

УДК 581.526.3:574.632

**ВЛИЯНИЕ НАГРУЗКИ ПО НИТРАТНОМУ АЗОТУ
И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЕ НА ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ РОГОЗА УЗКОЛИСТНОГО (*TYPHA ANGUSTIFOLIA* L.),
ЕГО АЛЬГИЦИДНУЮ И САНИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ**

К. И. Абрамова, А. А. Ратушняк

*Институт проблем экологии и недропользования АН РТ
Россия, 420087, Казань, Даурская, 28
E-mail: allelop@rambler.ru*

Поступила в редакцию 22.05.09 г.

Влияние нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте на эколого-физиологические особенности рогоза узколистного (*Typha angustifolia* L.), его альгицидную и санирующую активность. – Абрамова К. И., Ратушняк А. А. – Установлено, что залповая нагрузка по нитратному азоту (400 мг/л), салициловой кислоте ($1 \cdot 10^{-4}$ М) влияет на процессы формирования рогозом узколистным (*Typha angustifolia* Linnaeus, 1753) эндо- и экзометаболитов, в свою очередь регулирующих гидрохимический режим среды обитания по нитратному азоту, структуру сопутствующего фитопланктона.

Ключевые слова: *Typha angustifolia*, эндо- и экзометаболиты, нитратный азот, салициловая кислота, качество воды, радиоуглеродный метод.

Nitrate nitrogen and salicylic acid load influence on the ecologo-physiologic features of reed mace (*Typha angustifolia* L.) and its algaecide and sanative activity. – Abramova K. I. and Ratushnyak A. A. – The nitrogen nitrate (400 mg/L) and salicylic acid ($1 \cdot 10^{-4}$ M) bursting load was found to affect endometabolite and exometabolite formation in reed mace (*Typha angustifolia* Linnaeus, 1753). These metabolites can regulate the hydrochemical regime of the environment by nitrogen nitrate and the concurrent phytoplankton structure.

Key words: *Typha angustifolia*, endometabolites, exometabolites, nitrate nitrogen, salicylic acid, water quality, radiocarbon technique.

ВВЕДЕНИЕ

Увеличение антропогенной нагрузки (в том числе азотной) на гидроэкосистемы повышает опасность снижения или истощения способностей их к саморегуляции, самоочищению (Ратушняк, 2002). Данные процессы реализуются за счет взаимодействия физических, химических и биологических процессов (Остроумов, 2002), в том числе с участием высшей водной растительности (Мережко, 1978; Ratushnyak et al., 2007). При этом степень её активности специфична биологическим особенностям вида растений, интенсивности антропогенного воздействия, адаптационным возможностям (Метейко, 1972; Сиренко и др., 1989).

К числу немногочисленных относятся исследования, посвященные поиску химических веществ, способных активизировать адаптационные процессы водных биосистем в ответ на антропогенную нагрузку, в том числе по эффектам воздействия салициловой кислоты, которая, по мнению ряда авторов, обеспечивает устойчивость наземных растений в условиях стресса (Тарчевский, 2002; Alvarez, 2000; Kawano, Muto, 2000).

В связи с этим цель наших исследований – выявить влияние одnorазовой нагрузки по нитратному азоту, салициловой кислоте на особенности формирования эндо- и экзометаболитов рогозом узколистным (*T. angustifolia*), его альгицидную и saniрующую активность.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на протяжении трех вегетационных сезонов, 2005 – 2007 гг., в условиях мезокозм, включавших природную воду объёмом 30 л с сопутствующими гидробионтами и куртинами рогоза узколистного площадью 0.5 м², взятых из чистой заросли рогоза оз. Средний Кабан (г. Казань). Моделировали два типа биотопов – **заросший** (с макрофитом) и **открытый** (без него). В июне в природную воду одnorазово вносили нитратный азот (N) в форме натриевой соли (NaNO₃) в количестве 400 мг/л (10ПДК для водоёмов рыбохозяйственного использования), салициловую кислоту (СК) – 10⁻⁴ М.

Пробы на анализ эколого-физиологических особенностей макрофита отбирали с июля по август (через две и пять недель после постановки эксперимента), гидрохимии и структуры фитопланктонного сообщества – с июля по сентябрь. Контролем служили варианты без добавок. Опыты проводили в трехкратной повторности по схеме: контроль – природная вода (ПВ) без добавок (опыт 1 – ПВ+ N400; опыт 2 – ПВ + N400+СК).

С использованием радиоуглеродного метода исследовали процессы формирования рогозом узколистным эндо- и экзометаболитов. Радиоактивную метку вводили с помощью шприца в виде водного раствора ¹⁴C-ацетата в кончик опытного листа с целью включения меченого ацетата в классы органических соединений. Через две и пять недель (в вегетативной и генеративной фазах) после постановки эксперимента растения расчленили на отдельные части (листья и стебель). Навеску сырого растительного материала последовательно растирали с растворителями для выделения белковой (калийная щелочь 0.2 М) и липидной (ацетон 80%) фракций. Оставшийся после отделения первых двух комплексов растираемый экстракт содержал полисахариды. В полученных фракциях в определенной аликвоте (5 мл сцинтилляционной жидкости (ЖС-1) и 0.2 мкл экстракта) просчитывали радиоактивность (на сцинтилляционном счетчике Дельта-300). О направленности транслокации ассимилятов в растениях судили по распределению радиоактивной метки в листьях и стебле. Радиоактивность всех исследуемых органов принимали за 100% согласно методике А. П. Ивановой (1974).

С целью определения суммарного количественного состава экзометаболитов рогоза узколистного в среде его обитания через месяц после постановки эксперимента отбирали пробы водной среды в объёме 30 мл. Жидкость подвергали поэтапному испарению (по 2 мл) при 30°C, осадок заливали сцинтилляционной жидкостью ЖС-1 и просчитывали радиоактивность. Для выявления особенностей коммуникационной связи макрофита с сопутствующей водной биотой определяли содержание радиоактивной метки в размерных фракциях гидробионтов. Пробы водной среды (0.7 – 1.0 л) подвергали поэтапному фильтрованию на ситах с разным диаметром пор (0.22, 0.20, 0.10, 0.05 мм) и через мембранный фильтр МФА-

МА-№ 1. Осадки на ситах и фильтре, содержащие различные таксономические группы гидробионтов, смывали. Жидкость подвергали испарению, осадки просчитывали на содержание радиоактивного ^{14}C .

Данные по гидрохимии представлены сотрудниками лаборатории биогеохимии ГБУ ИПЭН АН РТ, первичные материалы по структуре фитопланктонного сообщества – Л. Ю. Халиуллиной. Материал статистически обработан с использованием программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о том, что нагрузка по нитратному азоту и салициловой кислоте воздействует на процесс формирования эндометаболитов, в частности на соотношение белкового, липидного и полисахаридного комплексов, и направление транслокации ассимилятов в надземной части рогоза узколистного.

Соотношение белкового, липидного и полисахаридного комплексов. В контрольных вариантах в вегетативной фазе развития рогоза основная часть радиоактивной метки в надземной части включалась в полисахариды (доля радиоактивной метки в субстрате от общей радиоактивности надземной части составила $45.2 \pm 2.5\%$) и в белки ($42.6 \pm 1.4\%$), незначительная – в липиды ($12.1 \pm 2.3\%$). В генеративной фазе развития макрофита тенденция изменилась. Основную часть ассимилятов в надземной части рогоза использовал на формирование белковой фракции – $54.0 \pm 3.43\%$ (липидной – $19.1 \pm 6.3\%$, полисахаридной – $26.8 \pm 5.3\%$) (рис. 1).

Нитратный азот. В условиях нагрузки по нитратному азоту в вегетативной фазе развития рогоза отмечен равномерный синтез трех исследуемых фракций: липидной ($30.7 \pm 3.8\%$), белковой ($35.6 \pm 3.6\%$) и полисахаридной ($33.6 \pm 2.5\%$), тогда как в контрольном варианте – невысокая доля липидного комплекса ($12.1 \pm 2.3\%$) по сравнению с другими исследуемыми фракциями. Таким образом, азотное питание стимулирует синтез липидной фракции. Это согласуется с нашими данными (Ратушняк и др., 2008) о том, что азотное питание активизирует синтез хлорофилла *a* и *b* в листьях рогоза. В генеративной фазе макрофита закономерность менялась. Как и в контроле, основная доля радиоактивной метки включалась в белковую фракцию

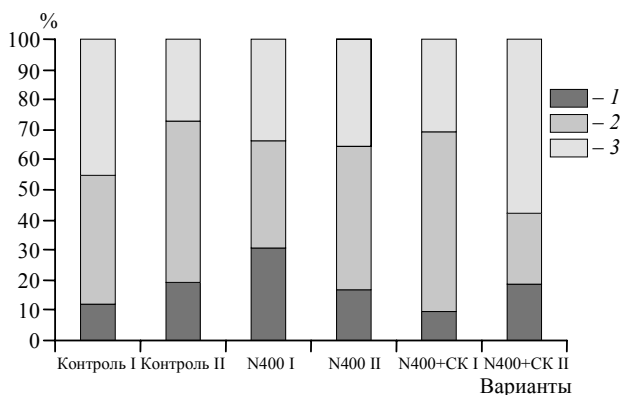


Рис. 1. Распределение радиоактивной метки в белковой, липидной и полисахаридной фракциях надземной части рогоза узколистного в вегетативной и генеративной фазах его развития и в вариантах опыта: 1 – липиды, 2 – белки, 3 – полисахариды

($47.3 \pm 2.6\%$). В липидной она составила $17.1 \pm 3.9\%$, в полисахаридной – $35.6 \pm 2.0\%$ (см. рис. 1).

Таким образом, количественное соотношение белкового, липидного и полисахаридного комплексов надземной части рогоза узколистного специфично условиям минерального питания и фазам развития растения.

Салициловая кислота. Добавление СК в природную воду с азотной нагрузкой стимулировало формирование белковой фракции (доля радиоактивной метки в субстрате от общей радиоактивности надземной части рогоза составила $59.2 \pm 4.4\%$) (см. рис. 1). Это согласуется с данными И. А. Тарчевского с соавторами (1996) о том, что экзогенная салициловая кислота индуцирует образование белка в проростках гороха. Содержание метки в полисахаридах составило $30.9 \pm 5.0\%$, в липидах – $9.9 \pm 3.9\%$. В генеративной фазе основная доля метки в надземной части содержалась в полисахаридах ($57.7 \pm 12.9\%$), тогда как в контроле и в варианте N400 – в белках. Активный синтез белка, отмеченный в начальный период вегетации, по мнению В. И. Чикова с соавторами (1975), позволяет растению достигнуть максимальной фотосинтетической активности, необходимой на последующих фазах развития, когда усиливается углеводная направленность метаболизма углерода.

Направление транслокации ассимилятов. Условия минерального питания оказывают определенное влияние на транспорт ассимилятов по растению (Иванова, 1974).

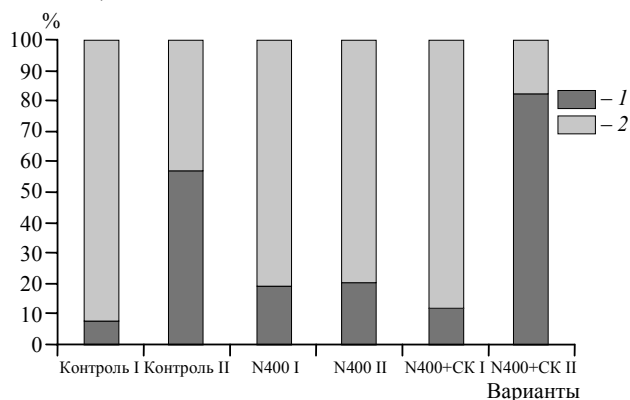


Рис. 2. Распределение радиоактивной метки в органах надземной части рогоза узколистного в вегетативной и генеративной фазах его развития и в вариантах опыта: 1 – стебель, 2 – листья

в условиях отсутствия азотной нагрузки биомасса подземной части превышает таковую надземной.

Сопоставление полученных результатов с таковыми по формированию липидного, полисахаридного и белкового комплексов свидетельствует о том, что в стебле ассимиляты в основном представлены белками ($54.0 \pm 3.4\%$). Можно предположить, что и в составе экзометаболитов содержится значительное количество белков или продуктов их распада. Согласно данным А. А. Ратушняк (2002), в пе-

В контрольных вариантах в вегетативной фазе развития рогоза содержание метки в листьях составило $92.3 \pm 4.5\%$, а в стебле – $7.7 \pm 0.3\%$, тогда как в генеративной – $42.6 \pm 9.1\%$ против $57.4 \pm 5.2\%$ соответственно (рис. 2). Таким образом, отмечен отток эндометаболитов из листьев в стебель, которые, вероятно, направляются в подземную часть рогоза – корневище. Это согласуется с нашими данными (Ратушняк и др., 2008) о том, что у рогоза узколистного

риод активной вегетации макрофитов в составе эндометаболитов доминируют аминокислоты, среди них – наиболее физиологически активные в отношении сопутствующего бактериопланктона – глутаминовая и аспарагиновая кислоты.

Нитратный азот. В условиях нагрузки по нитратному азоту, в отличие от контроля, замедляется отток эндометаболитов из надземных органов растений, что приводит, как было показано нами ранее (Ратушняк и др., 2008), к превышению доли надземной биомассы над подземной. В вегетативной фазе развития макрофита доля радиоактивной метки в листьях составляла $80.7 \pm 10.0\%$, а в генеративной – $79.7 \pm 5.2\%$ (см. рис. 2).

Анализируя полученные результаты, следует отметить, что в вегетативной фазе развития рогоза ассимиляты в листьях представлены белками ($35.6 \pm 3.6\%$), липидами ($30.7 \pm 3.8\%$) и полисахаридами ($33.6 \pm 2.5\%$) примерно в равных количествах, а в генеративной – преобладали белки $47.3 \pm 2.6\%$ (полисахариды – $35.6 \pm 2.0\%$, липиды – $17.1 \pm 3.9\%$).

Салициловая кислота. Добавление СК в природную воду с азотной нагрузкой в генеративной фазе стимулирует отток ассимилятов из листьев в стебель. Если в вегетативную фазу развития рогоза значительная доля радиоактивной метки сосредоточена в листьях ($88.1 \pm 8.3\%$ от общей радиоактивности надземной части), то в генеративную – в стебле ($82.3 \pm 9.1\%$) (см. рис. 2). Данные свидетельствуют о способности салициловой кислоты на фоне нагрузки по нитратному азоту направлять транспорт ассимилятов в нисходящем направлении, как и в контроле. Это позволяет судить о ее действии в качестве антидепрессанта.

Известно, что особенности эндометаболических процессов определяют экскреторную активность макрофитов. Так, их ускорение стимулирует выделение экзометаболитов, специфичных виду растения, периоду вегетации, евтрофной нагрузке по азоту и фосфору (Ратушняк, 2002).

Нами показано, что радиоактивная метка, включившаяся в метаболизм рогоза, обнаруживается в среде обитания. При этом с повышением уровня обеспеченности высшей водной растительности нитратным азотом увеличивается фонд экзометаболитов (в варианте N400 – в 5.5 раз по сравнению с контролем). Это согласуется с данными А. А. Ратушняк (2011) о том, что количественный и качественный составы прижизненных выделений высшей водной растительности (на примере рогоза широколистного) зависят от условий минерального питания и фазы развития. Нитратный азот увеличивает количество экскретируемых соединений, особенно аминокислот.

Выявлено, что радиоактивная метка обнаруживается и в размерных фракциях гидробионтов разных таксономических групп. Из исследуемых нами фракций большая доля (39%) радиоактивной метки отмечена на фильтрах с диаметром 0.20 мм; с диаметром 0.25 мм – 22%; 0.10 мм – 10%; 0.05 мм – 0.8%; на мембранном фильтре – 21%. Это свидетельствует о наличии коммуникационной связи макрофита с сопутствующими гидробионтами, в том числе с фитопланктонным сообществом за счет химических веществ, входящих в состав корневых выделений.

Изучена роль рогоза узколистного в регуляции структуры фитопланктонного сообщества по доминирующей группе и руководящему виду в заросших (с рогозом) и открытых (без него) биотопах.

Структура фитопланктонного сообщества. В *контрольных* вариантах на протяжении исследуемого периода (июль–сентябрь) в открытых биотопах по численности и биомассе доминировали зеленые водоросли – доля от общей численности варьировала от 83.5 до 100%, от общей биомассы – от 98.4 до 100%. В летние месяцы преобладали нитчатые водоросли (не определяли до рода) – доля от общей численности превышала 50%, а осенью – *Chlamydomonas* sp. (57.1%). Тогда как в заросших биотопах – показательная группа относительной чистоты воды – диатомовые (от 52.4 до 91.8% и от 50.5 до 98.3% соответственно), с отсутствием руководящего вида на протяжении всего исследуемого периода (рис. 3).

Нитратный азот. Через месяц после внесения нагрузки по нитратному азоту в природной воде отмечена перестройка структуры альгоценоза в двух типах биотопов.

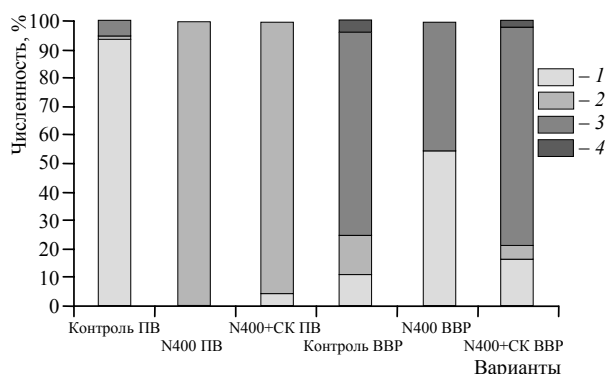


Рис. 3. Средние значения численности зеленых (1), синезеленых (2), диатомовых (3) и эвгленовых (4) водорослей за исследуемый период (июль, август, сентябрь) в вариантах опытов открытых (ПВ) и заросших (ВВР) биотопов

ные с активным развитием *Golenkiniopsis solitaria* Korschikoff, 1953 (92.3 и 73.7%), а в последующие месяцы – восстановление структуры (доминирование диатомовых и отсутствие руководящего вида). В августе доля диатомовых от общей численности составила 86.4%, от общей биомассы – 92.8%, в сентябре – 42.3%, 70.9% соответственно.

Анализ результатов свидетельствует о значительной роли рогоза узколистного в регуляции структуры фитопланктонного сообщества по доминирующей группе и руководящему виду в условиях сверхвысокой нагрузки по нитратному азоту.

Салициловая кислота. Добавление СК в открытые биотопы с нагрузкой по нитратному азоту существенно не изменяло структуру альгоценоза по доминирующей группе, но способствовало перестройке по руководящим видам. По численности продолжали доминировать синезеленые водоросли (90.8 – 98.9%) с преобладанием *Os. planctonica* (90.7 – 98.7%), как и в варианте N400 (см. рис. 3), по биомассе – диатомовые (40.8 – 90.7%).

В заросших биотопах с добавлением СК отмечена смена доминирующих групп (см. рис. 3). На протяжении всего исследуемого периода салициловая ки-

в открытых биотопах на протяжении исследуемого периода доминировали синезеленые водоросли (доля от общей численности варьировала от 98.6 до 99.5%, от общей биомассы – от 56.5 до 61.4%) с преобладанием *Oscillatoria planctonica* Woloszynska, 1911 (от 92.7 до 98.5%) вместо зеленых, как в контроле (см. рис. 3).

В заросших биотопах через месяц после внесения азота отмечена замена доминирующих до внесения азота диатомовых на зеле-

слота стимулировала развитие диатомовых (доля от общей численности составляла 55.9 – 99.9%, от биомассы – 73.8 – 99.9%) с отсутствием руководящих видов, как и в контроле, тогда как в варианте N400 (без СК) развитие данной группы отмечено только с августа (в июле доминировали зеленые).

Таким образом, изменение структуры фитопланктонного сообщества по доминирующей группе под действием салициловой кислоты отмечено только в заросших биотопах (см. рис. 3). Это, вероятно, связано с ее способностью активизировать процессы формирования эндо- и экзометаболитов у рогоза, что отражается на особенностях химической коммуникации между автотрофными составляющими, а также формировании гидрохимического режима среды обитания.

Гидрохимический режим. В контрольных вариантах содержание нитратного азота на протяжении всего исследуемого периода (с июля по сентябрь) в двух типах биотопов различалось незначительно. В открытом оно варьировало от 1.2 до 2.7 мг/л, в заросшем – от 1.7 до 2.3 мг/л.

Нитратный азот. В условиях нагрузки по нитратному азоту в заросшем биотопе через три месяца его содержание составило 2.3 мг/л при 1.7 мг/л в контроле, в открытом – 620.0 мг/л против 1.2 мг/л соответственно.

Это свидетельствует о значительной роли рогоза в снижении сверхвысокой азотной нагрузки в природной воде. С достаточной определенностью можно утверждать, что данный процесс происходил за счет перераспределения азота в системе «вода – макрофиты» в пользу последних за счет активного его включения в метаболические процессы, более длительной и массовой локализации ассимилятов в листьях и стимуляции синтеза белковой, липидной и полисахаридной фракций, а в конечном итоге – экзометаболитов.

Салициловая кислота. На фоне СК в открытых биотопах выявлена тенденция к увеличению нитратного азота в природной воде. В конце вегетационного сезона его концентрация составила 663.0 мг/л против 620.0 мг/л в N400. В заросших биотопах наблюдалась противоположная тенденция. Салициловая кислота стимулировала процесс самоочищения от нитратного азота в природной воде (в июле его содержание составило 1.9 мг/л в N400+СК против 9.4 мг/л в N400, в августе – 0.1 мг/л против 8.0 мг/л, в сентябре – 0.005 мг/л против 2.3 мг/л соответственно).

Вероятно, интенсивное снижение азотной нагрузки в природной воде заросших биотопов на фоне салициловой кислоты осуществляется за счет способности последней активизировать метаболизм рогоза узколистного, воздействуя на продукционные и экскреторные процессы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одноразовая нагрузка по нитратному азоту (400 мг/л) активизирует синтез белковой, липидной и полисахаридной фракций, процесс транслокации ассимилятов в листьях и формирования пула экзометаболитов рогозом узколистным. Последние, в свою очередь, способствуют восстановлению до исходных значений содержания нитратов в среде обитания через три месяца после постановки эксперимента и структуры фитопланктонного сообщества по доминирующей группе и руководящему виду – через два месяца. В открытых биотопах подобный эффект не выявлен.

Салициловая кислота на фоне азота проявляет свойства антидепрессанта, стимулируя синтез белкового комплекса, усиливая выход экзометаболитов, восстанавливая нисходящий отток эндометаболитов, что приводит к усилению эффекта регуляции рогазом узколиственным гидрохимического режима и структуры сопутствующего фитопланктона (восстановление отмечено через месяц после постановки эксперимента).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Иванова А. П.* Влияние некоторых факторов на транспорт ассимилятов у яровой пшеницы : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Казань, 1974. 14 с.
- Мережко А. И.* Эколого-физиологические особенности высших водных растений и их роль в формировании качества воды : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1978. 46 с.
- Метейко Т. Я.* Фитонцидные свойства тростника обыкновенного, произрастающего в водохранилищах Днепровского каскада // Проблемы экологии Прибайкалья. Иркутск : Изд-во «Вост.-сиб. правда», 1972. С. 91 – 92.
- Остроумов С. А.* Сохранение биоразнообразия и качество воды : роль обратных связей в экосистемах // Докл. Академии наук. 2002. Т. 382, № 1. С. 138 – 141.
- Ратушняк А. А.* Эколого-физиологические аспекты регуляции гомеостаза водных биосистем разного уровня организации с участием фитогидроценоза : дис. ... д-ра биол. наук. Н. Новгород, 2002. 280 с.
- Ратушняк А. А.* Ауто- и синэкологические механизмы регуляции гомеостаза гидробиосистем. Объекты, (гидроавто-, гетеротрофы, уровни организации – от субклеточного до экосистемного), методы, результаты, анализ. Saarbrücken : LAP LAMBERT Academic Publishing, 2011. 208 с.
- Ратушняк А. А., Абрамова К. И., Муравьева А. С., Иванов Д. В.* К вопросу о некоторых адаптационных физиолого-биохимических и анатомо-морфологических перестройках *Typha angustifolia* L. в условиях нагрузки по азоту // Вестн. Нижегород. ун-та им. Н. И. Лобачевского. 2008. № 3. С. 98 – 104.
- Сиренко Л. А., Корелякова И. Л., Михайленко Л. Е.* Растительность и бактериальное население Днепра и его водохранилищ. Киев : Наук. думка, 1989. 232 с.
- Тарчевский И. А., Максютова Н. Н., Яковлева В. Г.* Влияние салициловой кислоты на синтез белков в проростках гороха // Физиология растений. 1996. Т. 43, № 5. С. 667 – 670.
- Тарчевский И. А.* Сигнальные системы клеток растений. М. : Наука, 2002. 294 с.
- Чиков В. И., Лозовая В. В., Тарчевский И. А.* Фотосинтез целого растения пшеницы в зависимости от онтогенетического состояния и уровня минерального питания // Физиология растений. 1975. Т. 27. С. 691 – 695.
- Alvarez M. E.* Salicylic Acid in the Machinery of Hypersensitive Cell Death and Disease Resistance // Plant Mol. Biol. 2000. Vol. 44. P. 429 – 442.
- Kawano T., Muto S.* Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid- induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture // J. Exp. Bot. 2000. Vol. 51, № 345. P. 685 – 693.
- Ratushnyak A. A., Ahmetsyanova N. Sh., Gorshkova A. T., Andreeva M. G., Morozova O. V., Abramova K. I., Trushin M. V.* The influence of the community of water macrophytes on regulation of water quality and biodiversity of the Kuibyshev reservoir littorals (Republic of Tatarstan, Russia) // Egyptian J. Biology. 2007. Vol. 9. P. 24 – 31.