

УДК 581.526.3

**К ВОПРОСУ О НЕКОТОРЫХ АДАПТАЦИОННЫХ
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ И АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ
ПЕРЕСТРОЙКАХ ТУРНА ANGUSTIFOLIA L.
В УСЛОВИЯХ НАГРУЗКИ ПО АЗОТУ**© 2008 г. *А.А. Ратушняк*¹, *К.И. Абрамова*¹, *А.С. Муравьёва*², *Д.В. Иванов*¹¹ Институт экологии природных систем АН РТ² Казанский госуниверситет им. В.И. Ульянова-Ленина

allelop@rambler.ru

Поступила в редакцию 12.05.2008

Изложены результаты исследования адаптационных перестроек высшей водной растительности (на примере *Typha angustifolia* L.) в условиях различной нагрузки по нитратному азоту. Выявлено, что хлорофилльные индексы являются показателями потенциальной продуктивности гелофитов. Нагрузка по нитратному азоту (на порядок выше ПДК) влияет на процессы поглощения кислорода придаточными корнями, подавляя дыхание водных и стимулируя дыхание почвенных. Обнаружена трехфазная реакция изменения интенсивности темнового дыхания отсеченных придаточных корней при инкубации в природной воде: фаза физиологической депрессии, репарации, стабилизации. Скорость изменения интенсивности дыхания в ответ на стресс-фактор (отсечение) у почвенных корней выше, чем у водных. Азотный стресс ускоряет разрушение клеток паренхимы в придаточных почвенных корнях, увеличивая площадь воздушных полостей.

Ключевые слова: высшая водная растительность, адаптационная перестройка, *Typha angustifolia* L.

Введение

Увеличение антропогенной нагрузки на гидрэкосистемы повышает опасность снижения или истощения способностей их к саморегуляции, самоочищению. Данные процессы реализуются за счет взаимодействия физических, химических, биологических процессов, в том числе с участием высшей водной растительности. Исследования особенностей физиолого-биохимических процессов, в частности дыхательного метаболизма, формирования белкового, липидного, полисахаридного комплексов, анатомо-морфологического строения в условиях неблагоприятных факторов среды обитания – путь к познанию механизмов адаптационных перестроек высшей водной растительности и их роли в формировании качества воды.

Целью исследований была попытка проследить адаптационные физиолого-биохимические и анатомо-морфологические перестройки рогоза узколистного (*Typha angustifolia* L.) в условиях различной нагрузки по нитратному азоту.

Экспериментальная часть

Опыты проводили в течение трех вегетационных сезонов 2005–2007 гг. на территории Института экологии природных систем АН РТ.

Создавались микрэкосистемы, включавшие природную воду с сопутствующими гидробионтами, куртины рогоза узколистного, взятые из чистой заросли рогоза озера Средний Кабан, высаженные в пластмассовые емкости объемом 30 литров. В опытных вариантах растения выращивали в условиях нагрузки по азоту в пределах ПДК (предельно допустимой концентрации) и на порядок выше (азот 40 мг/л, азот 400 мг/л соответственно). Азот вводили в мае в форме натриевой соли (NaNO_3). Контролем служил вариант без добавок. Опыты проводили в трехкратной повторности по схеме:

1. контроль – природная вода без добавок;
2. опыт 1 – природная вода + азот 40 мг/л;
3. опыт 2 – природная вода + азот 400 мг/л.

Исследовали надземную и подземную части растения. Содержание хлорофилла и каротиноидов в надземной части растения определяли спектрофотометрическим методом [1]. Интенсивность темнового дыхания органов определяли манометрическим методом Варбурга [2]. Изучали анатомическое строение почвенных корней. Поперечные срезы фрагментов почвенных корней длиной 6 см от точки роста изготавливали вручную при помощи бритвы. Анатомический анализ и микрофотографирование выполняли с помощью светового микроскопа марки «Биолам Р17». Потенциальную семенную

продуктивность определяли по методике Горбика [3]. Биомассу надземной и подземной частей выражали в г сухого вещества на 1 м² [4]. Химический состав природной воды определяли по общепринятой методике [5]. Опыты проводили в течение вегетационного сезона, с начала мая по конец октября. Полученные данные статистически обрабатывали с использованием пакета Microsoft Excel [6].

Результаты и их обсуждение

Полученные данные свидетельствуют о том, что нагрузки по азоту в среде обитания приводят к адаптационным физиолого-биохимическим и анатомо-морфологическим перестройкам высшей водной растительности.

Наиболее благоприятным для фотосинтеза рогоза узколистного (табл. 1) и конечного накопления органического вещества был вариант **азот 400** (табл. 2). Растения имели темно-зеленую окраску, что было связано с высоким содержанием пигментов. В контроле растения были хлоротичными, содержание пигментов значительно ниже, чем в опытных вариантах с азотом. Невысокое содержание пигментов и относительно слабое развитие листовой поверхности явились одной из основных причин низкой биомассы надземной части растений в контрольном варианте.

Обнаружена зависимость между содержанием хлорофилла в целом растении рогоза и его биомассой, что согласуется с концепцией Ю.Е. Андриановой и И.А. Тарчевского [7] о том, что хлорофилльные индексы являются показателями потенциальной продуктивности наземных растений. Высокие дозы азота способ-

ствуют интенсификации как синтеза хлорофилла, так и накопления биомассы.

Исследование подземной и надземной биомасс растений в опытных вариантах показало, что в генеративной фазе наблюдается прирост сухой биомассы по сравнению с контролем. В контроле и в варианте **азот 40** основная доля принадлежит подземной части растения (контроль – 67.6%; **азот 40** – 64.7%). В случае **азота 400** большая доля принадлежит надземной части (53.6%) (табл. 2). Это позволяет предположить, что в ходе онтогенеза при азотной нагрузке 400 мг/л растения больше оставляют фотосинтезатов в надземной части и меньше распределяют их в корни в нисходящем потоке, работая на «собственные нужды».

Эти результаты согласуются с данными о доле гликолиза в темновом дыхании придаточных корней. С целью определения источников энергии в корнях был использован специфический ингибитор гликолиза NaF (0.03 моль). Доля гликолиза может лимитироваться недостатком углеводов (субстратов дыхания), поступающих из листьев в корни в нисходящем транспорте фотосинтезатов. Различные добавки азота в наших экспериментах в разной степени повышают долю гликолиза в дыхательном метаболизме по сравнению с контролем. В варианте **азот 400** доля гликолиза в дыхании корней рогоза узколистного снижается по сравнению со случаем **азот 40**. В варианте **азот 400** доля гликолиза в общем дыхании составляет 77%, а в **азоте 40** – 44%.

Семенная продуктивность – один из главных показателей жизнеспособности вида в конкретных условиях обитания. На семенную продуктивность влияет весь комплекс факторов ме-

Таблица 1

Содержание пигментов в надземной части рогоза узколистного в различных вариантах опыта

Варианты опыта	Пигменты, мг/г сухой массы		
	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды
Контроль	8.96±0.47	3.89±0.22	0.71±0.03
Азот 40 мг/л	8.87±0.54	5.37±0.27	1.17±0.06
Азот 400 мг/л	11.46±0.63	6.19±0.27	0.88±0.05

Таблица 2

Характеристика сухой биомассы надземной и подземной частей рогоза узколистного в различных вариантах опыта

Варианты опыта	Средняя высота, см	Общая биомасса, г	Надземная биомасса		Подземная биомасса	
			г	% от общей биомассы	г	% от общей биомассы
Контроль	140.0±7.0	246.4±11.8	79.8±3.6	32.4	166.6±8.0	67.6
Азот 40 мг/л	150.0±7.5	346.8±14.6	122.4±6.1	35.3	224.4±11.2	64.7
Азот 400 мг/л	162.0±8.1	459.8±22.5	246.4±9.8	53.6	213.4±8.7	46.4

Таблица 3

Размеры ости початка и потенциальная семенная продуктивность (ПСП) рогоза узколистного в различных вариантах опыта (l – длина ости соцветия, D и d – диаметры основания и верхушки ости соцветия)

Варианты опыта	l , мм	D , мм	d , мм	ПСП, тыс. шт.
Контроль	260.2±13.0	3.0±0.2	2.3±0.1	207.39±10.37
Азот 40 мг/л	330.5±16.5	5.0±0.3	3.0±0.2	397.32±19.87
Азот 400 мг/л	345.6±17.3	5.1±0.3	3.0±0.2	420.57±21.03

Таблица 4

Изменение интенсивности дыхания органов рогоза узколистного (Q , мкл O_2 /(г·ч) в сезонной динамике в различных вариантах опыта

Варианты опыта	Орган	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь
Контроль	Листья	?	514.9±57.9	368.97±56.5	380.1±30.7	70.2±3.5
	Водн. корни	144.1±6.8	345.0±13.8	107.6±4.5	111.4±5.4	190.6±7.6
	Почв. корни	108.1±5.4	143.7±5.0	184.5±5.5	175.9±8.1	175.0±7.7
Азот 40 мг/л	Листья	?	533.95±44.6	438.5±58.0	477.7±48.3	261.9±11.7
	Водн. корни	?	243.2±9.9	235.8±9.7	258.4±11.6	192.8±8.8
	Почв. корни	?	209.0±9.4	115.7±4.2	127.7±4.7	153.4±5.8
Азот 400 мг/л	Листья	?	652.9±46.7	548.4±47.9	479.2±40.9	161.3±6.9
	Водн. корни	?	120.0±3.8	150.2±4.4	94.7±3.1	224.0±8.3
	Почв. корни	?	272.4±10.6	163.2±7.0	182.6±6.0	158.3±5.4

? Опыты не проводились.

стообитания популяции, и поэтому она может служить их интегральным показателем [8]. Результаты исследований показали, что наибольшей семенной продуктивностью обладают растения в вариантах с азотной нагрузкой (табл. 3).

Известно, что продуктивность растений зависит не только от площади поверхности листьев и активности фотосинтеза, но также от противоположного ему процесса дыхания. В работе А.И. Мережко с соавт. [9] низкий урожай фитомассы тростника обыкновенного был отмечен при относительно высокой интенсивности фотосинтеза, что свидетельствует о более активном использовании пластических веществ в процессе дыхания. Однако интенсивность дыхания не всегда выступает показателем убыли сухого вещества в растении. При достаточном обеспечении растений элементами питания она может служить показателем уровня обмена веществ, что и было отмечено в наших экспериментах. С увеличением концентрации вносимого нитратного азота повышалась интенсивность дыхания листьев рогоза узколистного и увеличивались характеристики урожайности. Образование биомассы макрофитов тесно связано с поглощением химических веществ из воды, что вносит вклад в процессы самоочищения. Чем выше их биомасса, тем больше поглощаемых веществ находится в связанном состоянии. Образование надземной биомассы этих растений в значительной мере определяется развитием и функциональной активностью их корневых систем [10].

В результате наших исследований было установлено, что дыхание листьев рогоза узколистного превышает дыхание корней. Подобная закономерность – высокая доля дыхания надземной части – прослеживается во всех вариантах и в общем онтогенезе растения (табл. 4).

Исследования поглотительной способности кислорода водных и почвенных корней в контроле показали их различия в сезонной динамике. Весной дыхание водных было в 1.3 раза выше чем почвенных и составляло 144.1 и 108.1 мкл O_2 /(г·ч) соответственно (табл. 4). В процессе вегетации закономерность менялась. В летний период почвенные корни в 1.6 раза интенсивнее поглощали кислород, чем водные: их дыхание равнялось величинам 175.9 и 111.4 мкл O_2 /(г·ч) соответственно.

По всей вероятности, в ходе онтогенеза аттрагирующая способность придаточных корней в поглощении метаболитов (субстратов дыхания) из надземной части различна. Данные табл. 4 свидетельствуют о более высокой аттрагирующей способности почвенных корней по сравнению с водными. Вероятно это связано с более интенсивными ростом, поглощением и утилизацией питательных элементов из водной среды почвенными корнями по сравнению с водными.

Поступление нитратного азота в природную воду по-разному влияет на интенсивность дыхания двух типов корней рогоза.

Установлено, что высокая или сверхвысокая нагрузка по азоту оказала ингибирующее воз-

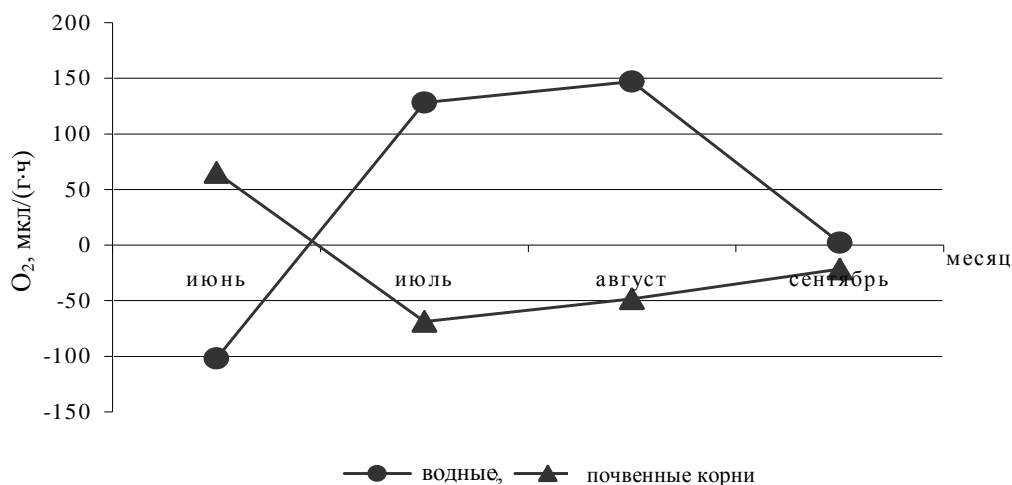


Рис. 1. Влияние азота 40 мг/л на прирост интенсивности дыхания придаточных корней по отношению к контролю

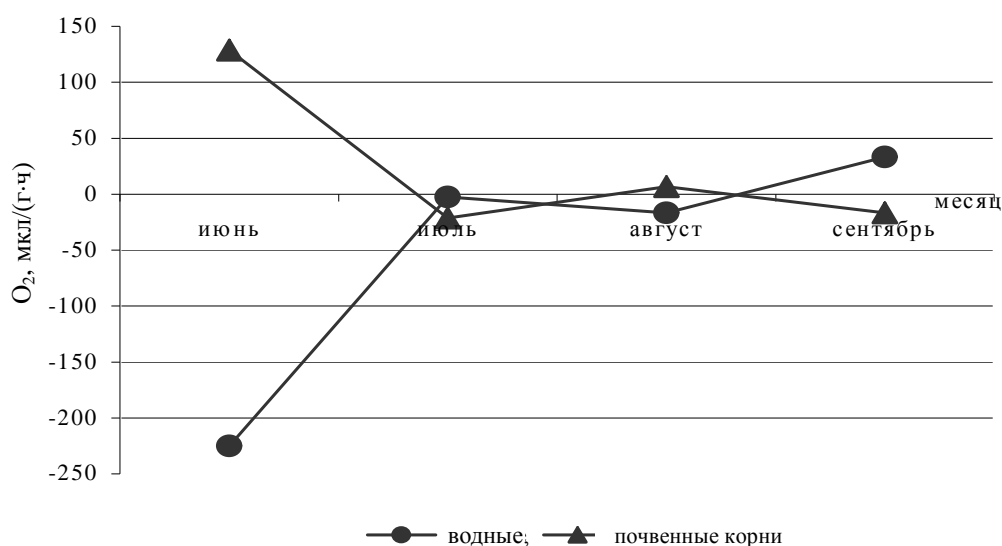


Рис. 2. Влияние азота 400 мг/л на прирост интенсивности дыхания придаточных корней по отношению к контролю

действие на водные корни, снижая их интенсивность дыхания по сравнению с контролем в начальный период после одноразового внесения нитратного азота. В варианте **азот 40** отмечено ее подавление на 101.9 мкл O_2 /(г·ч), а в **азоте 400** – на 225.0 мкл O_2 /(г·ч) соответственно (рис. 1). При этом чем выше концентрация азота, тем сильнее эффект подавления. У почвенных корней мы наблюдаем противоположный эффект – стимуляцию поглощения кислорода: в **азоте 40** на 65.3 мкл O_2 /(г·ч), а в **азоте 400** – на 128.7 мкл O_2 /(г·ч) (рис. 2). Это может свидетельствовать об усилении способности почвенных корней к поглощению веществ из среды обитания.

Через месяц после внесения нитратного азота (июнь) были отмечены изменения в интенсивности поглощения кислорода корнями. Вероятно это связано со снижением концентрации азота в воде, как показывают результаты химического анализа (рис. 3, 4).

Изучая специфику интенсивности дыхания корней в условиях нагрузки (азотной), нельзя забывать о таком стресс-факторе, как отсечение их от надземной части. Поэтому следующим этапом наших исследований было изучение временной динамики дыхания разных типов корней рогоза при отсечении. При их инкубации в природной воде от 1 до 24 часов нами обнаружена трехфазная реакция изменения интенсивности темного дыхания: фазы физиологической депрессии, репарации, стабилизации. Фаза репарации двух типов корней происходила на 4-й – 5-й час после их отсечения; фаза стабилизации отмечена на 10-й – 11-й час инкубации у почвенных и к 14-му – 15-му часу у водных. Полученные результаты свидетельствуют о том, что скорость ответной реакции на стресс-фактор (отсечение) почвенных корней выше водных, а следовательно, выше и адаптационные возможности первых (рис. 5). Следует

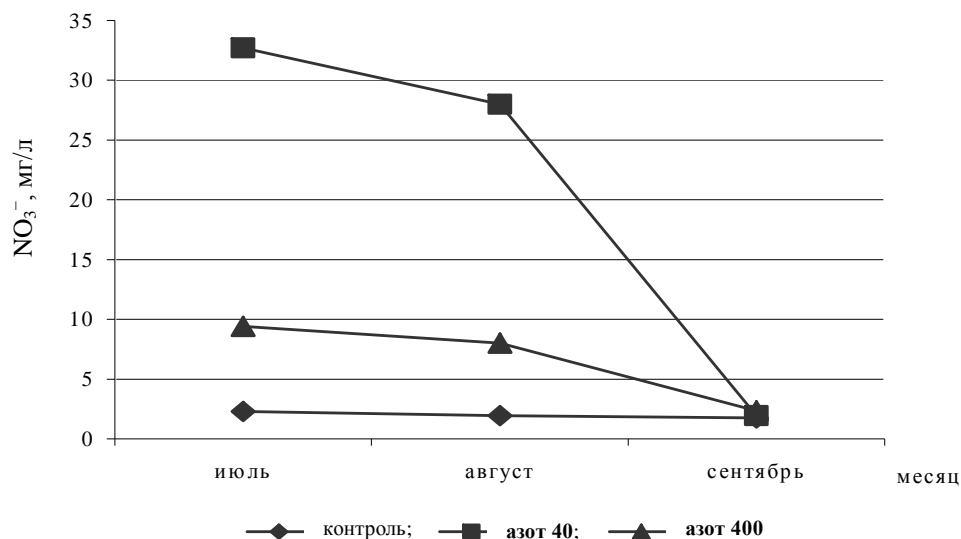


Рис. 3. Динамика содержания нитратного азота в природной воде в различных вариантах опыта

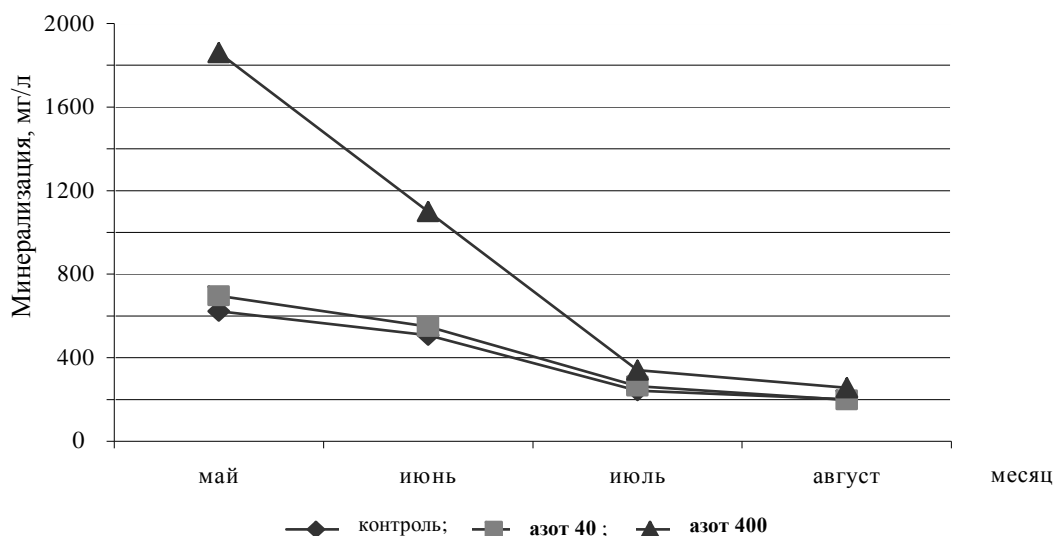


Рис. 4. Динамика минерализации природной воды в различных вариантах опыта

отметить, что сходная динамика дыхания была отмечена у отсеченных корней яровой пшеницы в процессе их «адаптивного старения»: фаза стабилизации наступала после 4-х часов инкубации [11]. Сравнительный анализ временной динамики дыхания отсеченных корней у наземных и водных растений показал, что у последних процесс стабилизации осуществляется за более длительный период. Вероятно это связано с физиолого-биохимическими особенностями растений и различными условиями их обитания.

С целью выявления особенностей поступления кислорода из надземной части в корни были проведены исследования анатомо-морфологических характеристик почвенных корней. Данные табл. 5 дают представление о количествен-

ных различиях соотношения площади воздушных полостей и площади всего среза на поперечных срезах придаточных корней корневищ рогоза узколистного в различных вариантах опыта. Измерения проводились через две недели после внесения азота. Отмечены изменения в степени аэрации придаточных корней корневищ, произрастающих в условиях нагрузки по азоту (40 мг/л, 400 мг/л), по сравнению с контролем. Действующие вещества вызывают разрушение клеток паренхимы и способствуют образованию воздухоносных полостей, увеличивая их площадь. В контроле относительная доля составляет 7.19% от площади всего среза; в **азоте 40** – 10.85%; в **азоте 400** – 15.71%.

Фотографии поперечных срезов дают нам возможность визуально проследить количест-

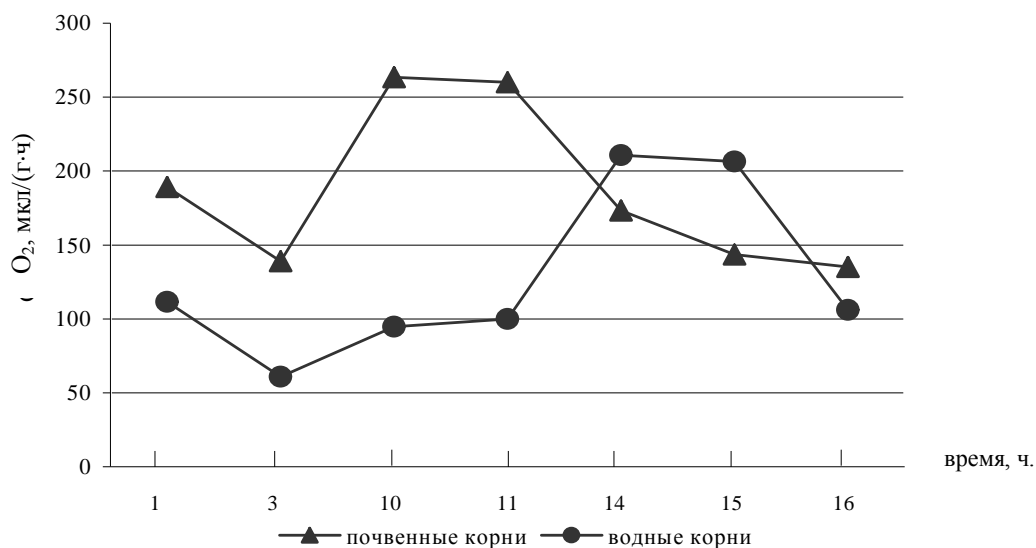


Рис. 5. Изменение интенсивности дыхания придаточных корней рогоза узколистного в процессе адаптивного старения

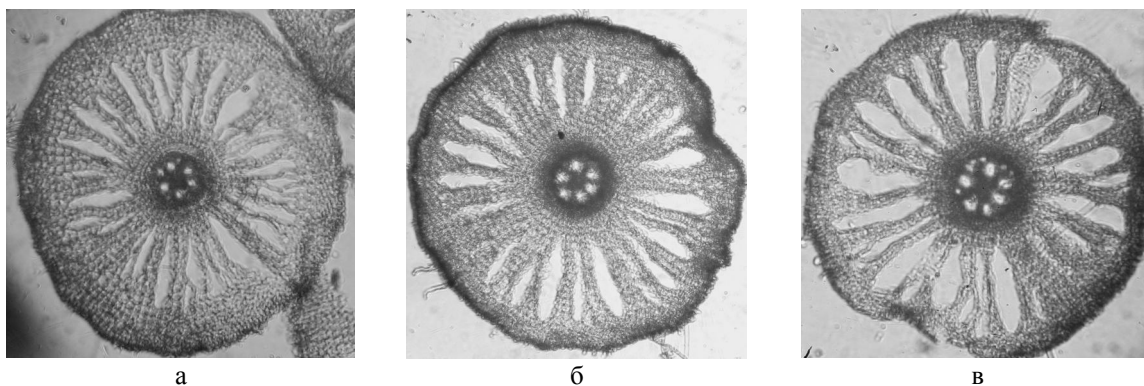


Рис. 6. Поперечный срез почвенных корней *Typha angustifolia* L. в вариантах опыта: а – контроль; б – азот 40 мг/л; в – азот 400 мг/л

Таблица 5

Соотношение площадей поперечного среза ($S_{ср.}$) и воздушных полостей ($S_{в.п.}$) почвенных корней *Typha angustifolia* L. в различных вариантах опыта

Варианты опыта	$S_{ср.}, мм^2$	$S_{в.п.}, мм^2$	$S_{в.п.} от S_{ср.}, \%$
Контроль	1.53 ± 0.054	0.11 ± 0.004	7.19
Азот 40 мг/л	1.75 ± 0.061	0.19 ± 0.008	10.85
Азот 400 мг/л	1.20 ± 0.042	0.19 ± 0.007	15.71

венные изменения площадей воздушных полостей (рис. 6). Установлено, что различная азотная добавка в среду обитания растений в той или иной степени влияет на количественные характеристики межклеточных воздухоносных полостей в придаточных корнях корневища рогоза узколистного. Это является адаптивно-приспособительным признаком данного фенотипа.

Выводы

Установлено, что различные нагрузки по нитратному азоту среды обитания обуславливают особенности физиолого-биохимических и

анатомо-морфологических перестроек высшей водной растительности:

1. Дозы нитратного азота в пределах ПДК (40 мг/л) и на порядок выше (400 мг/л) интенсифицируют в рогозе узколистом: синтез пигментов – сумма хлорофилла ($a + b$) повышается на 10.8% и 37.3%, каротиноидов – на 64.7% и 23.9%; накопление биомассы – на 40.7% и 86.6%; семенную продуктивность – на 91.6% и 102.8% соответственно.

2. В условиях азотной нагрузки (на порядок выше ПДК) рогоз узколистный больше оставляет фотоассимилятов в надземной части

(53.6%), работая на «собственные нужды», в то время как в контроле и в варианте азот 40 мг/л в надземной части остается 32.4% и 35.3% соответственно.

3. Выявлено перераспределение активности дыхательного метаболизма рогоза узколистно-го, сразу после одноразового внесения в среду обитания нитратного азота (40 мг/л, 400 мг/л), с водных корней на почвенные. Это позволяет реализовать принцип экономии энергетических ресурсов водных корней, непосредственно контактирующих с растворенными соединениями нитратного азота.

4. Обнаружена трехфазная реакция изменения интенсивности темнового дыхания отсеченных придаточных корней при инкубации в природной воде: фазы физиологической депрессии, репарации, стабилизации. Скорость ответной реакции на стресс-фактор (отсечение) почвенных корней выше, чем водных, что указывает на более высокий уровень адаптационных возможностей первых.

5. Возмущающий фактор (нагрузка по нитратному азоту на порядок выше ПДК), сила действие которого превышает протекторный потенциал данной гидробиосистемы, приводит в действие индуцибельные механизмы защиты, отсутствующие при допустимых пределах нагрузки (в пределах ПДК) – повышение степени аэрации придаточных корней корневищ рогоза узколистного, а следовательно, их устойчивости в условиях кислородного голодания; повышение интенсивности метаболических процессов за счет разрушения паренхимальных клеток и увеличения воздухоносных полостей.

Список литературы

1. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев. В сб.: Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 154–170.
2. Семихатова О.А., Чулановская М.В. Манометрические методы изучения дыхания и фотосинтеза растений. М.–Л.: Наука, 1965. 168 с.
3. Горбик В.П. Методика изучения семенной продуктивности (*Typha angustifolia* L. и *Typha latifolia* L.) // Гидробиол. журн. 1984. Т. 20. № 4. С. 86–87.
4. Катанская В.М., Распопов И.М. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. Л.: Наука, 1983. С. 163–169.
5. Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. М.: Химия, 1984. 447 с.
6. Рокицкий Р.Ф. Основы вариационной статистики. Минск: БГУ, 1961. 220 с.
7. Андрианова Ю.Е., Тарчевский И.А. Хлорофилл и продуктивность растений. М.: Наука, 2000. 135 с.
8. Горбик В.П. Семенная продуктивность *Typha angustifolia* L. днепровских водохранилищ // Гидробиол. журн. 1988. Т. 24. № 2. С. 59–63.
9. Мережко А.И., Якубовский К.Б., Шиян П.Н. Изменение некоторых физиолого-биохимических показателей у *Phragmites communis* Trin. при различном минеральном питании в условиях опыта // Гидробиол. журн. 1974. Т. 10. № 3. С. 90–93.
10. Смирнова Н.Н. Эколого-физиологические особенности корневой системы прибрежно-водных растений // Гидробиол. журн. 1980. Т. 16. № 3. С. 60–72.
11. Пахомова В.М., Гордон Л.Х. Изменение физиологического состояния клеток корней пшеницы в процессе адаптивного старения // Физиол. раст. 1984. Т. 31. Вып. 6. С. 1162–1169.

SOME ADAPTIVE PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL AND ANATOMIC-MORPHOLOGICAL ALTERATIONS OF *TYPHA ANGUSTIFOLIA* L. UNDER CONDITIONS OF NITROGEN LOAD

A.A. Ratushnyak, K.I. Abramova, A.S. Murav'yova, D.V. Ivanov

The investigation results are presented of macrophyte adaptive alterations (using the example of reed mace *Typha angustifolia* L.) under conditions of different nitrate-nitrogen load. Chlorophyll indexes have been found to be indicators of helophyte potential productivity. Tenfold nitrate-nitrogen load (as compared with MPC) inhibits oxygen consumption by aquatic roots and stimulates its consumption by soil roots. Three-phase alteration of dark respiration intensity has been found in truncated additional roots incubated in natural water, these phases being physiological depression, reparation and stabilization. The respiration intensity alteration rate as a response to the stress factor (truncation) is higher for soil roots than for aquatic ones. Nitrogen stress accelerates the destruction of parenchyma cells in additional soil roots increasing the area of air pockets.