

АБРАМОВА Ксения Ивановна

**АУТОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АЛЬГИЦИДНОЙ И
САНИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ РОГОЗА УЗКОЛИСТНОГО
(*TYPHА ANGUSTIFOLIA L.*) В УСЛОВИЯХ НАГРУЗКИ
ПО НИТРАТНОМУ АЗОТУ**

03.00.16 – экология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Н.Новгород
2009

Работа выполнена в лаборатории гидробиологии
Государственного бюджетного учреждения «Институт проблем экологии и
недропользования Академии наук Республики Татарстан» (ГБУ ИПЭН АН РТ)

Научный руководитель: доктор биологических наук
Ратушняк Анна Александровна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Веселов Александр Павлович

доктор биологических наук, доцент
Степанова Надежда Юльевна

Ведущая организация: Институт экологии Волжского бассейна
РАН (г. Тольятти)

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2009 г. в _____ ч.
на заседании диссертационного совета Д.212.166.12 при Нижегородском
государственном университете им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603950,
г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, корп. 1, биологический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Нижегородского
государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

e-mail: ecology@bio.unn.ru

факс: (831)465-85-92

Автореферат разослан «_____» _____ 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Н.И. Зазнобина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Азот является жизненно важным и необходимым элементом всех живых систем, в том числе гидроэкосистем. Его содержание и соотношение с растворенными органическими и неорганическими веществами в природной воде оказывает влияние на характер связей между гидробионтами (Уморин, 1987; Левич, 1996; Новиков, 2000), в том числе между автотрофными составляющими (Покровская, 1983; Ипатова, 2005). Это, в свою очередь, определяет течение продукционно-деструкционных процессов в водоемах, а в конечном итоге – эффективность самоочищения, формирования качества воды.

Высшая водная растительность, поглощая и аккумулируя азот, выделяя экзометаболиты во внешнюю среду, проявляя, в частности, альгицидную активность (Кабанова, 1959; Неграш, 1965; Kim, Wetzel, 1993; Lemee et al., 1997; Gross et al., 2007), выступает в итоге как важный фактор регулирования естественных процессов самоочищения водоемов, структуры и функций сопутствующих гидробионтов (Мережко, 1978). При этом степень ее активности специфична для биологических особенностей вида растений, их адаптационных возможностей, интенсивности антропогенного воздействия (Метейко, 1972; Сиренко и др., 1989).

В 70-е–90-е г.г. изучению особенностей метаболизма высшей водной растительности (гидатофиты, плейстофиты, гелофиты) были посвящены работы многих исследователей (Распопов, 1973; Мережко, 1978; Шокодько, 1978; Лукина, Смирнова, 1988; Эйно́р, 1992; Ратушняк, 1993; Chandra, Tanaka, 2007). К сожалению, в дальнейшем число работ в данном направлении резко сократилось, что особенно отразилось на количестве научных трудов по гелофитам.

Анализ результатов работ, как отечественных, так и зарубежных исследователей, показал, что вопросы, связанные с анатомо-морфологическими, физиолого-биохимическими, продукционными и экзометаболическими особенностями высшей водной растительности, их роль в формировании качества воды, структуры сопутствующих гидробионтов в условиях нагрузки по нитратному азоту, остаются малоизученными (Кабанова, 1959; Хайлов, 1964; Райс, 1978; Мережко, 1980; Покровская, 1983; Эйно́р, 1992; Алимов, 1998; Ипатова, 2005; Клоченко, 2007; Чемерис, 2007; Brewer, 1990; Jordan, 1990; Nielsen, 1991; Lemee et al., 1997; Kuehn, 1999; Balbi, 2002; Ciurli, 2009).

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 (Шакирова, 2001; Максимов, 2004; Рахматуллина, 2007; Alvarez, 2000; Kawano, 2000).

Таким образом, изучение влияния нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте на аутоэкологические особенности рогоза узколистного, его альгицидную и санирующую активность является актуальным.

Целью работы является выявление аутоэкологических особенностей у рогоза узколистного (*Typha angustifolia* L.) и их роли в формировании качества воды в условиях нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте.

Задачи исследования. В условиях одноразовой нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте исследовать у рогоза узколистного:

- 1) степень аэрации двух типов придаточных корней;

- 2) специфику темнового дыхания листьев, водных и почвенных корней;
- 3) некоторые особенности накопления пигментов в листьях, формирования надземной и подземной биомасс, потенциальной семенной продуктивности;
- 4) процесс формирования белковой, липидной и полисахаридной составляющих эндометаболитов, потока ассимилятов в надземной части растений (листья и стебель), фонда экзометаболитов;
- 5) экологическую пластичность исследуемых физиологических и продукционных процессов;
- 6) роль рогоза узколистного в формировании и восстановлении структуры сопутствующего фитопланктона по доминирующей группе и руководящему виду, регуляции содержания нитратного азота в природной воде.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Устойчивость рогоза узколистного к нагрузке по нитратному азоту обусловлена перераспределением интенсивности темнового дыхания и образования воздухоносных полостей за счет разрушения паренхимных клеток с водных придаточных корней на почвенные.

2. В условиях нагрузки по нитратному азоту в пределах ПДК и на порядок выше выявлены изменения таких физиолого-продукционных процессов в растении, как накопление пигментов, общего и белкового азота в листьях; формирование надземной и подземной биомасс, потенциальной семенной продуктивности, белкового, липидного, полисахаридного комплексов в надземной части растения (листья и стебель), пула экзометаболитов.

3. Воздействие салициловой кислоты в условиях нагрузки по нитратному азоту на анатомо-физиологические параметры рогоза узколистного неоднозначно. Ее воздействие в качестве депрессанта выявлено в изменениях степени аэрации и интенсивности темнового дыхания водных и почвенных корней; антидепрессанта – в формировании фитомассы, потенциальной семенной продуктивности, белкового, липидного и полисахаридного комплексов в надземной части растений (листья и стебель).

4. В условиях нагрузки по нитратному азоту (в пределах ПДК и на порядок выше) рогоз узколистный улучшает качество природной воды за счет снижения содержания в ней нитратов и стимулирования развития показательной группы относительной чистоты воды – диатомовых. Салициловая кислота в этих условиях выступает в качестве антидепрессанта, усиливая эффекты действия макрофита.

Научная новизна работы. Теоретические положения и выводы диссертации вносят вклад в развивающуюся теорию функционирования гидроэкосистем, основоположником которой является академик А.Ф. Алимов. Они дополняют и расширяют современное понимание механизмов, лежащих в основе устойчивости высшей водной растительности и их роли в формировании структуры сопутствующих гидробионтов разных таксономических групп, гидрохимического режима в условиях антропогенной нагрузки.

Впервые показано, что толерантность рогоза узколистного в условиях различной нагрузки по нитратному азоту обусловлена изменением степени аэрации паренхимы двух типов придаточных корней, активности формирования белкового, липидного (пигментного) и полисахаридного комплексов в фотосинтезирующих органах, количества экзометаболитов, а также экологической пластичностью продукционных процессов (увеличением общей биомассы, концентрации хлорофилла *a* и *b* в листьях) и дыхательного метаболизма (восстановлением интенсивности поглощения кислорода

водными и почвенными корнями к исходным значениям). Выявлена роль рогоза узколистного, с одной стороны, в регуляции гидрохимического режима среды обитания на фоне различной нагрузки по нитратному азоту, а с другой – структуры сопутствующего фитопланктона, ее восстановления по доминирующей группе и руководящему виду через два месяца после действия возмущающего фактора. Эффект усиливается на фоне салициловой кислоты. Впервые показано, что в условиях нагрузки по нитратному азоту она воздействует в качестве депрессанта на изменение степени аэрации паренхимы и интенсивности темнового дыхания водных и почвенных корней; антидепрессанта – на формирование фитомассы, потенциальной семенной продуктивности, белкового, липидного и полисахаридного комплексов в надземной части растений (листья и стебель).

Практическая значимость. Выявленные закономерности функционирования высшей водной растительности, ее альгицидной и saniрующей активности в неблагоприятных условиях среды обитания могут быть использованы при разработке методических подходов к регуляции качества вод гидроэкосистем по биологическим и химическим показателям. Предлагаемый нами в диссертационной работе подход дает возможность определять границы адаптационных возможностей (экологические ПДК) водной биоты как на организменном (анатомо-физиолого-продукционные особенности высшей водной растительности), так и на популяционном (структура сопутствующих гидробионтов различных таксономических групп) уровнях ее организации к действию различных поллютантов. Обнаруженные эффекты биологически активных веществ (на примере, салициловой кислоты) могут стать основой практических приемов их использования в управлении структурой водных организмов и содержанием загрязняющих веществ в природной воде через активизацию метаболических процессов высшей водной растительности. Данные диссертационной работы могут быть использованы в учебном процессе в рамках дисциплин «Водная экология» и «Гидробиология».

Личный вклад автора. Отбор и подготовка для анализа образцов растений, природной воды, сообществ гидробионтов. Организация и проведение модельных экспериментов. Исследование анатомо-физиолого-продукционных перестроек у рогоза узколистного в условиях нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте. Анализ, обобщение, статистическая обработка материала, подготовка к публикации научных сообщений. Первичные материалы по структурной характеристике фитопланктонного сообщества получены Л.Ю. Халиуллиной. Будучи проанализированы и интерпретированы нами в соответствии с поставленными задачами, они отражены в совместных публикациях.

Апробация работы и публикации. Результаты исследований докладывались на Всероссийской научной конференции «Современные проблемы ботаники» (Ульяновск, 2007); Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2007» (Москва, 2007); Международных конференциях молодых ученых «Актуальные проблемы ботаники и экологии» (Киев, 2007) и «Симбиоз-2008» (Казань, 2008); на расширенных семинарах и ученых советах ГБУ ИПЭН АН РТ (2008–2009 г.г.). По результатам работы опубликовано 11 работ, из них 2 – в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, семи глав, заключения, выводов, списка литературы, приложений. Основной текст изложен на 207 страницах, включая 22 рисунка, 12 таблиц и список литературы, состоящий из 364 источника, в том числе 134 иностранных.

Благодарности. Автор выражает сердечную благодарность своему научному руководителю д.б.н. Анне Александровне Ратушняк за неоценимую помощь, указанную на всех этапах написания работы, заведующему кафедрой экологии биологического факультета д.б.н., профессору Давиду Бежановичу Гелашвили за глубокий и доброжелательный анализ работы; особую признательность ведущему научному сотруднику Ботанического сада КГУ к.б.н. Аде Сергеевне Муравьевой, доценту кафедры ботаники КГУ к.б.н. Валентине Ивановне Полуяновой и Сергею Николаевичу Кашеварову за оказанную консультационную и методологическую помощь при выполнении работы, а также коллективу лаборатории гидробиологии ГБУ ИПЭН АН РТ за всестороннюю поддержку.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

В обзоре литературы кратко рассмотрены сведения об особенностях морфологии и физиологии, адаптационных стратегиях макрофитов в изменяющихся условиях среды обитания, их роли в гидроэкосистеме; содержании нитратного азота и салициловой кислоты в природной воде и их влиянии на водную биоту.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Объект исследований. Объект исследования – рогоз узколистный (*T. angustifolia* L.), представитель переходной формы от растений суши к водным растениям (гелофит). Для его корневой системы характерен ряд морфологических и анатомических особенностей строения, присущих типичным водным растениям – наличие толстых корневищ и тонких придаточных корней – водных и почвенных, хорошо развитой воздухоносной ткани – аэренхимы.

2.2. Методика закладки и проведения экспериментов. Исследования проводили на протяжении трех вегетационных сезонов, 2005–2007 г.г., в условиях мезокозм, включавших природную воду объемом 30 литров с сопутствующими гидробионтами и куртинами рогоза узколистного, взятых из чистой заросли рогоза озера Средний Кабан. Моделировали два типа биотопов – заросший (с рогозом узколистным) и открытый (без него). Создавали по пять вариантов с различным сочетанием нитратного азота (N) и салициловой кислоты (СК) для каждого биотопа по схеме:

Контроль – природная вода (ПВ) без добавок;

Опыт 1 – ПВ + N_{ПДК};

Опыт 2 – ПВ + N_{10ПДК};

Опыт 3 – ПВ + N_{ПДК} + СК;

Опыт 4 – ПВ + N_{10ПДК} + СК;

Опыт 5 – ПВ + СК.

Использовали две концентрации нитратного азота – 40 мг/л – предельно допустимая концентрация для водоемов рыбохозяйственного использования (N_{ПДК}) и 400 мг/л – в 10 раз превышающая ПДК (N_{10ПДК}) (концентрации рассчитывали по нитратному азоту), а также салициловую кислоту (10⁻⁴ М) с целью исследования ее воздействия на анатомо-физиолого-продукционные процессы водной растительности, структуру фитопланктона в условиях азотного стресса. По литературным данным известно, что данная кислота в концентрации 10⁻⁴ М вызывает системную устойчивость наземных растений. Используемые вещества добавляли в мезокозмы

через две недели после постановки эксперимента, когда растения прижились (июнь). Контролем служили варианты без добавок. Опыты проводили в сезонной динамике (в период с июня по сентябрь, один раз в месяц) в трехкратной повторности.

2.3. Анатомо-морфологический метод. Анатомические исследования проводили по методике, применяемой на кафедре ботаники Казанского государственного университета (Любарский, 1968; Полуянова, 2005). Поперечные срезы двух типов придаточных корней делали лезвием безопасной бритвы на расстоянии 6 см и 3 см от апекса роста с целью исследования связи между интенсивностью образования воздухоносных полостей и возраста паренхимных клеток. Анатомический анализ и микрофотографирование проводили с помощью светового микроскопа «Биолам-Р17».

2.4. Манометрический метод. Интенсивность темнового дыхания (по поглощению кислорода) органов рогоза узколистного (листьев и двух типов придаточных корней) определяли манометрическим методом на аппарате Варбурга WA 0130 (Германия) при $T = 25-26$ °С (Семихатова, Чулановская, 1965). Долю гликолиза в дыхательном обмене корней определяли с помощью специфического ингибитора гликолиза NaF (0,03 М) (Гродзинский, 1973). Поглощение кислорода выражали в мкл O_2 на г сырой массы в час.

2.5. Спектрофотометрический метод. Содержание хлорофилла *a* и *b* в листьях определяли спектрофотометрическим методом (Шлык, 1971). Пигменты экстрагировали из сухого растительного материала 80 % ацетоном. Концентрацию пигментов определяли на спектрофотометре Lambda 25 (фирмы Perkin Elmer USA). Количество пигментов выражали в мг на единицу веса сухой массы.

2.6. Колориметрический метод. Содержание общего и белкового азота определяли по методу Кьельдаля (Гродзинский, 1973).

2.7. Методы изучения продукционных процессов. Определение биомассы надземной и подземной частей макрофита проводили по общепринятой методике, выражали в граммах сухого вещества на 1 м^2 (Катанская, 1983), потенциальной семенной продуктивности рогоза узколистного – по методике Горбика (1988).

2.8. Радиоактивный метод исследований. Исследования проводили на базе Казанского научного центра Института биохимии и биофизики РАН. Радиоактивную метку вводили с помощью шприца в виде водного раствора ^{14}C -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 расчленяли на отдельные части (листья и стебель). Навеску сырого растительного материала последовательно растирали с растворителями для выделения белкового, липидного, полисахаридного комплексов. Для выделения пигментного комплекса использовали ацетон (80 %), белкового – калийную щелочь (0,2 М). Остаток растираемого экстракта содержал полисахаридный комплекс. В полученных фракциях в определенной аликвоте (5 мл сцинтилляционной жидкости (ЖС-1) и 0,2 мкл экстракта) просчитывали радиоактивность (на сцинтилляционном счетчике Дельта-300) (Тарчевский, 1958).

С целью определения количественного состава экзометаболитов рогоза узколистного в среде его обитания через месяц после постановки эксперимента отбирали пробы водной среды в объеме 30 мл. Жидкость подвергали поэтапному испарению (по 2 мл) при 30°С, осадок заливали 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

позаэтапному фильтрованию на ситах с разным диаметром пор (0,22; 0,20; 0,10; 0,05 мм и мембранный фильтр МФА-МА-№ 1). Осадки на ситах и фильтре, содержащие различные классы гидробионтов, смывали. Жидкость подвергали испарению, осадки просчитывали на содержание радиоактивного ^{14}C .

2.9. Фитопланктонный анализ. Результаты исследований по изучению структурных характеристик сопутствующего фитопланктона анализировали совместно с сотрудником лаборатории гидробиологии Л.Ю. Халиуллиной. Анализ проводили по общепринятой методике (Руководство по методам..., 1983). Будучи проанализированы и интерпретированы нами в соответствии с поставленными задачами, они отражены в совместных публикациях.

2.10. Гидрохимический анализ. Химический анализ природной воды выполнен в лаборатории биогеохимии ГБУ ИПЭН АН РТ.

2.11. Статистические методы обработки данных. Данная диссертационная работа является продолжением многолетних (более 30-летних) исследований, проводимых А.А. Ратушняк, результаты которых оформлены в виде докторской диссертации (Ратушняк, 2002). В последней была проведена проверка подчинения полученного массива физиологических параметров нормальному распределению. Это позволило в данной работе не проводить проверку этого согласия и анализировать малые выборки ($n \leq 30$). В статистическом анализе применяли параметрический метод – критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони (Гланц, 1999; Компьютерная биология..., 1999). На рисунках представлены средние значения с их доверительными интервалами, в таблицах – средние значения с их стандартными ошибками. Статистическую обработку результатов проводили с помощью стандартных пакетов программ Microsoft Excel и Statistica 6.0.

ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ДВУХ ТИПОВ ПРИДАТОЧНЫХ КОРНЕЙ РОГОЗА УЗКОЛИСТНОГО В УСЛОВИЯХ НАГРУЗКИ ПО НИТРАТНОМУ АЗОТУ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЕ

Известно, что у растений в изменяющихся условиях среды обитания происходят перестройки в морфолого-анатомическом строении органов (Кордюм и др., 2003; Половникова, 2007). На первом этапе наших исследований перед нами стояла задача – в условиях одноразовой нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте исследовать у рогоза узколистного степень аэрации двух типов придаточных корней.

Немаловажную роль в регуляции толерантности макрофита играют особенности строения его подземной части. Она состоит из толстых корневищ, выполняющих роль запасающего органа, и придаточных корней – водных и почвенных (в зависимости от того, в какой среде они развиваются), основной функцией которых является поглощение из внешней среды растворенных питательных веществ и воды. Отличительной чертой анатомического строения является хорошо развитая воздухоносная ткань – аэренхима, которая пронизывает все органы растения и обеспечивает лучший газообмен подземным органам (Лукина, Смирнова, 1988).

Контроль. Тонкие ветвящиеся водные корни, диаметр среза которых через две недели после постановки эксперимента (июнь) составил $0,9 \pm 0,08$ мм, лучше аэрированы воздухоносными полостями (фото 1) по сравнению с более толстыми ($1,3 \pm 0,09$ мм) мало ветвящимися почвенными корнями, у которых доля воздухоносных полостей от общей площади среза составила $37,2 \pm 4,5$ % против $7,2 \pm 0,3$ % (фото 1).

Скорость образования воздухоносных полостей у почвенных корней зависит от возраста паренхимных клеток – чем старше ткань, тем интенсивнее в ней происходят процессы разрушения (в контрольных вариантах на расстоянии 3 см от апекса роста доля воздухоносных полостей на поперечном срезе составила 0 %, тогда как на расстоянии 6 см – $7,2 \pm 0,3$ %).

Нитратный азот. Выявленные изменения в морфологическом строении у двух типов придаточных корней рогоза в условиях повышения содержания нитратного азота в природной воде зависят:

1. От типа корня. Повышается степень аэрации у почвенных (в варианте $N_{ПДК}$ доля воздушных полостей от общей площади поперечного среза составила $10,8 \pm 0,5$ %, в $N_{10ПДК}$ – $15,7 \pm 0,6$ %) по сравнению с контролем ($7,2 \pm 0,3$ %). Следовательно, повышается их устойчивость в условиях кислородного голодания за счет разрушения тонкостенных паренхимных клеток и увеличения объемов воздухоносных полостей. У водных корней в условиях нагрузки по нитратному азоту отмечен противоположный эффект (в $N_{ПДК}$ – $21,8 \pm 2,5$ %, тогда как в контроле – $37,2 \pm 4,5$ %) (фото 1).

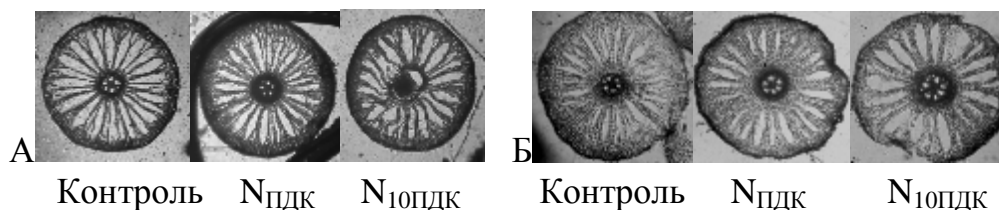


Фото 1. Поперечные срезы водных (А) и почвенных (Б) корней рогоза узколистного на расстоянии 6 см от точки роста в условиях различной нагрузки по нитратному азоту.

2. От возраста тканей. Чем старше ткань, тем интенсивнее она подвергается воздействию возмущающего фактора. В варианте $N_{10ПДК}$ у почвенных корней на расстоянии 3 см от апекса роста доля воздухоносных полостей от общей площади среза составила $3,4 \pm 0,5$ % (фото 2), тогда как на расстоянии 6 см – $15,7 \pm 0,6$ %.

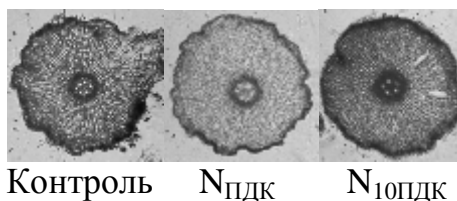


Фото 2. Поперечные срезы почвенных корней рогоза узколистного на расстоянии 3 см от точки роста в условиях различной нагрузки по нитратному азоту.

В контроле и в варианте $N_{ПДК}$ разрушения клеток паренхимы не обнаружено (фото 2). Это свидетельствует о более значительных перестройках аэренхимы в условиях сверхвысокой нагрузки по нитратному азоту ($N_{10ПДК}$), чем в вариантах с более низкими его концентрациями (контроль, $N_{ПДК}$). Вывод подтверждается наличием относительно высокой доли воздушных полостей на расстоянии 6 см от апекса роста.

3. От концентрации внесенного химического вещества. Чем выше концентрация азота, тем эффективнее проходит у почвенных корней процесс разрушения паренхимных клеток (фото 1).

Салициловая кислота. Воздействие салициловой кислоты на количественно-анатомические признаки придаточных корней аналогично вышеизложенным эффектам

нитратного азота. У почвенных корней доля площади воздушных полостей от общей площади поперечного среза по сравнению с контролем увеличилась в 1,8 раз ($13,2 \pm 1,0$ % против $7,2 \pm 0,3$ %), а у водных наоборот – уменьшилась в 1,6 раз ($23,4 \pm 2,9$ % против $37,2 \pm 4,5$ %).

Салициловая кислота на фоне $N_{\text{ПДК}}$ стимулировала разрушение паренхимных клеток у почвенных корней – в 1,6 раз ($17,6 \pm 1,3$ % в варианте $N_{\text{ПДК}}+\text{СК}$ против $10,8 \pm 0,5$ % варианте $N_{\text{ПДК}}$). На фоне $N_{10\text{ПДК}}$ отмечен противоположный эффект – замедление скорости межклеточных разрушений в паренхиме и уменьшение доли площади воздухоносных полостей от общей площади поперечного среза: у почвенных корней – в 1,3 раза ($11,9 \pm 1,3$ % в варианте $N_{10\text{ПДК}}+\text{СК}$ против $15,7 \pm 0,6$ % варианте $N_{10\text{ПДК}}$).

Итак, мы установили, что в условиях возмущающих факторов в анатомической структуре двух типов придаточных корней рогоза узколистного происходят изменения в соотношении площади воздухоносных полостей к общей площади поперечного среза. Это достигается за счет регулирования интенсивности разрушения паренхимных клеток. Устойчивость макрофита к нагрузке по нитратному азоту обусловлена перераспределением интенсивности разрушения паренхимных клеток с водных придаточных корней на почвенные. При этом, чем выше концентрация нитратного азота в природной воде ($N_{\text{ПДК}}$, $N_{10\text{ПДК}}$), тем эффективнее протекает данный процесс. Воздействие салициловой кислоты в качестве антидепрессанта на изменение степени аэрации паренхимы двух типов придаточных корней в условиях различной нагрузки по нитратному азоту не выявлено.

ГЛАВА 4. ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ РОГОЗА УЗКОЛИСТНОГО В УСЛОВИЯХ НАГРУЗКИ ПО НИТРАТНОМУ АЗОТУ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЕ

Растения на варьирование условий среды обитания отвечают не только анатомо-морфологическими, но и физиолого-биохимическими перестройками, направленными на сохранение жизнеспособности организма (Пахомова, 1999; Кордюм, 2003).

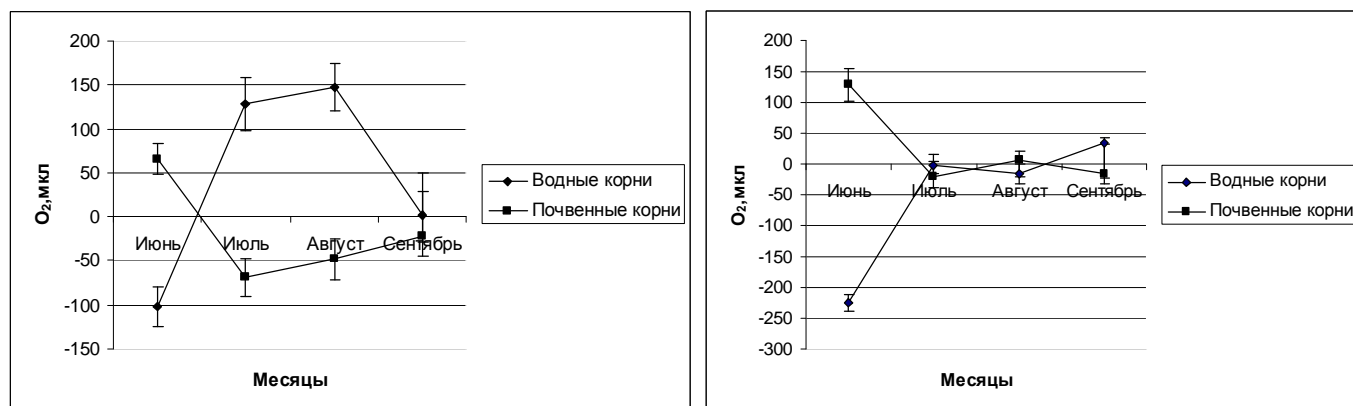
4.1. Особенности дыхательного метаболизма

Выявленные изменения в анатомической структуре двух типов придаточных корней в условиях различной нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте повлекли решить следующую задачу – исследовать специфику темнового дыхания органов рогоза узколистного. Согласно О.А. Семихатовой (1995), способность растения сохранять гомеостаз, поддерживать внутренние параметры на постоянном уровне в изменяющихся условиях среды обитания достигается, прежде всего, за счет энергетических перестроек.

Нами установлено, что дыхание листьев рогоза узколистного превышает дыхание корней в несколько раз. Подобная закономерность прослеживается во всех вариантах и в общем онтогенезе растения.

Нитратный азот. С увеличением нагрузки по нитратному азоту ($N_{\text{ПДК}}$ и $N_{10\text{ПДК}}$) отмечена тенденция к усилению поглощения кислорода листьями рогоза узколистного. В июне интенсивность дыхания в варианте $N_{\text{ПДК}}$ составила $533,9 \pm 44,6$ мкл O_2 , в варианте $N_{10\text{ПДК}}$ – $652,9 \pm 46,7$ мкл O_2 против $514,9 \pm 57,9$ мкл O_2 в контроле; в сентябре – $261,9 \pm 19,9$ мкл O_2 и $161,3 \pm 17,9$ мкл O_2 против $70,2 \pm 7,1$ мкл O_2 , соответственно. В подземной части растений происходит перераспределение интенсивности дыхательного метаболизма с водных корней на почвенные. При этом, чем выше концентрация нитратного азота, тем сильнее эффект (рис. 1).

В июне интенсивность дыхания у водных корней снизилась в варианте $N_{ПДК}$ в 1,4 раза ($243,2 \pm 9,3$ мкл O_2), в $N_{10ПДК}$ в 2,9 раза ($120,0 \pm 5,0$ мкл O_2) по сравнению с контролем ($345,0 \pm 2,1$ мкл O_2); а у почвенных – увеличилась (в варианте $N_{ПДК}$ в 1,4 раза ($208,9 \pm 6,2$ мкл O_2) и в $N_{10ПДК}$ в 1,9 раз ($272,4 \pm 10,4$ мкл O_2) по сравнению с контролем ($143,7 \pm 3,7$ мкл O_2)).



А

Б

Рис. 1. Влияние нагрузки по нитратному азоту в пределах ПДК (А) и 10 ПДК (Б) на прирост интенсивности дыхания (мкл O_2 на 1 г сырой массы в час) двух типов придаточных корней рогоза узколистного по отношению к контролю.

Данный механизм защиты позволяет реализовать принцип экономии энергетических ресурсов водных корней, непосредственно контактирующих с растворенными соединениями нитратного азота. Снижение интенсивности поглощения кислорода листьями и придаточными корнями в сезонной динамике (рис. 1) непосредственно связано с поглощением нитратного азота автотрофными составляющими (высшей водной растительностью и фитопланктоном) и сопутствующими гидробионтами в системе (рис. 2).

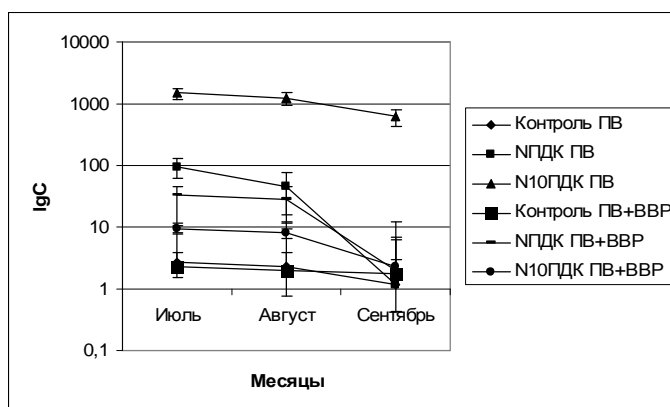


Рис. 2. Сезонная динамика содержания нитратного азота (C – мг/л NO_3^-) в природной воде в вариантах опыта в открытом (ПВ) и заросшем (ПВ+ВВР) биотопах.

Салициловая кислота. С добавлением салициловой кислоты в природную воду (как в контрольных вариантах, так и на фоне нитратной нагрузки) отмечена тенденция к снижению интенсивности дыхательного метаболизма у листьев рогоза узколистного (в СК темновое дыхание листьев в июне составило $486,7 \pm 34,3$ мкл O_2 против $514,9 \pm 57,9$ мкл O_2 в контроле, на фоне $N_{10ПДК}$ – $594,6 \pm 17,7$ мкл O_2 против $652,9 \pm 46,7$ мкл O_2 , на фоне $N_{ПДК}$ – $316,1 \pm 23,2$ мкл O_2 против $533,9 \pm 44,6$ мкл O_2).

Отмечено избирательное влияние салициловой кислоты на интенсивность темнового дыхания придаточных корней рогоза узколистного. В варианте СК отмечена тенденция к стимуляции поглощения кислорода почвенными ($286,3 \pm 35,2$ мкл O_2 против $143,7 \pm 3,7$ мкл O_2 в контроле), и подавлению интенсивности дыхательного метаболизма водных ($288,0 \pm 37,3$ мкл O_2 против $345,0 \pm 2,1$ мкл O_2 , соответственно). Это приводит к уравниванию дыхательной активности двух типов придаточных корней по сравнению с контролем. В варианте $N_{ПДК}+СК$ отмечена тенденция к снижению интенсивности поглощения кислорода у водных ($189,3 \pm 1,9$ мкл O_2 против $243,2 \pm 9,3$ мкл O_2 в варианте $N_{ПДК}$) и у почвенных корней ($154,1 \pm 24,1$ мкл O_2 против $208,9 \pm 6,2$ мкл O_2 , соответственно). В варианте $N_{10ПДК}+СК$ – к повышению у угнетенных водных ($132,5 \pm 9,5$ мкл O_2 против $120,0 \pm 5,0$ мкл O_2 в варианте $N_{10ПДК}$) и снижению у почвенных ($197,5 \pm 27,9$ мкл O_2 против $272,4 \pm 10,4$ мкл O_2).

Водные и почвенные корни представляют собой взаимодополняющие по функциям органы. Противоположная направленность ответной реакции на нагрузку по нитратному азоту двух типов придаточных корней в анатомо-морфологическом строении и в дыхательном метаболизме определяется их разными адаптационными возможностями и условиями обитания. Выявлен более высокий уровень адаптационных возможностей почвенных корней (находящихся в худшем кислородном режиме) по сравнению с водными (рис. 3).

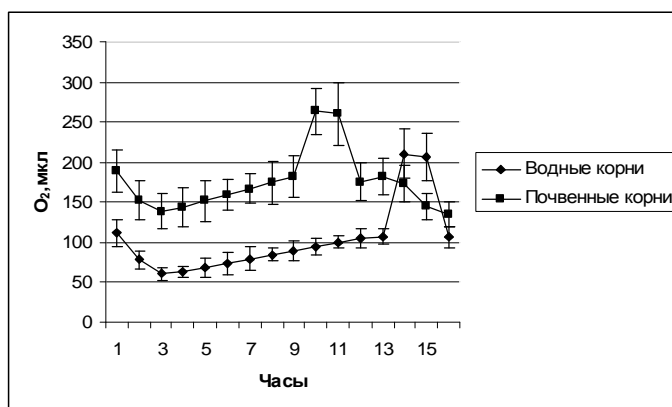


Рис. 3. Изменения интенсивности темнового дыхания (мкл O_2 на 1 г сырой массы в час) двух типов придаточных корней рогоза узколистного в процессе адаптивного старения в контроле.

Сравнительный анализ временной динамики дыхания отсеченных корней показал, что у водных процесс стабилизации осуществляется за более длительное время – к 14-му–15-му часу, тогда как у почвенных – к 10-му–11-му часу (рис. 3). Следует отметить, что сходная динамика дыхания была отмечена В.И. Пахомовой (1984) у отсеченных корней яровой пшеницы в процессе их «адаптивного старения»: фаза стабилизации наступала после четырех часов инкубации.

Дыхание, как и фотосинтез, является одним из фундаментальных процессов в растениях, которые составляют энергетическую основу их жизни и определяют направленность других жизненно необходимых процессов (Гродзинский, 1973). В условиях нагрузки по нитратному азоту нами выявлена связь между процессами поглощения кислорода корнями и долей воздушных полостей на поперечном срезе: с увеличением нитратной нагрузки повышается интенсивность дыхания почвенных корней (контроль – $143,7 \pm 3,7$ мкл O_2 ; $N_{10ПДК}$ – $272,4 \pm 10,4$ мкл O_2) и увеличивается площадь воздушных полостей (контроль – $7,2 \pm 0,3$ %; $N_{10ПДК}$ – $15,7 \pm 0,6$ %), и

напротив, снижается интенсивность у водных корней (контроль – $345,0 \pm 2,1$ мкл O_2 , $N_{10ПДК}$ – $120,0 \pm 5,0$ мкл O_2) и уменьшается доля воздушных полостей (контроль – $37,2 \pm 4,5$ %; $N_{ПДК}$ – $21,8 \pm 2,5$ %).

Итак, в результате наших исследований мы установили, что устойчивость рогоза узколистного обусловлена активизацией поглощения кислорода листьями в осенний период вегетации (сентябрь), перераспределением активности темнового дыхания с водных придаточных корней на почвенные. При этом, чем выше концентрация нитратного азота в природной воде ($N_{ПДК}$, $N_{10ПДК}$), тем эффективнее протекает данный процесс. Воздействие салициловой кислоты в качестве антидепрессанта на изменение интенсивности темнового дыхания двух типов придаточных корней не выявлено.

Противоположная направленность перестроенных процессов в анатомическом строении и в дыхательном метаболизме двух типов придаточных корней гелофита на нагрузку по нитратному азоту определяется их разными адаптационными возможностями и условиями обитания. Скорость ответной реакции на стресс-фактор (отсечение) почвенных корней выше, чем водных, что указывает на более высокий уровень адаптационных возможностей первых.

4.2. Особенности формирования биомассы растений

Выявленные изменения в анатомической структуре и в дыхательном метаболизме органов рогоза узколистного в условиях различной нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте повлекли решить следующую задачу – исследовать особенности формирования надземной и подземной биомасс рогоза узколистного. Известно, что одними из критериев оценки адаптационных возможностей растения в изменяющихся условиях среды обитания являются продуктивные и ростовые характеристики (Кордюм, 2003).

В контроле биомасса подземной части превышает таковую надземной (рис. 4), общая биомасса растений составила $246,4 \pm 11,8$ г сухого вещества.

Нитратный азот. В условиях нитратного азота происходит активизация продукционных процессов у растений: общей биомассы ($346,8 \pm 14,6$ г сухого вещества в $N_{ПДК}$ и $459,8 \pm 22,5$ г сухого вещества в $N_{10ПДК}$ против $246,4 \pm 11,8$ г сухого вещества в контроле) и превышение доли надземной биомассы над подземной (рис. 4). Отмечена тенденция к увеличению числа побегов на 1 м^2 (в $N_{ПДК}$ 17 побегов, в $N_{10ПДК}$ 22 побега против 14 побегов в контроле), средней высоты ($150,0 \pm 7,5$ см и $162,0 \pm 8,1$ см против $140,0 \pm 7,0$ см, соответственно).

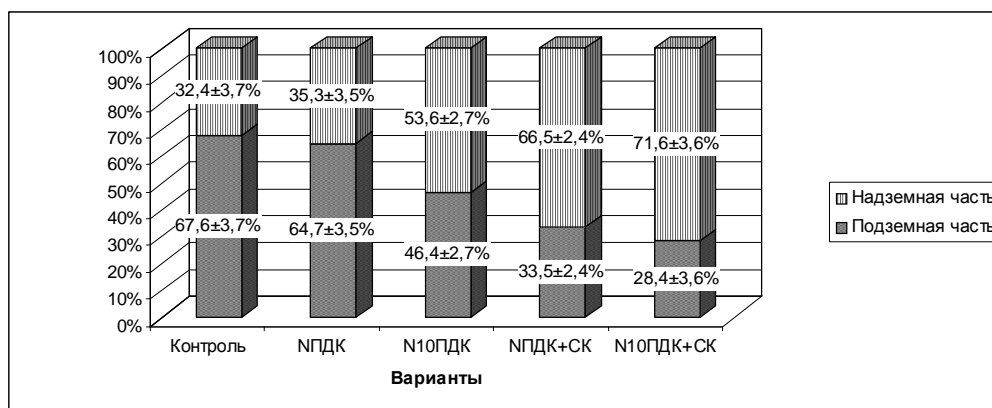


Рис. 4. Содержание надземной и подземной биомасс (%) рогоза узколистного в условиях различной нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте.

Салициловая кислота. В вариантах с салициловой кислотой отмечена тенденция к активизации продукционных процессов у растений: увеличение числа побегов на 1 м² (24 побега против 14 в контроле, на фоне N_{ПДК} – 19 побегов против 17 в варианте N_{ПДК}, на фоне N_{10ПДК} – 24 побега против 22 побегов в варианте N_{10ПДК}), средней высоты растений (175,0 ± 10,7 см против 140,0 ± 7,0 см; 177 ± 15,2 см против 150,0 ± 7,5 см; 185,0 ± 13,1 см против 162,0 ± 8,1 см, соответственно). Биомасса надземной части превышает таковую подземной (рис. 4).

Сопоставляя данные результаты с содержанием нитратного азота в природной воде (в сентябре: в контроле 1,9 мг/л, а в СК – 0,02 мг/л; в N_{ПДК} – 1,9 мг/л, в N_{ПДК}+СК – 0,005 мг/л; в N_{10ПДК} – 2,3 мг/л; в N_{10ПДК}+СК – 0,005 мг/л), следует отметить, что салициловая кислота стимулирует поглощение нитратного азота из природной воды высшей водной растительностью, тем самым, увеличивая ее фитомассу (рис. 4).

Итак, в результате наших исследований мы установили, что нагрузка по нитратному азоту и салициловой кислоте влияют на особенности формирования биомассы макрофита. Увеличение концентрации нитратного азота активизирует накопление общей биомассы, превышение надземной биомассы над подземной. Эффект усиливается на фоне салициловой кислоты.

4.3. Содержание пигментов и белкового азота в листьях

Выявленные особенности формирования биомассы макрофита в условиях возмущающих факторов повлекли решить следующую задачу – исследовать особенности накопления пигментов в листьях рогоза узколистного в условиях различной нагрузки по нитратному азоту. По мнению Т.И. Шокодько и А.И. Мережко (1977), основной характеристикой физиологического состояния водных растений в условиях нагрузки по химическим веществам, является изменение содержания фотосинтетических пигментов в органах.

Контроль. В контроле растения были хлоротичными. Невысокое содержание пигментов (содержание хлорофилла *a* составило 8,96 ± 0,47 мг/г сухой массы, хлорофилла *b* – 3,89 ± 0,22 мг/г сухой массы) и относительно слабое развитие листовой поверхности по сравнению с опытными вариантами явились одной из основных причин низкой биомассы надземной части растений в контроле.

Нитратный азот. Нагрузка по нитратному азоту (N_{ПДК} и N_{10ПДК}) стимулирует увеличение концентрации фотоассимилирующих пигментов в листьях. Наиболее благоприятным для фотосинтеза рогоза узколистного и конечного накопления органического вещества был вариант N_{10ПДК}. Растения имели темно-зеленую окраску, что связано с более высоким содержанием пигментов, чем в контроле. Превышение содержания хлорофилла *a* отмечено в 1,3 раза по сравнению с контролем (11,46 ± 0,63 мг/г сухой массы против 8,96 ± 0,47 мг/г сухой массы, соответственно), а хлорофилла *b* – в 1,6 раза (6,19 ± 0,27 мг/г сухой массы против 3,89 ± 0,22 мг/г сухой массы). В варианте N_{ПДК} показатели принимали промежуточное значение между контролем и вариантом со сверхвысокой нагрузкой.

Обнаружена зависимость между содержанием хлорофилла в целом растении рогоза и его биомассой, что согласуется с концепцией И.А. Тарчевского (2002) о том, что хлорофилльные индексы являются показателями потенциальной продуктивности наземных растений. Азотное питание способствует интенсификации, как синтеза хлорофилла, так и накопления биомассы.

С повышением концентрации нитратного азота увеличивается и общее содержание азота в надземной части (в варианте N_{ПДК} оно составило 2,22 ± 0,01 % от

навески, в варианте $N_{10ПДК} - 2,11 \pm 0,01$ % против $1,88 \pm 0,01$ % в контроле). Отмечено повышение содержания белкового азота с увеличением нагрузки по нитратному азоту (в контроле его содержание составило $85,6 \pm 0,2$ % от общего азота, в варианте $N_{ПДК} - 92,3 \pm 0,2$ %, в варианте $N_{10ПДК} - 94,3 \pm 0,2$ %). Расчет интенсивности дыхания листьев на 1 мг белка показал, что в условиях нагрузки по нитратному азоту отмечена тенденция к увеличению расхода кислорода единицей белкового азота. Если в контроле 1 мг белкового азота поглощает $83,9 \pm 9,8$ мкл O_2 , то в $N_{10ПДК} - 103,9 \pm 5,1$ мкл O_2 .

Исследования в данном направлении в условиях нагрузки по **салициловой кислоте** не проводили.

Итак, мы установили, что нагрузка по нитратному азоту активизирует синтез пигментов (хлорофилла *a* и *b*), общего и белкового азота в листьях рогоза.

4.4. Потенциальная семенная продуктивность (ПСП)

Семенная продуктивность – один из основных показателей жизнеспособности вида в конкретных условиях обитания. На нее влияет весь комплекс факторов местообитания популяции, и поэтому она может служить их интегральным показателем (Горбик, 1984). В связи с этим следующая задача наших исследований – исследовать особенности потенциальной семенной продуктивности рогоза.

Нитратный азот. Нитратный азот увеличивал ПСП (количество семян на один генеративный побег) у рогоза узколистного. В вариантах со сверхвысокой азотной нагрузкой она составила $420,6 \pm 21,0$ тыс. шт. против $397,3 \pm 19,9$ тыс. шт. в варианте $N_{ПДК}$ и $207,4 \pm 10,4$ тыс. шт. в контроле (табл. 1).

Таблица 1

Потенциальная семенная продуктивность (ПСП, тыс. шт.) рогоза узколистного в условиях нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте

Варианты	ПСП, тыс. шт.	Критерий Стьюдента	Уровень значимости, <i>p</i>
$N_{ПДК}$	$397,3 \pm 19,9^*$	8,45	$< 0,0001$
$N_{10ПДК}$	$420,6 \pm 21,0^*$	9,09	$< 0,0001$
$N_{ПДК} + СК$	$267,3 \pm 25,1$	2,20	0,0382
$N_{10ПДК} + СК$	$227,5 \pm 23,4$	0,78	0,4672
СК	$208,4 \pm 21,0$	0,04	0,3663

* статистически значимые различия по *t* – критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони по сравнению с Контролем.

Салициловая кислота. Добавление салициловой кислоты в природную воду способствовало приближению значения ПСП к контрольным значениям. В варианте с СК ПСП рогоза узколистного составила $208,4 \pm 21,0$ тыс. шт. против $207,4 \pm 10,4$ тыс. шт. в контроле. На фоне $N_{ПДК}$ она снижала ПСП в 1,5 раза ($267,3 \pm 25,1$ тыс. шт. против $397,3 \pm 19,9$ тыс. шт. в варианте $N_{ПДК}$), а на фоне $N_{10ПДК}$ – в 1,8 раза ($227,5 \pm 23,4$ тыс. шт. против $420,6 \pm 21,0$ тыс. шт. в варианте $N_{10ПДК}$).

Итак, в результате наших исследований установлено, что увеличение концентрации нитратного азота в природной активизирует накопление потенциальной семенной продуктивности. Выявлено воздействие салициловой кислоты в качестве антидепрессанта в формировании ПСП макрофита.

4.5. Особенности формирования метаболитов

Итак, в результате наших исследований установлено, что устойчивость рогоза узколистного к различной нагрузке по нитратному азоту обусловлено изменением анатомо-физиолого-продукционных параметров. Вероятно, регуляция толерантности макрофита осуществляется также за счет перестройки метаболических процессов, приводящих к изменению количественного состава эндометаболитов.

Следующая задача наших исследований – с помощью радиоуглеродного метода выявить влияние нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте на процесс формирования эндометаболитов, в частности на соотношение белкового, липидного и полисахаридного комплексов и направление транслокации ассимилятов в надземной части растений.

Распределение радиоактивной метки (^{14}C) среди продуктов постфотосинтеза надземной части растений.

Контроль. Через две недели после введения метки ^{14}C (фаза вегетации рогоза узколистного) 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 ($42,6 \pm 1,4 \%$), и незначительная – в липиды ($12,1 \pm 2,3 \%$).

Через пять недель после постановки опыта (генеративная фаза) тенденция изменилась. Основную часть ассимилятов в надземной части рогоз использовал на формирование белковой фракции (доля радиоактивной метки в субстрате от общей радиоактивности надземной части составила $54,0 \pm 3,4 \%$ против липидной – $19,1 \pm 6,3 \%$, а полисахаридной – $26,8 \pm 5,3 \%$, соответственно).

Нитратный азот ($\text{N}_{10\text{ПДК}}$). В условиях нагрузки по нитратному азоту в вегетативной фазе развития макрофита 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 по сравнению с другими исследуемыми фракциями. Таким образом, азотное питание стимулирует синтез липидного комплекса. Это согласуется с данными по содержанию хлорофилла *a* и *b* в листьях (см. гл. 4.3).

В генеративной фазе закономерность менялась. Как и в контроле, основная доля радиоактивной метки включалась в белковую фракцию ($47,3 \pm 2,6 \%$), в липидной она составила $17,1 \pm 3,9 \%$, в полисахаридной – $35,6 \pm 2,0 \%$. Выявленные изменения в направленности формирования белкового, липидного и полисахаридного комплексов надземной части рогоза узколистного связаны с условиями минерального питания и фазой его развития.

Салициловая кислота. Добавление салициловой кислоты в природную воду с азотной нагрузкой стимулировало включение радиоактивной метки в белковую фракцию (доля радиоактивной метки в субстрате от общей радиоактивности надземной части составила $59,2 \pm 4,4 \%$) надземной части рогоза. Это согласуется с данными И.А. Тарчевского и др. (1996), о том, что экзогенная салициловая кислота индуцирует образование белка в проростках гороха в условиях стресса. 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 $\text{N}_{10\text{ПДК}}$ – в белках. Активный синтез белка, отмеченный в начальный период вегетации, по мнению В.И. Чикова (1975), позволяет растению достигнуть максимальной фотосинтетической

активности, необходимой на последующих фазах развития, когда усиливается углеводная направленность метаболизма углерода.

Направление транслокации ассимилятов в надземной части растений.

Условия минерального питания оказывают определенное влияние на транспорт ассимилятов по растению (Иванова, 1974). Известно, что особенности эндометаболических процессов определяют экскреторную активность макрофитов. Так, их ускорение стимулирует выделение экзометаболитов. При этом прижизненные выделения специфичны виду растения, периоду вегетации, евтрофной нагрузке по азоту и фосфору (Ратушняк, 2002).

О направленности потока ассимилятов мы судили по распределению радиоактивности в различных органах. Радиоактивность всех исследуемых органов принимали за 100 %, согласно методике А.П. Ивановой (1974).

Контроль. В фазе вегетации макрофита содержание метки в листьях составило $92,3 \pm 0,3$ %, а в стебле – $7,7 \pm 0,3$ %, тогда как в генеративной – $42,6 \pm 5,2$ % против $57,4 \pm 5,2$ %, соответственно. Таким образом, отмечена тенденция к оттоку эндометаболитов из листьев в стебель, которые, вероятно, направляются в подземную часть рогоза – корневище. Результаты исследований согласуются с данными по особенностям формирования биомассы в контроле (биомасса подземной части превышает таковую надземной) (см. гл. 4.2).

Сопоставление полученных результатов с таковыми по формированию липидного, полисахаридного и белкового комплексов, свидетельствует, 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 (1993), в период активной вегетации макрофитов в составе экзогенных аминокислот доминируют глутаминовая и аспарагиновая кислоты.

Нитратный азот ($N_{10ПДК}$). В условиях нагрузки по нитратному азоту (в отличие от контроля) отмечена тенденция к замедлению оттока эндометаболитов из надземных органов растений. Это подтверждается данными по продуктивности – превышение доли надземной биомассы над подземной (см. гл. 4.2).

В вегетативной фазе доля радиоактивной метки в листьях составила $80,7 \pm 5,2$ %, а в генеративной – $79,7 \pm 3,5$ %. Сопоставляя полученные результаты, следует отметить, что в вегетативной фазе рогоза ассимиляты в листьях были 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 ($47,3 \pm 2,6$ %) при содержании полисахаридов $35,6 \pm 2,0$ % и липидов – $17,1 \pm 3,9$ %.

Салициловая кислота. В условиях с добавлением салициловой кислоты в природную воду с азотной нагрузкой в генеративной фазе отмечена тенденция к транслокации ассимилятов в стебель. Если в вегетативной фазе значительная доля радиоактивной метки была сосредоточена в листьях ($88,1 \pm 8,3$ % от общей радиоактивности надземной части), то в генеративной – в стебле ($82,3 \pm 9,1$ %).

Итак, в результате наших исследований установлено, что под действием нагрузки по нитратному азоту происходит активизация синтеза белковой, липидной, полисахаридной фракций в надземной части растений; отмечена тенденция к транслокации ассимилятов в листьях по сравнению с таковой в контроле (в стебле). Салициловая кислота на фоне азота проявляет свойства антидепрессанта, стимулируя синтез белкового комплекса.

ГЛАВА 5. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ ФИЗИОЛОГО-ПРОДУКЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В РОГОЗЕ УЗКОЛИСТНОМ В УСЛОВИЯХ НАГРУЗКИ ПО НИТРАТНОМУ АЗОТУ

Представляло интерес выявить возможность и время восстановления физиологических и продукционных процессов в рогозе узколистном после снятия одноразовой нагрузки по нитратному азоту. Активизация продукционных процессов у растений, в частности увеличение концентрации фотоассимилирующих пигментов в листьях, превышение доли надземной биомассы над подземной, в условиях различной нагрузки по нитратному азоту (гл. 4) свидетельствует об их относительной устойчивости к данным возмущающим факторам.

Выявлена экологическая пластичность дыхательного метаболизма у рогоза узколистного в условиях нагрузки по нитратному азоту, в частности восстановление интенсивности поглощения кислорода водными и почвенными корнями к исходным значениям (до внесения загрязнения) (рис. 5).

В варианте $N_{ПДК}$ у двух типов придаточных корней восстановление интенсивности темнового дыхания отмечено в сентябре (через четырнадцать недель после постановки эксперимента), в варианте $N_{10ПДК}$ – у почвенных – в августе (через десять недель), у водных – в июле (через шесть недель) (рис. 5).

Таким образом, выявленные анатомо-физиологические перестройки в рогозе узколистном (гл. 3; гл. 4) обеспечивают ему относительную устойчивость к различной нагрузке по нитратному азоту (гл. 5). Именно фундаментальное свойство организмов, известное как адаптация, в ответ на разнообразные внешние влияния, позволяет организму приспосабливаться к временным и пространственным вариациям окружающей среды (Кордюм и др., 2003).

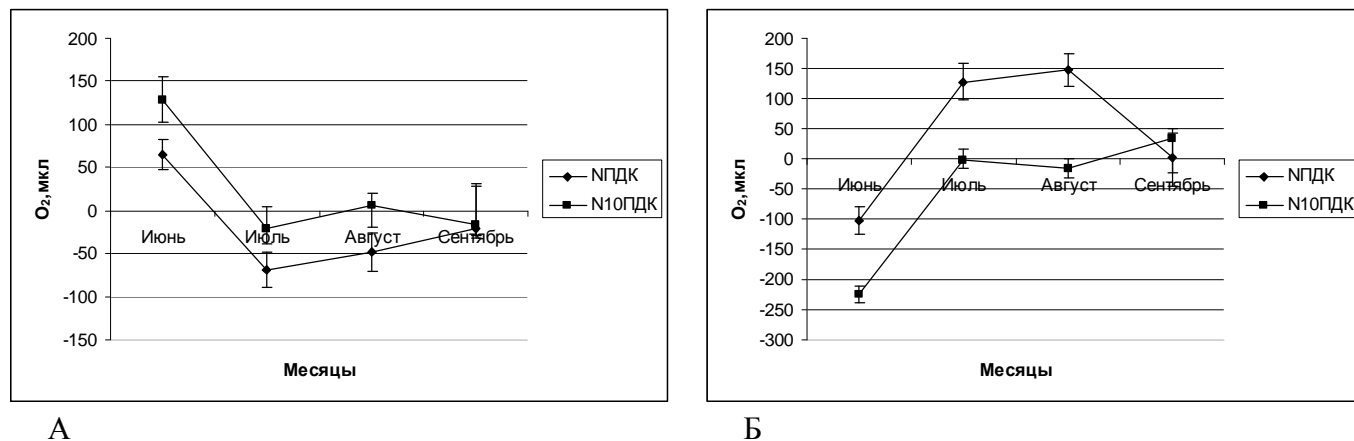


Рис. 5. Интенсивность темнового дыхания (мкл O₂) почвенных (А) и водных (Б) корней относительно контроля в условиях различной нагрузки по нитратному азоту во временной динамике.

ГЛАВА 6. ФОРМИРОВАНИЕ ФОНДА ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ У РОГОЗА УЗКОЛИСТНОГО В УСЛОВИЯХ НАГРУЗКИ ПО НИТРАТНОМУ АЗОТУ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЕ

В результате наших исследований установлено, что устойчивость рогоза узколистного к различной нагрузке по нитратному азоту обусловлено перестройками метаболических процессов, в частности изменением соотношения белкового, липидного и полисахаридного комплексов и направления транслокации ассимилятов в надземной части растений. Это в свою очередь, несомненно, должно отразиться на

изменении количественного состава экзометаболитов. Следующая задача наших исследований – в условиях одноразовой нагрузки по нитратному азоту исследовать у рогоза узколистного процесс формирования фонда экзометаболитов.

С помощью радиоуглеродного метода изучены процессы формирования эндометаболитов в рогозе узколистном (гл. 4.5), химической коммуникации гелофита за счет последних с сопутствующими гидробионтами разных таксономических групп (Абрамова и др., 2007). При этом с повышением уровня обеспеченности высшей водной растительности нитратным азотом, увеличивается фонд экзометаболитов – в варианте $N_{ПДК}$ в 2,5 раза по сравнению с контролем, в $N_{10ПДК}$ – в 5,5 раз. Это согласуется с данными А.А. Ратушняк (1993) о том, что количественный состав прижизненных выделений высшей водной растительности (на примере рогоза широколистного) зависит от условий минерального питания. Азотное питание увеличивает количество экскретируемых соединений.

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 %. Результаты свидетельствуют о наличии коммуникационной связи макрофита с сопутствующими гидробионтами разных таксономических групп. Итак, в результате наших исследований установлено, что под действием нагрузки по нитратному азоту происходит увеличение фонда экзометаболитов рогоза узколистного в водной среде его обитания.

ГЛАВА 7. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА РОЛИ РОГОЗА УЗКОЛИСТНОГО В ФОРМИРОВАНИИ СТРУКТУРЫ ФИТОПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА И ГИДРОХИМИЧЕСКОГО РЕЖИМА ПО НИТРАТНОМУ АЗОТУ В УСЛОВИЯХ НАГРУЗКИ ПО НИТРАТНОМУ АЗОТУ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЕ

Выявленные аутоэкологические особенности рогоза узколистного в условиях различной нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте позволили решить следующую задачу наших исследований – исследовать роль макрофита в формировании и восстановлении структуры сопутствующего фитопланктона по доминирующей группе и руководящему виду, регуляции содержания нитратного азота в природной воде. Известно, что макрофиты играют большую роль в поддержании гомеостаза всей водной экосистемы, влияя на гидрохимический режим и структурно-функциональные характеристики сопутствующей водной биоты водоема (Мережко, 1978; Кокин, 1982; Эйнон, 1992; Ратушняк, 2002).

Создание мезокосмов с присутствием рогоза узколистного (заросший биотоп) и без него (открытый биотоп) позволило выявить роль макрофита в формировании структуры сопутствующего фитопланктона по доминирующей группе и руководящему виду в условиях нагрузки по нитратному азоту и салициловой кислоте, в регуляции содержания нитратного азота в природной воде.

7.1. Структура сопутствующего фитопланктона

Контроль. В контрольных вариантах на протяжении исследуемого периода (июль–сентябрь) в открытых биотопах (без растений) 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 %) с преобладанием нитчатых водорослей (до рода не определяли) (доля от общей численности превышала 50,0 %) в летние месяцы и *Chlamydomonas sp.* в сентябре; а в заросших – показательная группа

относительной чистоты воды – диатомовые (от 52,4 % до 91,8 % и от 50,5 % до 98,3 %, соответственно), с отсутствием руководящего вида.

Нитратный азот. В условиях нагрузки по нитратному азоту в пределах ПДК в открытых биотопах по средним значениям численности за исследуемый период доминировали зеленые водоросли (56,1 %). В июле и в августе, как и в контроле, активно развивались зеленые водоросли (доля от общей численности составила от 69,6 % до 84,6 %, от общей биомассы – от 98,9 % до 99,9 %) с отсутствием руководящего вида. В сентябре по численности доминировали синезеленые (80,6 %) с активным развитием *Oscillatoria planctonica* Wolosz., по биомассе – зеленые (93,2 %).

В заросших биотопах по средним значениям численности за исследуемый период доминировали диатомовые водоросли (49,8 %). В летние месяцы преобладали диатомовые с отсутствием руководящего вида, как и в контроле (от 63,8 % до 71,8 % и от 31,8 % до 66,3 %, соответственно). В сентябре, как и в открытых биотопах, отмечена смена доминирующих групп по сравнению с контролем. Доминировали эвгленовые с активным развитием *Trachelomonas volvocina* Ehrb. (доля от общей численности составила 90,9 %, от общей биомассы – 99,0 %) вместо диатомовых.

Выявленный эффект стимулирования зарослями макрофитов развития эвгленовых водорослей в условиях нагрузки по нитратному азоту ($N_{\text{ПДК}}$) на протяжении исследуемого периода связан, в первую очередь, с изменением светового режима – интенсивное затенение слоя воды в виду увеличения надземной биомассы рогоза узколистного (гл. 4.2). Это положительно отражается на развитии водорослей с миксотрофным и сапрофитным питанием – эвгленовых.

Добавление нитратного азота в количестве 10 ПДК в природную воду привело к перестройке структуры альгоценоза с первого месяца исследований в двух типах биотопов. 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 *Os. planctonica* Wolosz. вместо зеленых, как в контроле.

В заросшем биотопе через месяц после внесения азота отмечена смена доминирующей группы, по сравнению с контролем, с диатомовых на зеленые с активным развитием *Golenkiniopsis solitaria* Korsch. (92,3 % и 73,7 %), а в последующие месяцы зафиксировано восстановление исходной (до внесения азота) (доминанты – диатомовые, 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. Снижение количества синезеленых водорослей в присутствии высшей водной растительности не связано с изменением светового режима. Так, согласно Л.А. Сиренко (1972) и Р. Nyenstrand et al. (1998), они способны длительное время существовать в темноте на дне водоемов, интенсивность света не является фактором, определяющим их развитие. Это обусловлено высоким содержанием в их клетках каротиноидов, обладающих защитной функцией (Фомишина, 2001). Отсутствие или их незначительное присутствие в пробах можно объяснить антагонистическими взаимодействиями с высшей водной растительностью и с другими таксономическими группами водорослей.

Салициловая кислота. Добавление СК в открытые биотопы с различной нагрузкой по нитратному азоту (контроль, $N_{\text{ПДК}}$, $N_{10\text{ПДК}}$) существенно не изменило

структуру альгоценоза по доминирующей группе, но способствовало перестройке по руководящим видам. На протяжении исследуемого времени в вариантах СК и $N_{ПДК}+СК$ развивались зеленые водоросли, как и в вариантах без добавки СК (контроль и $N_{ПДК}$). Доля от общей численности составила 75,8–100 %; от общей биомассы – 91,7–100 %. В варианте СК активно развивался *Gonium pectorale* Müll., а в контроле – нитчатые водоросли; в $N_{ПДК}+СК$ – *G. pectorale* Müll., *Os. planctonica* Wolosz., в то время как в $N_{ПДК}$ отсутствовали руководящие виды. В $N_{10ПДК}+СК$ по численности продолжали доминировать синезеленые водоросли с *Os. planctonica* Wolosz., как и в варианте $N_{10ПДК}$ (90,8–98,9 %), по биомассе – диатомовые (40,8–90,7 %).

В заросших биотопах с добавлением СК отмечена смена доминирующих групп. В условиях без азотной нагрузки (вариант СК) в первый месяц исследований по численности доминировали синезеленые (85,8 %) с активным развитием *Os. planctonica* Wolosz., а по биомассе – диатомовые (57,4 %) при полном доминировании диатомовых и отсутствии руководящего вида в контроле. В августе отмечен рост зеленых (48,4 % общей численности и 53,3 % общей биомассы) и эвгленовых (48,4 % и 46,7 %) с *T. intermedia* Dang., а в сентябре – полное доминирование эвгленовых (100 %) вместо диатомовых в контроле.

В варианте $N_{ПДК}+СК$ на протяжении трех месяцев исследований по численности доминировали диатомовые (81,3–83,8 %), по биомассе – эвгленовые (40,9–67,0 %) при полном доминировании диатомовых в $N_{ПДК}$. СК на фоне $N_{10ПДК}$ на протяжении всего исследуемого периода стимулировала развитие диатомовых (доля от общей численности составляла 55,9–99,9 %, от биомассы – 73,8–99,9 %), как и в контроле, тогда как в варианте $N_{10ПДК}$ развитие данной группы отмечено только с августа (в июле доминировали зеленые). В вариантах с салициловой кислотой отсутствовали руководящие виды, как в контроле.

Таким образом, изменение структуры фитопланктонного сообщества по доминирующей группе под действием салициловой кислоты отмечено только в заросших биотопах. Это, вероятно, связано с ее способностью активизировать процесс формирования эндо- и экзометаболитов у рогоза, что отражается на особенностях химической коммуникации между автотрофными составляющими.

7.2. Гидрохимический режим

Контроль. 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 мг/л до 2,7 мг/л, в заросшем – от 1,7 мг/л до 2,3 мг/л (рис. 2).

Нитратный азот. Внесение нагрузки по нитратному азоту в пределах ПДК ($N_{ПДК}$) в конечном итоге (сентябрь) не изменило картину гидрохимического режима в двух типах биотопов по сравнению с контролем. Концентрация нитратного азота в открытом биотопе через три месяца после постановки эксперимента составила 1,2 мг/л (как в контроле), в заросшем – 1,9 мг/л против 1,7 мг/л, соответственно. Тогда как сверхвысокая нагрузка ($N_{10ПДК}$) оказала иной эффект. В заросшем биотопе через три месяца отмечено снижение нагрузки до 2,3 мг/л при 1,7 мг/л в контроле, а в открытом она сохранялась до 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 ее перераспределения в системе «вода-макрофиты» в пользу последних, за счет активного включения азота в

метаболические процессы, более длительной и массовой локализации ассимилятов в листьях и стимуляции синтеза белковой, липидной и полисахаридной фракций. Усиление эндометаболических процессов стимулировало развитие фитомассы – превышение надземной биомассы над подземной. Кроме того, водные растения стимулируют развитие сопутствующих гидробионтов, которые тоже являются потребителями азота.

Салициловая кислота. Добавление СК в открытые биотопы с различной азотной нагрузкой (контроль, $N_{\text{ПДК}}$, $N_{10\text{ПДК}}$) стимулировало увеличение нитратного азота в природной воде. В варианте СК в конце вегетационного сезона концентрация составила 1,9 мг/л против 1,2 мг/л в контроле, в $N_{\text{ПДК}}+\text{СК}$ – 620,0 мг/л против 1,2 мг/л в $N_{\text{ПДК}}$, в $N_{10\text{ПДК}}+\text{СК}$ – 663,0 мг/л против 620,0 мг/л в $N_{10\text{ПДК}}$. В заросших биотопах наблюдалась противоположная тенденция. СК ускоряла процесс снижения содержания нитратного азота в природной воде. В варианте СК отмечено 0,02 мг/л нитратного азота против 1,7 мг/л в контроле, в $N_{\text{ПДК}}+\text{СК}$ – 0,005 мг/л против 1,9 мг/л в $N_{\text{ПДК}}$, в $N_{10\text{ПДК}}+\text{СК}$ – 0,005 мг/л против 2,3 мг/л в $N_{10\text{ПДК}}$.

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

Итак, в условиях различной нагрузки по нитратному азоту отмечено восстановление до исходных (до внесения вещества) следующих параметров: на фоне ПДК – содержания нитратов (к третьему месяцу после внесения нагрузки) в двух типах биотопов; на фоне 10 ПДК – содержания нитратов (к третьему месяцу) и структуры фитопланктонного сообщества по доминирующей группе и руководящему виду (ко второму месяцу) в заросших биотопах.

Салициловая кислота на фоне нагрузки по нитратному азоту усиливает эффект регуляции рогозом узколистной структуры сопутствующего фитопланктона, гидрохимического режима.

ВЫВОДЫ

1. Устойчивость рогоза узколистного к нагрузке по нитратному азоту обусловлена активизацией поглощения кислорода листьями в осенний период вегетации (сентябрь), перераспределением интенсивности темнового дыхания и образования воздухоносных полостей за счет разрушения паренхимных клеток с водных придаточных корней на почвенные. Чем выше концентрация нитратного азота в природной воде ($N_{\text{ПДК}}$, $N_{10\text{ПДК}}$), тем эффективнее протекают данные процессы. Воздействия салициловой кислоты в качестве антидепрессанта на изменение степени аэрации паренхимы и интенсивности темнового дыхания двух типов придаточных корней в условиях различной нагрузки по нитратному азоту не выявлено.

2. Противоположная направленность перестроечных процессов в анатомическом строении и в дыхательном метаболизме двух типов придаточных корней гелофита на нагрузку по нитратному азоту определяется их разными адаптационными возможностями и условиями обитания. Скорость ответной реакции на стресс-фактор (отсечение) почвенных корней выше, чем водных, что указывает на более высокий уровень адаптационных возможностей первых.

3. Увеличение концентрации нитратного азота в природной воде активизирует синтез пигментов (хлорофилла *a* и *b*), общего и белкового азота в листьях, накопление общей биомассы и потенциальной семенной продуктивности, превышение надземной

биомассы над подземной. Салициловая кислота на фоне азота активизирует накопление общей биомассы, превышение надземной биомассы над подземной; способствует приближению значений потенциальной семенной продуктивности к контрольным значениям.

4. Под действием нагрузки по нитратному азоту происходит активизация синтеза белковой, липидной, полисахаридной фракций в надземной части растений (листья, стебель) и выделения экзометаболитов. Салициловая кислота на фоне азота проявляет свойства антидепрессанта, стимулируя синтез белкового комплекса.

5. Выявленная экологическая пластичность *продукционных процессов* – увеличение общей биомассы, концентрации хлорофилла *a* и *b* в листьях; *дыхательного метаболизма* – восстановление интенсивности поглощения кислорода водными и почвенными корнями к исходным значениям (до внесения загрязнения), обуславливает относительную устойчивость физиолого-продукционных процессов у рогоза узколистного к исследуемым нами нагрузкам по нитратному азоту.

6. В условиях различной нагрузки по нитратному азоту отмечено восстановление до исходных (до внесения вещества) следующих параметров:

– на фоне ПДК – содержания нитратов (к третьему месяцу после внесения нагрузки) в двух типах биотопов;

– на фоне 10 ПДК – содержания нитратов (к третьему месяцу) и структуры фитопланктонного сообщества по доминирующей группе и руководящему виду (ко второму месяцу) в заросших биотопах.

Салициловая кислота на фоне нагрузки по нитратному азоту (в пределах ПДК и на порядок выше) усиливает эффект регуляции рогозом узколистным структуры сопутствующего фитопланктона (по доминирующей группе и руководящему виду), гидрохимического режима (по NO_3^-).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В изданиях рекомендованных ВАК:

1. Ратушняк, А.А. К вопросу о некоторых адаптационных физиолого-биохимических и анатомо-морфологических перестройках *Typha angustifolia* L. в условиях нагрузки по азоту / А.А. Ратушняк, **К.И. Абрамова**, А.С. Муравьева, Д.В. Иванов // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2008. – № 3. – С. 98–104.

2. Ratushnyak, Anna A. The role of exometabolites isolated from aquatic macrophytes in the activity of oiloxidizing microorganisms (*Pseudomonas melochlora*) / Anna A. Ratushnyak, Venera Z. Latypova, Marina G. Andreeva, **Kseniya I. Abramova**, Andrey Y.U. Ratushnyak and Maxim V. Trushin. // Fresenius Environmental Bulletin. – 2009. – Vol. 18. – No 7b. – p. 1381–1384.

В других изданиях:

3. Абрамова, К.И. К вопросу об особенностях аэрации коровой паренхимы придаточных корней корневища рогоза узколистного *Typha angustifolia* L. в условиях химического стресса / **К.И. Абрамова**, В.И. Полуянова, А.А. Ратушняк // Современные проблемы ботаники: Материалы конференции посвященной памяти В.В. Благовещенского. – Ульяновск: УГПУ, 2007. – С. 279–282.

4. Абрамова, К.И. Адаптационные механизмы высшей водной растительности (на примере рогоза узколистного *Typha angustifolia* L.) к евтрофной нагрузке по азоту / **К.И. Абрамова**, А.А. Ратушняк // Ломоносов: Материалы XIV Международной

научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. – Москва: МГУ, 2007. – С. 99.

5. Абрамова, К.И. Специфика темнового дыхания корневой системы *Typha angustifolia* L. в условиях микроэкосистемы / **К.И. Абрамова**, А.С. Муравьева, А.А. Ратушняк // Актуальні проблеми ботаніки та екології: Матеріали міжнародної конференції молодих учених-ботаніків. – Киев, 2007. – С. 195–196.

6. Абрамова, К.И. Особенности химической коммуникации водной растительности с сопутствующими гидробионтами разных таксономических групп / **К.И. Абрамова**, А.А. Ратушняк, Л.Ю. Халиуллина, М.Г. Борисович // Біологія: від молекули до біосфери: Матеріали II міжнародної конференції молодих учених. – Харьков, 2007. – С. 314–315.

7. Ратушняк, А.А. Структурные особенности фитопланктонных сообществ заросших и открытых биотопов в условиях евтрофной нагрузки по азоту / А.А. Ратушняк, **К.И. Абрамова**, Л.Ю. Халиуллина // Актуальные экологические проблемы республики Татарстан. – Казань, 2007. – С. 3–4.

8. Абрамова, К.И. Влияние антропогенного евтрофирования на структурные характеристики зообентоса в условиях модельного эксперимента / **К.И. Абрамова**, Н.Ш. Ахметзянова, А.А. Ратушняк // Принципы и способы сохранения разнообразия: Материалы III Всероссийской научной конференции. – Йошкар-Ола, Пушино, 2008. – С. 43–44.

9. Абрамова, К.И. Роль высшей водной растительности (на примере рогоза узколистного *Typha angustifolia* L.) в формировании структурных особенностей сопутствующих гидробионтов в условиях нагрузки по азоту / **К.И. Абрамова**, Л.Ю. Халиуллина, М.Г. Андреева, Т.А. Кондратьева, А.А. Ратушняк // Симбиоз-Россия–2008: Материалы I Всероссийского, с международным участием, конгресса студентов и аспирантов биологов. – Казань, 2008. – С. 108–110.

10. Абрамова, К.И. К вопросу об особенностях консортивных связей высшей водной растительности и сопутствующих гидробионтов в условиях азотной нагрузки и их роли в формировании качества воды / **К.И. Абрамова**, Л.Ю. Халиуллина, М.Г. Андреева, Т.А. Кондратьева, А.А. Ратушняк // Биология: традиции и инновации в XXI веке (сборник статей). – Казань: КГУ –2008. – С. 6–8.

11. Ratushnyak, A.A. The influence of the community of water macrophytes on regulation of water quality and biodiversity of the Kuibyshev reservoir littorals (Republic of Tatarstan, Russia) / A.A. Ratushnyak, N.Sh. Ahmetsyanova, A.T. Gorshkova, M.G. Andreeva, O.V. Morozova, **K.I. Abramova**, M.V. Trushin // Egyptian Journal of Biology. – 2007. – Vol. 9. – p. 24–31.