

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АЗОТНОГО
И АММОНИЙНОГО ПИТАНИЯ НА УСТОЙЧИВОСТЬ
TRIFOLIUM PRATENSE L. К СУЛЬФАТУ СВИНЦА****Чернов В. М., Максютлова А. И., Якупова А. Р.,
Фазлутдинова А. И. ORCID ID 0000-0001-7971-6690,
Суханова Н. В. ORCID ID 0000-0002-6130-6172***Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Башкирский государственный педагогический университет имени М. Акмуллы», Уфа,
Российская Федерация, e-mail: vladcernov936@mail.ru*

Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами, в частности свинцом, подавляет рост и развитие сельскохозяйственных культур, что определяет актуальность поиска путей повышения их устойчивости. Цель исследования – оценить влияние формы азотного питания (нитратной NO_3^- и аммонийной NH_4^+) на устойчивость проростков клевера лугового к токсическому действию сульфата свинца в концентрации 100 μM . Растения культивировали методом водной культуры в контролируемых условиях. На 14-е сутки оценивали морфологические параметры (массу, длину, оводненность) и активность антиоксидантных ферментов (гваяколпероксидазы и каталазы) в побегах и корнях. Установлено, что в контроле форма азота не влияла на накопление биомассы, однако нитратное питание способствовало формированию более оводненных тканей. Наибольшее ингибирование ростовых процессов под действием свинца зафиксировано на аммонийном фоне. Выявлена органоспецифичность ответа антиоксидантной системы: при стрессе на нитратном питании резко возрастала активность каталазы в побегах, тогда как активность пероксидазы перераспределялась между органами в зависимости от источника азота. Полученные результаты свидетельствуют о том, что форма азотного питания выступает важным модулирующим фактором, определяющим как водный статус растений, так и стратегию их антиоксидантной защиты в условиях свинцового загрязнения, что необходимо учитывать при разработке агротехнических приемов.

Ключевые слова: *Trifolium pratense*, токсичность, свинец, азотное и аммонийное питание**ASSESSMENT OF THE EFFECT OF NITRATE
AND AMMONIUM NUTRITION ON THE RESISTANCE
OF *TRIFOLIUM PRATENSE* L. TO LEAD SULFATE****Chernov V. M., Maksyutova A. I., Yakupova A. R.,
Fazlutdinova A. I. ORCID ID 0000-0001-7971-6690,
Sukhanova N. V. ORCID ID 0000-0002-6130-6172***Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
“Bashkir State Pedagogical University named after M. Akmulla”,
Ufa, Russian Federation, e-mail: vladcernov936@mail.ru*

Environmental pollution with heavy metals, particularly lead, inhibits the growth and development of agricultural crops, highlighting the relevance of finding ways to increase their resistance. The aim of this study was to evaluate the effect of the nitrogen form (nitrate NO_3^- and ammonium NH_4^+) on the resistance of red clover seedlings to the toxic effect of lead sulfate at a concentration of 100 μM . Plants were cultivated using the hydroponic method under controlled conditions. On the 14th day, morphological parameters (weight, length, water content) and the activity of antioxidant enzymes (guaiacol peroxidase and catalase) in shoots and roots were assessed. In the control, the nitrogen form did not affect biomass accumulation; however, nitrate nutrition promoted the formation of more hydrated tissues. The greatest inhibition of growth processes under lead exposure was recorded against an ammonium background. An organ-specific response of the antioxidant system was revealed: under stress with nitrate nutrition, catalase activity sharply increased in shoots, while peroxidase activity was redistributed between organs depending on the nitrogen source. The results obtained indicate that the form of nitrogen nutrition acts as an important modulating factor, determining both the water status of plants and their antioxidant defense strategy under lead contamination. This must be taken into account when developing agricultural practices.

Keywords: *Trifolium pratense*, toxicity, lead, nitrate and ammonium nutrition**Введение**

Загрязнение агроценозов тяжелыми металлами, в частности свинцом, является одной из актуальных экологических проблем, оказывающей негативное влияние на рост, развитие и качество сельскохозяйствен-

ных растений [1, 2]. Свинец, поступающий в окружающую среду преимущественно из техногенных источников, способен подавлять ключевые физиологические процессы, такие как фотосинтез и поглощение воды, а также нарушать баланс питательных

элементов в растениях [3]. Устойчивость растительных организмов к токсическому действию тяжелых металлов варьирует в зависимости от видовых особенностей, условий минерального питания и наличия стресс-протекторных веществ [4, 5]. В связи с этим исследование влияния различных форм азотного питания, включая аммонийную, на устойчивость *Trifolium pratense* к токсиканту – сульфату свинца представляется актуальной задачей для разработки агротехнических приемов, направленных на снижение негативных последствий загрязнения тяжелыми металлами.

Цель исследования – оценка влияния азотного и аммонийного питания на устойчивость *Trifolium pratense* к сульфату свинца. Полученные результаты могут быть использованы для разработки рекомендаций по применению удобрений для повышения устойчивости клевера к токсичным веществам, а также для оптимизации условий выращивания этой культуры. Исследование влияния азотного и аммонийного питания на устойчивость клевера к сульфату свинца является важной задачей в области сельского хозяйства и экологии.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служили 14-суточные проростки клевера лугового. Растения по 20 шт. в каждом варианте культивировали методом водной культуры на светоплощадке в условиях контролируемого микроклимата: освещенность 150 кЛк, фотопериод 14 ч, температура воздуха +29 °С, влажность 80–90 %.

Семена стерилизовали 5% раствором гипохлорита натрия с последующим промыванием и проращивали в термостате при +27°С. Равномерно проросшие семена переносили на вегетацию [6, 7].

В качестве источников азота использовали нитрат калия (KNO_3 , хч.) и сульфат аммония ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, хч.): NO_3^- -растения – нитратный источник азота, NH_4^+ -растения – аммонийный источник азота.

На 7-е сутки вегетации в часть сосудов вносили PbSO_4 хч. для создания свинцового стресса. Концентрация свинца составляла 100 μM [8]. Контрольные растения выращивали на дистиллированной воде. На 14-е сутки измеряли морфологические показатели: длину побега, сырую и сухую массу побега и корня. Оводненность тканей рассчитывали по формуле

$$\text{Оводненность} = (\text{сырая масса} - \text{сухая масса}) / \text{сухая масса} [9].$$

Биохимический анализ включал определение активности ферментов антиоксидантной системы: активность гваяколпероксидазы определяли спектрофотометрически при 436 нм [10]; активность каталазы оценивали спектрофотометрически при 410 нм по методу М. А. Корольюк и др., 1988 [11].

Опыт выполняли в трехкратной повторности. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета Microsoft Office Excel [12].

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование влияния различных источников азота (NO_3^- , NH_4^+) на 14-суточные проростки *Trifolium pratense* не выявило статистически значимых различий в сырой и сухой массе побегов и корней между вариантами опыта в контроле (рис. 1–4). Средние значения сырой массы побегов и корней составили $5,41 \pm 1,25$ мг и $2,04 \pm 0,6$ мг, сухой массы – $4,35 \pm 0,25$ мг и $1,73 \pm 0,7$ мг соответственно.

Однако анализ структуры биомассы позволил выявить существенные физиологические различия. У растений, выращенных на нитратном азоте (NO_3^-), наблюдалась тенденция к формированию более оводненных тканей: отношение массы воды к сухой массе в побегах у них составляло $0,25 \pm 0,06$ мг/мг, что в 1,8 раза превышало аналогичный показатель у растений аммонийного варианта (NH_4^+) – $0,14 \pm 0,05$ мг/мг. Более высокая оводненность тканей при нитратном питании, вероятно, связана с накоплением ионов NO_3^- и K^+ в вакуолях в качестве осмотически активных веществ, что усиливает приток воды в клетки. Аммонийное питание, напротив, требует больших энергетических затрат на компартментацию ионов NH_4^+ в вакуолях или их быструю ассимиляцию в аминокислоты, что может ограничивать накопление осмолитов и, как следствие, снижать оводненность тканей [13].

Присутствие в питательной среде сульфата свинца (Pb) индуцировало стрессовый отклик, выразившийся в ингибировании ростовых процессов. Наиболее существенное снижение сырой массы (в 1,3 раза относительно контроля) зафиксировано у растений на фоне аммонийного питания (NH_4^+ + Pb). Нитратный вариант (NO_3^- + Pb) проявил несколько большую устойчивость, демонстрируя снижение сырой массы лишь в 1,1 раза (рис. 1, 2).

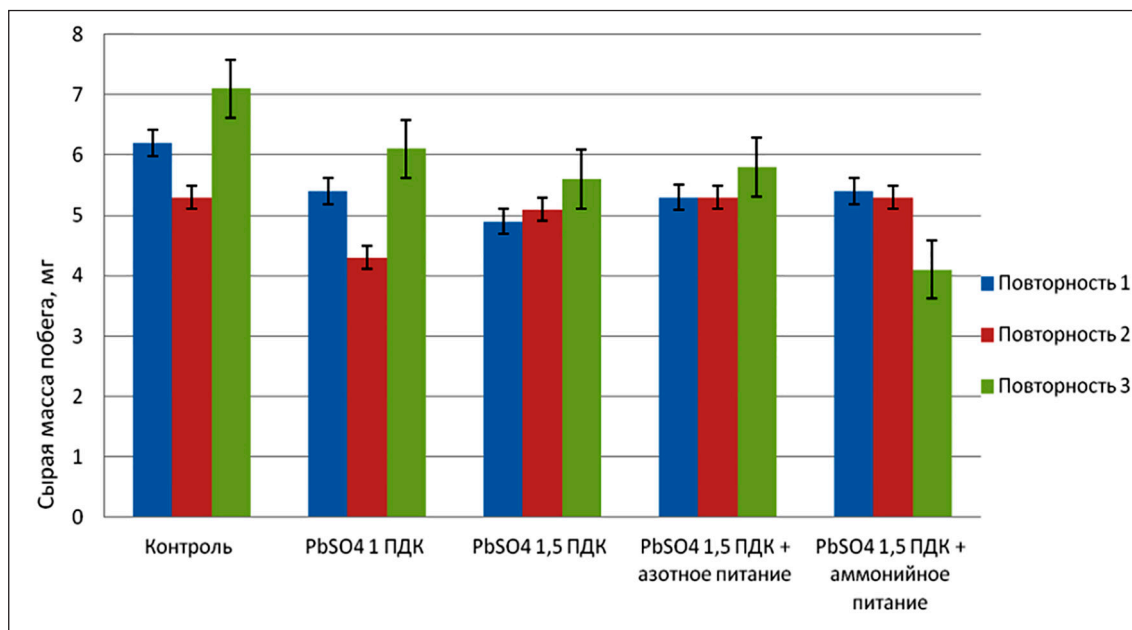


Рис. 1. Изменение сырой массы побега клевера в зависимости от источника азотного питания
Примечание: составлен автором по результатам данного исследования

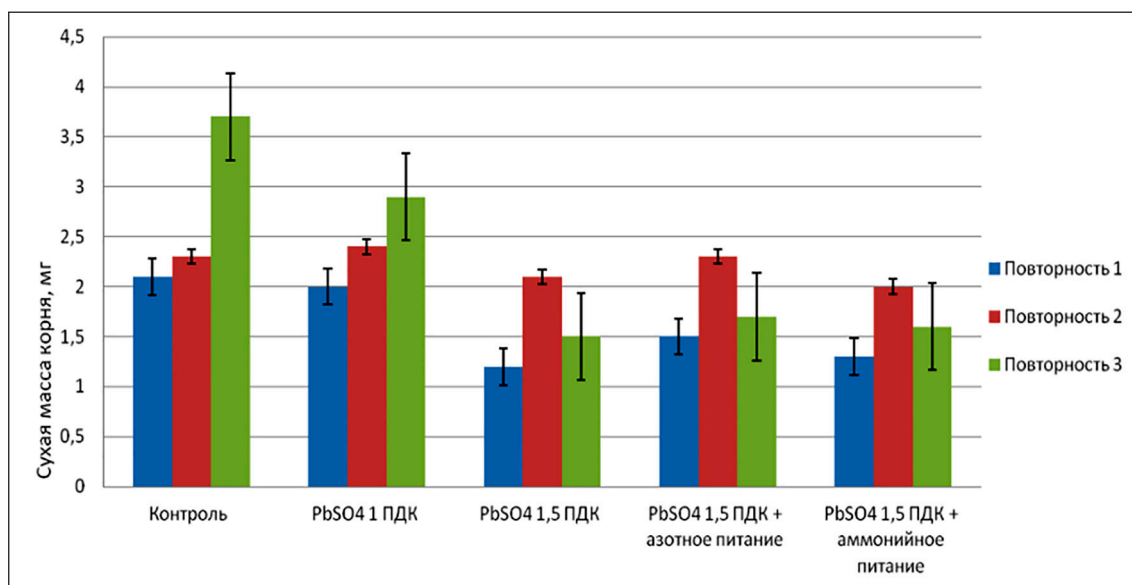


Рис. 2. Изменение сырой массы корня клевера в зависимости от источника азотного питания
Примечание: составлен автором по результатам данного исследования

Ионы тяжелых металлов, включая свинец, нарушают водный обмен, вызывая водный дефицит, и растения с изначально более высоким осмотическим потенциалом (в данном случае на нитратном питании) способны лучше противостоять такому стрессу [14].

Измерение линейных параметров подтвердило общую тенденцию: максимальная длина побегов (33 мм) и корней (31 мм) отмечена при нитратном питании (рис. 5, 6).

Воздействие свинца привело к дифференцированному отклику: в варианте $\text{NO}_3^- + \text{Pb}$ длина корней превышала контрольный показатель в 1,3 раза, что может интерпретироваться как компенсаторная реакция, направленная на увеличение поглощающей поверхности. В то же время аммонийный фон ($\text{NH}_4^+ + \text{Pb}$) усиливал ингибирующее действие токсиканта на ростовые процессы.

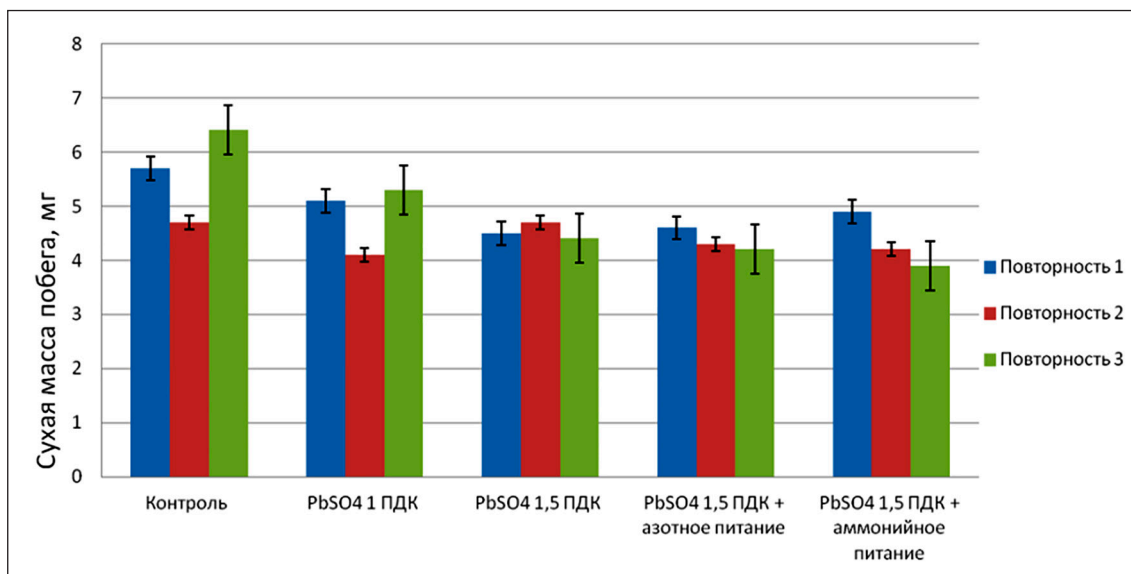


Рис. 3. Изменение сухой массы побегов клевера в зависимости от источника азотного питания
Примечание: составлен автором по результатам данного исследования

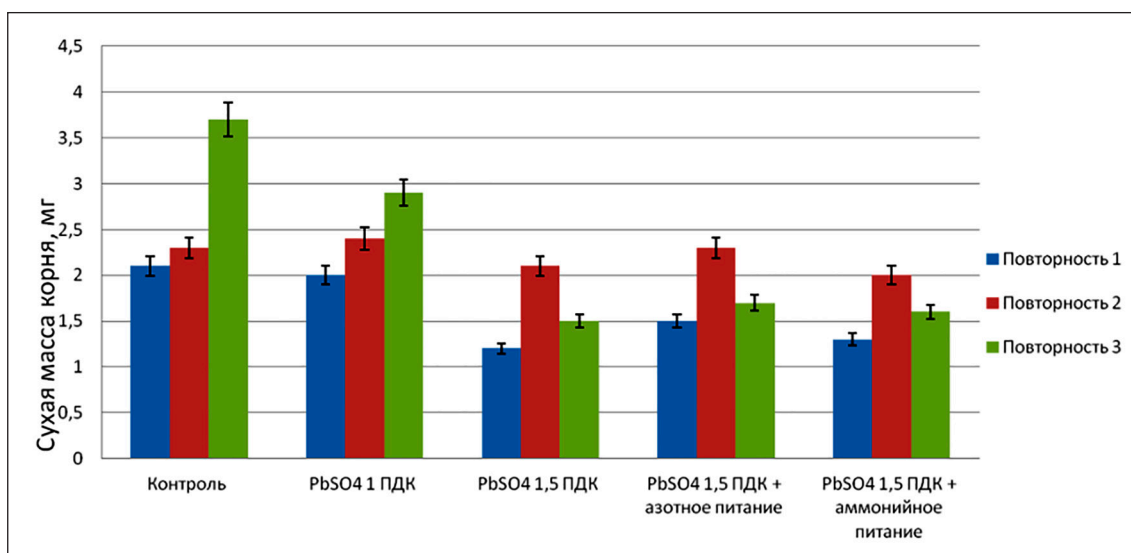


Рис. 4. Изменение сухой массы корней клевера в зависимости от источника азотного питания
Примечание: составлен автором по результатам данного исследования

Характер изменения активности ключевых оксидоредуктаз – гваяколпероксидазы (GPO) и каталазы – имел тканеспецифичную и зависимую от формы азота направленность.

Наиболее высокая активность гваяколпероксидазы зарегистрирована в корнях NO_3^- -растений (105 ОЕ/мг белка). Смена азотного источника на аммонийный приводила к перераспределению активности: в побегах она возрастала в 1,2 раза, а в корнях снижалась в 1,3 раза. Свинцовый стресс вызвал разнонаправленные изменения: при

нитратном питании активность GPO в корнях снижалась, а при аммонийном – возрастала в 1,2 раза. В побегах наблюдалась противоположная реакция: активность фермента увеличивалась в варианте $\text{NO}_3^- + \text{Pb}$ и существенно снижалась (с 23 до 14 ОЕ/мг белка) в варианте $\text{NH}_4^+ + \text{Pb}$. Такая дифференцированная реакция пероксидазной системы связана с перераспределением защитных функций между органами в зависимости от типа азотного метаболизма, что модулирует ответ на стресс, вызванный тяжелым металлом.

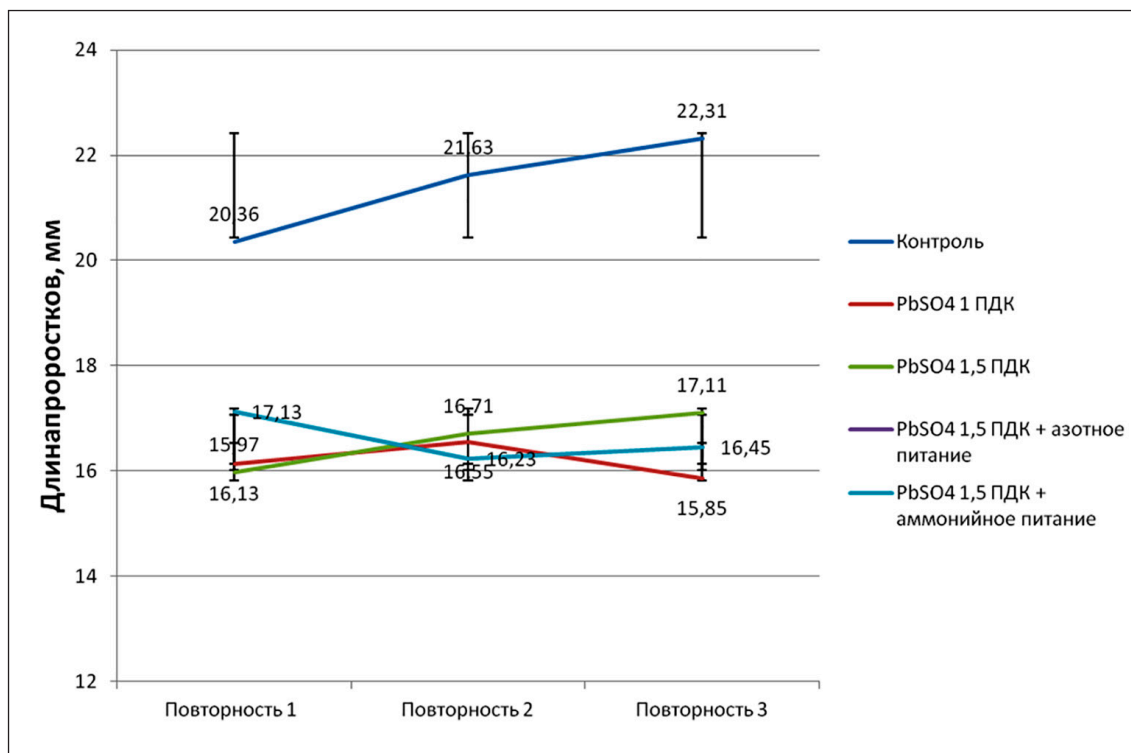


Рис. 5. Изменение длины побегов клевера в зависимости от источника азотного питания
Примечание: составлен автором по результатам данного исследования

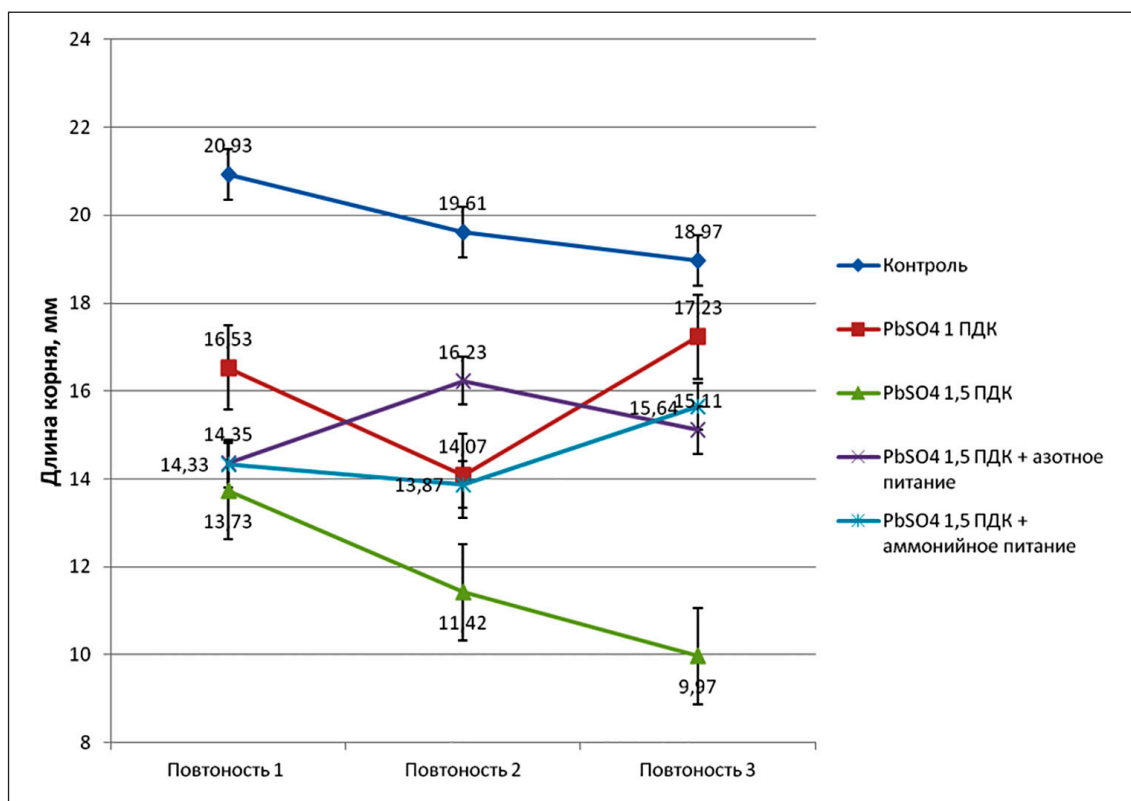


Рис. 6. Изменение длины корней клевера в зависимости от источника азотного питания
Примечание: составлен автором по результатам данного исследования

Активность каталазы, ключевого фермента детоксикации перекиси водорода, была максимальной в побегах. Ее минимальная базальная активность отмечена у NO_3^- -растений (0,46 ОЕ/мг белка). Аммонийное питание вызывало повышение этого показателя в 1,1 раза, что коррелирует с потенциально высоким уровнем генерации активных форм кислорода при ассимиляции NH_4^+ . Воздействие свинца привело к резкой (в 1,7 раза) индукции каталазной активности в побегах NO_3^- -растений, тогда как на аммонийном фоне значимого усиления не происходило. В корнях всех вариантов свинцовый стресс сопровождался подавлением каталазной активности, что указывает на возможное смещение путей нейтрализации H_2O_2 в сторону аскорбат-глутатионового цикла или пероксида [15]. Активация антиоксидантных ферментов, в частности каталазы и пероксидаз, является ключевым звеном в формировании устойчивости растений к окислительному стрессу, индуцированному тяжелыми металлами [16].

Заключение

Морфологический статус проростков *Trifolium pratense* формируется не только общей биомассой, но и ее структурой. При отсутствии значимых различий в сырой и сухой массе между контрольными растениями на разных источниках азота (NO_3^- , NH_4^+) установлено, что нитратное питание приводит к формированию тканей с высокой оводненностью, что указывает на существенное влияние формы азота на водный и осмотический статус растения.

Анализ активности антиоксидантных ферментов выявил четкую зависимость от типа азотного питания и принадлежности к определенному органу. При использовании нитратного источника азота свинцовый стресс сопровождался наиболее выраженным повышением активности каталазы в побегах (в 1,7 раза), тогда как в корнях всех опытных вариантов данный показатель снижался. Для гваяколпероксидазы была характерна смена активности: в варианте с нитратным питанием и добавлением свинца ($\text{NO}_3^- + \text{Pb}$) зафиксировано увеличение активности фермента в побегах при ее снижении в корнях. На аммонийном фоне ($\text{NH}_4^+ + \text{Pb}$) наблюдалась противоположная тенденция – активация пероксидазы в корнях и подавление в побегах. Полученные данные по-

зволяют заключить, что форма азотного питания выступает в роли важного модулирующего фактора, определяющего стратегию антиоксидантной защиты растений клевера лугового в условиях загрязнения среды ионами свинца.

Список литературы

1. Грабовская Н. И. Стрессорное влияние на растения свинца и поиск эффективных адаптогенов // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2017. № 3–1. С. 20–27. EDN: XWNILR.
2. Погорелов А. В., Лазько В. Э., Шматок В. И., Мельченко А. И. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на сельскохозяйственные растения // Рисоводство. 2021. № 4 (53). С. 54–61. DOI: 10.33775/1684-2464-2021-53-4-54-61. EDN: GZLNLA.
3. Селюкова С. В. Тяжелые металлы в агроценозах // Достижения науки и техники АПК. 2020. Т. 34. № 8. С. 85–93. DOI: 10.24411/0235-2451-2020-10815. EDN: BBNRTE.
4. Крюков В. И., Золотухин А. И., Репина Е. Ю., Афонина Е. В. Влияние ионов хрома (VI) и меди в сочетании с низкочастотным (50 Гц) электромагнитным полем на прорастание семян и развитие проростков проса // Биология в сельском хозяйстве. 2017. № 3 (16). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyaniye-ionov-hroma-vi-i-medi-v-sochetanii-s-nizkochastotnym-50-gts-elektromagnitnym-polem-na-prorastaniye-semyan-i-razvitiye> (дата обращения: 20.01.2026).
5. Зенькова Н. Н., Моисеева М. О., Ганущенко О. Ф., Синцерова А. М., Ковалева И. В., Шлома Т. М. Химический состав консервированных кормов из клевера лугового // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. 2025. Т. 61. № 1. С. 49–53. DOI: 10.52368/2078-0109-2025-61-1-49-53. EDN: OGLNQH.
6. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. Введ. 1986-07-01. М.: Стандартинформ, 2011. 64 с.
7. ГОСТ 12039-82. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения жизнеспособности. Введ. 1983-01-01. М.: Стандартинформ, 2011. 41 с.
8. СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания: утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28 января 2021 г. № 2. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2021. 469 с. URL: <https://docs.cntd.ru/document/573500115> (дата обращения: 20.01.2026).
9. Кузнецов В. В., Дмитриева Г. А. Физиология растений: учебник для вузов. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Юрайт, 2025. 893 с. (Высшее образование). ISBN: 978-5-534-20453-7. Текст: электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. [Электронный ресурс]. URL: <https://urait.ru/bcode/558171> (дата обращения: 20.01.2026).
10. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. [и др.]. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. С. 41–43.
11. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–19. EDN: SICXEJ.
12. Позябин С. В., Степанишин В. В., Кондратов Г. В., Жариков А. М. Статистическая обработка данных при научном исследовании: учебное пособие. М.: МГАВМиБ им. К. И. Скрябина. 2023. 61 с. URL: <https://e.lanbook.com/book/392867> (дата обращения: 20.01.2026).

13. Гужвин С. А., Кумачева В. Д., Каменев Р. А. Физиология и биохимия растений: учебное пособие. Персиановский: Донской ГАУ, 2019. 172 с. URL: https://www.dongau.ru/obuchenie/nauchnaya-biblioteka/Ucheb_posobiya/2019/ %D0 %A4 %D0 %B8 %D0 %B7 %D0 %B8 %D0 %BE %D0 %B %D0 %BE %D0 %B3 %D0 %B8 %D1 %8F %D0 %B8 %D0 %B1 %D0 %B8 %D0 %BE %D1 %85 %D0 %B8 %D0 %BC %D0 %B8 %D1 %8F %20 %D0 %93 %D1 %83 %D0 %B6 %D0 %B2 %D0 %B8 %D0 %BD %D0 %A1 %D0 %90 %20 %D1 %81..pdf. (дата обращения: 20.01.2026).
14. Симеониди Д. Д., Бигаева И. М., Агаева Ф. А., Данильянц А. А., Джерапова А. К. Влияние ионов тяжелых металлов (на примере меди и свинца) на состояние и рост растений // Международный научно-исследовательский журнал. 2022. № 12 (126). DOI: 10.23670/IRJ.2022.126.68. EDN: VFWSTS.
15. Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В., Кабашникова Л. Ф. Антиоксидантная система растений: клеточная компартментация, защитные и сигнальные функции, механизмы регуляции (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2019. Т. 55. № 5. С. 419–440. DOI: 10.1134/S0555109919050088. EDN: KAPMBG.
16. Игнатенко А. А., Репкина Н. С., Таланова В. В. Участие каталазы и пероксидазы в повышении устойчивости пшеницы к низкой температуре // Труды КарНЦ РАН. 2018. № 4. Исследования в области биологических наук. С. 74–83. URL: <http://journals.krc.karelia.ru/index.php/thematic/article/view/804>. DOI: 10.17076/them804. (дата обращения: 20.01.2026).

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование: Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Financing: The research was performed without external funding.