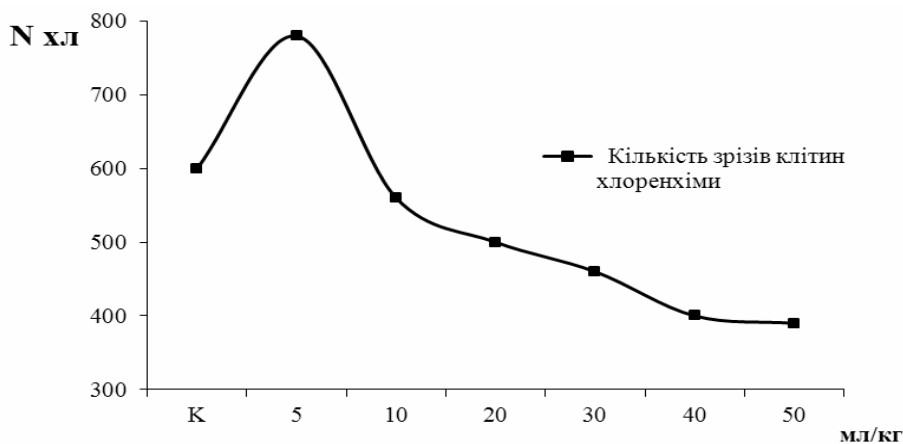


Рис. 4. Графік зміни кількості зрізів клітин хлоренхіми ($N_{хл}$) на поперечних зрізах ЛП четвертого прикореневого листка проростків пшениці. По вісі абсцис – концентрація сирової нафти у ґрунті (мл/кг); по вісі ординат – кількість зрізів клітин хлоренхіми. К – контрольні значення показників (норма).

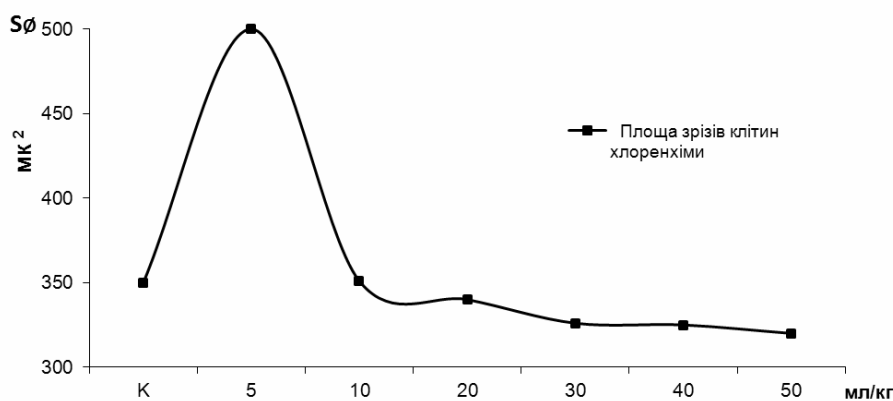


Рис. 5. Графік зміни площі зрізів клітин хлоренхіми (S_{ϕ} , мк²) на поперечних зрізах четвертого прикореневого листка проростків пшениці. По вісі абсцис – концентрація сирової нафти у ґрунті (мл/кг); по вісі ординат – середня площа зрізів клітин хлоренхіми. К – контрольні значення показників (норма).

В умовах нафтового забруднення ґрунту за концентрації нафти 10 мл/кг у хлоренхімному компоненті ЛП спостерігається певне зменшення кількості зрізів клітин – від 600 (у нормі) до 560. При збільшенні концентрації нафти в ґрунті від 20 мл/кг до 50 мл/кг, кількість зрізів клітин хлоренхіми повільно зменшується – від 500 до 390 ± 40 (рис. 4). При цьому, відносно норми (600 клітин), в умовах максимального нафтового забруднення ґрунту число зрізів клітин хлоренхіми ЛП зменшується \approx в 1,5 разу. Результати досліджень свідчать, що дози нафтового забруднення ґрунту від 10 мл/кг до 50 мл/кг не значно впливають на середні розміри клітин хлоренхіми. Спостерігається певна стабільність значень середньої площі зрізів цих клітин. У межах похибки вимірювань, середня площа зрізів клітин хлоренхіми становить 325 ± 15 мк², що близько

норми (350 ± 15 мк²) (рис. 5). Наведені дані дали змогу встановити, що зниження вмісту в ЛП домінуючого компонента хлоренхіми обумовлено зменшенням кількості асимілюючих клітин при відносно незмінному їх розмірі. Результати морфометрії хлоропластів у клітинах хлоренхіми свідчать про те, що зі збільшенням нафтового забруднення ґрунту (від 20 мл/кг до 50 мл/кг) несуттєво зменшується відносний об'єм цих органел (від 14 % до 13 % $\pm 1,0$ %). Однак у метричному вираженні сумарна площа хлоропластів значно знижується – від $23,9 \cdot 10^3$ мк² (20 мл/кг) до $16,5 \cdot 10^3$ мк² (50 мл/кг) (рис. 3).

Таким чином, результати проведених морфометричних досліджень дали змогу виявити три основні ефекти впливу органічних сполук сирової нафти на мікроморфологію хлоренхіми:

перший ефект – стимуляція анаболічних

процесів у хлоренхіми ЛП за малих доз нафтового забруднення ґрунту (5 мл/кг);

другий ефект – інгібування процесів анаболізму в хлоренхімі ЛП, а за відносно великих доз нафтового забруднення ґрунту (40–50 мл/кг) – розвиток процесів атрофії та деструкції клітин хлоренхіми й руйнування хлоропластів;

третій ефект – резистентність, стійкість проростків пшениці ярої до впливу нафтового забруднення ґрунту за дози в інтервалі значень (10–20 мл/кг). За цих умов розвиток вегетативних органів пшениці ярої мало відрізняється від норми, про що свідчать параметри структурної організації хлоренхіми ЛП четвертого прикореневого листка.

Висновки: 1. Проведено морфометричний аналіз динаміки вмісту хлоренхімного компо-

ненту ЛП четвертого листка проростків пшениці ярої, вирощених на ґрунті з модульованим забрудненням, відповідно, наступних рівнів: 0; 5; 10; 30; 40; 50 мл сирової нафти на 1 кг ґрунту.

2. Виявлено три ефекти впливу різних доз нафтового забрудненого ґрунту на розвиток хлоренхіми ЛП.

3. Встановлено, що незначні дози нафтового забруднення (5 мл/кг) стимулюють процеси проліферації та фізіологічної гіпертрофії хлоренхімних клітин, у цитоплазмі яких суттєво збільшується кількість зерен хлорофілу. Середні дози (10–20 мл/кг) суттєво не впливають на розвиток хлоренхіми, а великі (40–50 мл/кг) викликають незворотні зміни хлоренхіми, що в кінцевому результаті призводить до загибелі поодиноких проростків пшениці ярої.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. *Гилязов М. Ю.* Агроекологическая характеристика и приемы рекультивации нефтезагрязненных черноземов республики Татарстан / Гилязов М. Ю. – Казань: Фэн, 2003. – 228 с.
2. *Колеснікова Л. А.* Агроекосистема в умовах техногенного навантаження Решетняківського родовища Полтавської області / Л. А. Колеснікова // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2011. – №2 – С. 162–169.
3. *Костишин С. С.* Морфологічні зміни Lemna minor та Elodea canadensis в умовах нафтового забруднення / С. С. Костишин, Н. С. Хорбут // Екологія та ноосферологія. – 2007. – Т. 18, №1–2. – С. 68–76.
4. *Пендерецький О. Г.* Вплив нафтогазодобування на деградацію земель в Україні / О. Г. Пендерецький // Екологія довкілля та безпека життєдіяльності. – 2004. – №5. – С. 36–40.
5. *Пиз Д.* Гистологическая техника в электронной микроскопии / Д. Пиз. – М.: ИЛ, 1983. – 163 с.
6. *Писаренко П. В.* Оцінка екологічного стану сільськогосподарських угідь Полтавської області / П. В. Писаренко, О. О. Ласло // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2009. – №2. – С. 23–25.
7. *Седых В. Н.* Влияние отходов бурения и нефти на физиологическое состояние растений /

В. Н. Седых, Л. А. Игнатьев // Сибирский экологический журнал. – 2002. – №1. – С. 47–52.

8. *Терек О. І.* Фотосинтетичні пігменти рослин Carex hirta L. за умов нафтового забруднення ґрунту / О. І. Терек, Н. М. Джура, О. М. Цвілінюк // Физиология и биохимия культурных растений. – 2008. – Т. 40, №3. – С. 238–243.

9. *Шадчина Т. М.* Влияние почвенной засухи и засоления на фотосинтез и параметры индукции флуоресценции листьев яровой пшеницы / Т. М. Шадчина, В. А. Стороженко, Д. А. Лихолат // Физиология и биохимия культурных растений. – 2004. – Т. 36, №6. – С. 520–527.

10. *Шурубор Е. И.* Полициклические ароматические углеводороды в системе «почва-растение» района нефтепереработки (Пермское Прикамье) / Е. И. Шурубор // Почвоведение. – 2000. – №12. – С. 1509–1514.

11. *Adams P., Thomas J. C., Vernon D. M. et al.* Distinct cellular and organismic responses to salt stress // Plant. And Cell. Physiol. – 1992. – V. 33, №2. – P. 1215–1223.

12. *Jones H. G.* Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology // 2 nd Cambridge Univ. Press, 1992. – 296 p.