

**І.Л. Суходольська**  
Рівненський державний гуманітарний університет  
e-mail: irchukmail@gmail.com

## **РОЛЬ *TYPHA ANGUSTIFOLIA* L. У ЗМІНІ ВМІСТУ АМОНІЮ У РІЧКАХ З РІЗНИМ РІВНЕМ АНТРОПОГЕННОГО НАВАНТАЖЕННЯ**

У статті проаналізовано роль вищої водяної рослинності (*Typha angustifolia* L.) в формуванні екологічного стану річкових екосистем. Визначено, що у водяних рослин функціонує декілька ферментних систем перетворення нітрогенвмісних сполук, насамперед, зв'язування амонію, які при забрудненні води активуються. Виявлено зміну вмісту іонів амонію у воді в залежності від рівня антропогенного навантаження. Встановлено, що присутність *Typha angustifolia* L. у річках досліджуваних територій підвищує ефективність утилізації амонію. Показано, що активність ензимів азотного обміну у вищих водяних рослин тісно пов'язана з вмістом  $\text{NH}_4^+$  у воді: за природного рівня  $\text{NH}_4^+$  його зв'язування здійснюється послідовним активуванням амонійзв'язуєчих ензимів рослин, а за підвищеного вмісту – переважно за рахунок НАДФ-глутаматдегідрогенази. Зокрема, за високої активності ферменту, який інтенсивно асимілював амоній у вересні, його вміст у воді річок з різним рівнем антропогенного навантаження значно зменшувався (у 2–4 рази).

*Ключові слова:* гідрохімічні параметри, *Typha angustifolia* L., амоній, глутаматдегідрогеназа, глутамінсинтетаза, антропогенне навантаження.

### **ВСТУП**

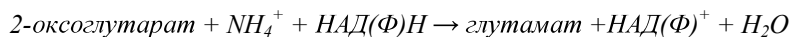
У водних екосистемах біогеохімічна міграція елементів здійснюється за безпосередньою участю вищих водяних рослин, які займають значні площі мілководь, продукують велику біомасу та є потужним природним біофільтром. Концентруючи з води та донних відкладів різноманітні елементи, вони депонують їх у корінні та кореневищах і на тривалий час вилучають з біотичного кругообігу гідроекосистеми. Здатність водяних рослин акумулювати речовини залежить від коефіцієнта біологічного накопичення та визначається екологічними особливостями виду, адаптаційними можливостями, хімічною будовою, роллю сполук у метаболізмі рослин і інтенсивністю антропогенного навантаження [6, 17, 18].

В умовах довгострокового впливу хімічних факторів середовища вищі водяні рослини більш адекватно відображають екологічний стан певної ділянки водойми. Зокрема, великі макрофіти здатні вилучати з води у значних кількостях фізіологічно активні речовини – феноли, солі важких металів, пестициди та біогенні елементи знижуючи ступінь евтрофікації водойм [9, 14, 20]. Значна частина цих елементів залишається у відмерлих залишках рослин, зокрема, в листі, стеблах і суцвіттях [19, 21], що може негативно впливати на якість води, викликаючи погіршення газового режиму, підвищення вмісту аміаку, а накопичені раніше речовини можуть знову потрапляти у воду. Разом з тим, встановлено [17, 18], що зі зниженням температури води суттєво сповільнюється процес деструкції макрофітів. Тобто вищі водяні рослини не є суттєвими забруднювачами автохтонною речовиною в осінньо-зимовий період [17].

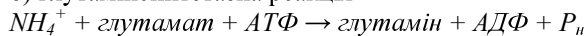
*Typha angustifolia* L. – один з поширених представників вищої водяної рослинності, який проявляє значні адаптаційні можливості в умовах комплексного забруднення водного середовища. Маючи добре розвинену кореневу систему він поглинає сполуки азоту безпосередньо з ґрунту, тому в його заростях зазвичай фіксується підвищений вміст іонів амонію [5, 6, 24]. Здатність до утилізації неорганічних сполук азоту у *Typha angustifolia* L. складає близько 28% та визначається величиною рН водного середовища, вмістом розчиненого кисню, температурою води, антропогенним впливом, тощо [13, 23].

Зарості вищої водяної рослинності різко змінюють хімічні властивості водного середовища: прискорюють фазу нітрифікації, знижують вміст амонійного азоту, тощо [13, 14, 20]. Ця здатність забезпечується амонійзв'язуючими властивостями рослин. Серед систем зв'язування аміаку найефективнішими є [19]:

а) глутаматдегідрогеназна реакція:



б) глутамінсинтезна реакція:



Тому метою дослідження було з'ясувати роль *Typha angustifolia* L. у зміні вмісту амонію у річках з різним рівнем антропогенного навантаження.

## МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

Під час дослідження у складі Рівненської області було умовно виділено 4 типи територій, що відрізняються за рівнем антропогенного навантаження: рекреаційна, аграрна, урбанізована та техногеннотрансформована території. До рекреаційної території було віднесено Заріченський район, оскільки у ньому розташований важливий об'єкт природно-заповідного фонду Рівненщини – регіональний ландшафтний парк «Прип'ять-Стохід». За аграрну територію було обрано один з розорених південних районів області – Дубенський. До урбанізованої території було включено місто Рівне, до техногеннотрансформованої – Здолбунівський район, в якому зосереджено найбільші підприємства Рівненщини (ТОВ «Укрцемремонт» і ВАТ «Здолбунівський механічний завод»).

Було проаналізовано 48 проб води та 24 зразки *Typha angustifolia* L. відібраних впродовж червня та вересня 2013 р. з різних створів малих річок Рівненщини відповідно до рівня антропогенного навантаження території.

Вміст амонію визначали фотометричним методом за якісною реакцією з реактивом Несслера при довжині хвилі 420 нм. рН води визначали за допомогою іономіра ЭВ-74, вміст кисню у воді – за допомогою киснеміра АЖА-101М. Активність глутаматдегідрогенази (КФ 1.4.1.2) встановлювали спектрофотометричним методом за швидкістю окиснення НАДН при 340 нм [16]. Активність глутамінсинтезази (КФ 6.3.1.2) досліджували в синтетазній реакції [7].

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Гідрохімічні показники.** Амоній відіграє важливу роль у функціонуванні водних екосистем. Його вміст у водоймах визначається значенням рН і певною мірою температурою води [3, 22].

У червні перевищення норми ГДКрибгосп. щодо вмісту амонію у водоймі рекреаційної території складало 3,6 рази, урбанізованої – 4,8 рази, аграрної – 2,4 рази, техногеннотрансформованої – 1,6 рази. Щодо вересня, то вміст  $\text{NH}_4^+$  значно зменшився відносно червня. Так, перевищення норми ГДКрибгосп. у вересні водойми рекреаційної території складало 1,2 рази, у водоймах урбанізованої та аграрної 1,3 рази. Концентрація  $\text{NH}_4^+$  у водоймі техногеннотрансформованої території знаходилася в межах норми ГДКрибгосп. (табл. 1).

Надлишковий вміст азотовмісних речовин призводить до зниження рівня кисню та погіршення перебігу біологічних процесів у водоймах. Розчинений у воді кисень характеризує баланс продукційно-деструктивних процесів, ступінь забруднення та сомоочищення водних об'єктів. Вміст розчиненого кисню у водоймі рекреаційної території був мінімальним у червні (3,14 мг/дм<sup>3</sup> при 15,50°C), максимальним у вересні (4,61 мг/дм<sup>3</sup> при 16,33°C) в порівнянні з усіма досліджуваними територіями. У водоймі урбанізованої, аграрної та техногеннотрансформованої територій вміст кисню збільшився в 1,37, 1,28 та 1,25 рази у вересні відносно червня.

Зазвичай, зарості вищої водної рослинності значно впливають на кисневий режим (інколи аерація води в результаті фотосинтезу переважає над атмосферною). Однак, у щільних заростях *Typha angustifolia* L. вміст кисню залишається досить низьким. Часто занурена частина рослин використовує кисень для процесу дихання, а кисень, який утворюється в процесі фотосинтезу повітряно-водними рослинами виділяється в атмосферу, що знижує реаераційну здатність цих угруповань [17]. Крім того, розчинений кисень може витрачатись на окислення надлишку забруднюючих речовин, які надходять зі стоками, що посилює дефіцит кисню. З витратою кисню на процеси окислення тісно пов'язано й зниження рН водного середовища. Величина водневого показника визначає розвиток і життєдіяльність водних рослин, стійкість різних форм міграції елементів та змінює токсичність забруднюючих речовин [21].

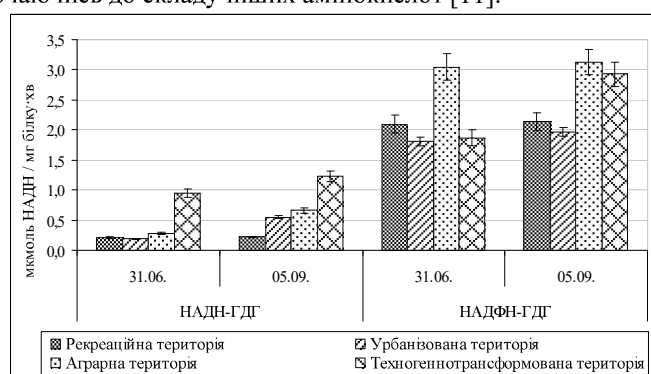
У водоймі рекреаційної території значення рН у червні та вересні було 5,18 та 5,19. У водоймі урбанізованої території показник змінювався від 5,90 до 4,89. У водоймі аграрної території значення рН у червні складало 5,89, у вересні – 5,18. У водоймі техногеннотрансформованої території значення рН варіювали від 6,04 у серпні до 4,96 у вересні.

Таблиця 1. Гідрохімічні показники проб води малих річок Рівненщини з різним рівнем антропогенного навантаження ( $M \pm m$ ;  $n=5-6$ )

Table 1. Hydrochemical parameters of water samples from small rivers with different levels of anthropogenic pressure located in Rivne region ( $M \pm m$ ;  $n = 5-6$ )

Території	Гідрохімічні показники			
	$\text{NH}_4^+$ , мг/дм <sup>3</sup>	$\text{O}_2$ , мгО/дм <sup>3</sup>	рН, моль/л	t (води) °C
31 червня				
Рекреаційна	1,814±0,017	3,14±0,01	5,19±0,03	15,50±0,11
Урбанізована	2,397±0,019	3,23±0,01	5,90±0,05	16,75±0,05
Аграрна	1,223±0,018	3,20±0,01	5,98±0,05	16,17±0,05
Техногенно- трансформована	0,823±0,012	3,26±0,01	6,04±0,06	15,33±0,10
5 вересня				
Рекреаційна	0,597±0,004	4,61±0,00	5,18±0,05	16,33±0,10
Урбанізована	0,649±0,013	4,44±0,00	4,89±0,02	16,50±0,11
Аграрна	0,626±0,005	4,09±0,00	5,18±0,05	16,67±0,10
Техногенно- трансформована	0,423±0,012	4,06±0,00	4,96±0,02	16,00±0,00

**Активність глутаматдегідрогенази.** Одним з основних ферментів асиміляції азоту вважається глутаматдегідрогеназа. ГДГ в рослинних клітинах присутня у вигляді багатьох молекулярних форм, кількість і відносний вміст яких відрізняється в різних органах та може змінюватися в процесі розвитку рослин і умов зовнішнього середовища [1,4]. Глутаматдегідрогеназа каталізує взаємоперетворення  $\alpha$ -кетоглутарату і глутамату, при якому одночасно відбувається взаємотрансформація неорганічного азоту амонію і органічного  $\alpha$ -амінного азоту. Роль відновника може відігравати НАДН або НАДФН [4]. НАДФН та НАДН приймають участь у енергетичному забезпеченні відновлення нітратів [8, 10]. Далі за дії трансаміназ азот глутамінової кислоти перерозподіляється, включаючись до складу інших амінокислот [11].



Мал. 1. Активність НАДН та НАДФН – залежних глутаматдегідрогеназ у *Typha angustifolia* L. ( $M \pm m$ ,  $n = 3$ )

Fig 1. Activity of NADH and NADPH dependent glutamate dehydrogenases in *Typha angustifolia* L. ( $M \pm m$ ,  $n = 3$ )

Відомо, що активність глутаматдегідрогенази визначається типом обміну речовин конкретного організму, органу або тканини, фізіологічною стадією розвитку і станом метаболічних реакцій у визначений час [10, 12].

На мал. 1 наведені середні значення активності НАДН-глутаматдегідрогенази (НАДН-ГДГ) та НАДФН-глутаматдегідрогенази (НАДФН-ГДГ) *Typha angustifolia* L.

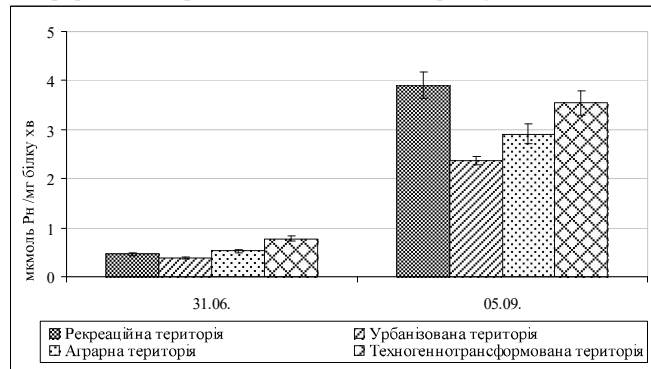
Активність НАДН-ГДГ *Typha angustifolia* L. у водоймі рекреаційної території впродовж червня та вересня була майже однакова і складала  $0,21 \cdot 10^{-3}$  та  $0,22 \cdot 10^{-3}$  мкмоль НАДН/мг білку·хв. Активність НАДН-ГДГ *Typha angustifolia* L. у водоймі урбанізованої території в червні становила  $0,19 \cdot 10^{-3}$ , а у вересні збільшилася до  $0,55 \cdot 10^{-3}$  мкмоль НАДН / мг білку·хв. У водоймі аграрної території активність НАДН-ГДГ була  $0,28 \cdot 10^{-3}$  у червні,  $0,66 \cdot 10^{-3}$  мкмоль НАДН / мг білку·хв. у вересні. Активність НАДН-ГДГ *Typha angustifolia* L. у водоймі техногеннотрансформованої території була досить високою протягом двох досліджуваних місяців у порівнянні з іншими територіями. Так, активність НАДН-ГДГ у червні складала  $0,95 \cdot 10^{-3}$ , у вересні –  $1,23 \cdot 10^{-3}$  мкмоль НАДН / мг білку·хв.

У водоймі рекреаційної території активність НАДФН-ГДГ у червні і вересні складала  $2,10 \cdot 10^{-3}$  та  $2,14 \cdot 10^{-3}$  мкмоль НАДФН/мг білку·хв. У водоймі урбанізованої території становила  $1,81 \cdot 10^{-3}$  у червні та  $1,97 \cdot 10^{-3}$  мкмоль НАДФН/мг білку·хв. у вересні. Як видно, активність ферменту НАДФН-ГДГ *Typha angustifolia* L. у водоймі аграрної території у червні та вересні відрізняється не значно і складає  $3,05 \cdot 10^{-3}$  та  $3,13 \cdot 10^{-3}$  мкмоль НАДФН/мг білку·хв. Виняток становить *Typha angustifolia* L. у водоймі техногеннотрансформованої території, активність НАДФН-ГДГ якого змінюється від  $1,87 \cdot 10^{-3}$  у червні до  $2,93 \cdot 10^{-3}$  мкмоль НАДФН/мг білку·хв. у вересні.

Найістотніше збільшення активності НАДФН-ГДГ спостерігали у водоймі аграрної території.

**Активність глутамінсинтетази.** Глутамінсинтетаза каталізує ключову реакцію асиміляції аміаку, а продукт реакції – глутамін, донор амідної або амінної груп, бере участь у синтезі усіх найважливіших нітрогеновмісних метаболітів клітини (аденозинмонофосфат (АМФ), цитидинтрифосфат (ЦТФ), пара-амінобензойна кислота, НАД, триптофан, гістидин, аспарагін та ін) [7, 10].

При вивченні активності глутамінсинтетази (ГС) у *Typha angustifolia* L. спостерігали як пригнічення, так і активацію ферментної реакції залежно від періоду дослідження (мал. 2).



Мал. 2. Активність глутамінсинтетази у *Typha angustifolia* L. ( $M \pm m$ ,  $n = 3$ )

Fig. 2. Glutamine synthetase activity in *Typha angustifolia* L. ( $M \pm m$ ,  $n = 3$ )

У водних об'єктах усіх досліджуваних територій активність ГС *Typha angustifolia* L. збільшувалася з червня до вересня. Так, у водоймі рекреаційної території активність ГС варіювала від 0,464 до 3,91 мкмоль Рн/мг білку хв., урбанізованої – від 0,388 до 2,370 мкмоль Рн/мг білку хв., аграрної – від 0,531 до 2,920 мкмоль Рн/мг білку хв., а техногеннотрансформованої – від 0,786 до 3,550 мкмоль Рн/мг білку хв. Фермент ГС характеризується високою спорідненістю до амонію [8, 9, 25], тому при його значних концентраціях, що спостерігали у червні, швидко втрачається функціональна активність ферменту.

## ВИСНОВКИ

Регуляція активності ферментів у вищих водяних рослин залежить від багатьох факторів. До найбільш важливих з них відносять водний, газовий, температурний та світловий режими. У клітині факторами, що лімітують роботу ферментів, є доступність субстрату, проміжних донорів, акцепторів, активаторів, кофакторів, інгібіторів, тому швидкість роботи ферментів у більшості випадків далека від максимуму.

Активність ензимів азотного обміну у *Typha angustifolia* L. тісно пов'язана з вмістом  $\text{NH}_4^+$  у воді. Так, за природного рівня  $\text{NH}_4^+$  його зв'язування здійснюється послідовним активуванням амонійзв'язуючих ензимів рослини, а за підвищеного вмісту – переважно за рахунок НАДФ-глутаматдегідрогенази. Зокрема, за високої активності ферменту, який інтенсивно асимілював амоній у вересні, його вміст у воді річок з різним рівнем антропогенного навантаження зменшувався від 2 до 4 разів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Барінова С.С., Клоченко П.Д., Белоус Е.П., 2015. Водоросли как индикаторы экологического состояния водных объектов: методы и перспективы. Гидробиологический журнал, 51, 4, 3–23.
2. Большакова М. О., Грубінко В.В., 1996. Поглинання аміаку вищими водними рослинами та його екологічне значення. Екологія, охорона природи, екологічна освіта і виховання, 47–59.
3. Бочаров В.Л., 2004. Экологическая гидрохимия. Русско-английский словарь справочник основных терминов и понятий, 220.
4. Грубінко В. В., Боднар О. І., Василенко О. В., Луців А. І., Вінярська Г. Б., 2014. Функціонування глутаматдегідрогеназного шляху зв'язування амонію у прісноводних водоростей, Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біологія, 3(60), 31–36.
5. Дубина Д.В. 2006. Вища водна рослинність, 412 с.
6. Дубина Д., Гейны С., Гроудова З., 1993. Макрофиты – индикаторы изменений природной среды, 434.
7. Евстигнеева З.Г., Громько Е.А., Асеева К.Б., 1980. Определение активности глутаминсинтетазы. Биохимические методы, 84–86.
8. Измайлов С.Ф., 1986. Азотный обмен в растениях. 319.
9. Капитонова О.А., Платунова Г.Р., Капитонов В.И., 2012. Рогозы Вятско-Камского края: Монография, 190.
10. Кретович В.Л., 1987. Усвоение и метаболизм азота в растениях, 486.
11. Мещлер Д., 1990. Биохимия. В 3-х т. 2, 608.
12. Незбрицька І.М., Курейшевич А.В., Василенко О.В., 2015. Вплив температурних умов на ростові процеси та активність глутаматдегідрогенази у деяких видів Chlorophyta і Cyanoprokaryota, 51, 5, 112–120.
13. Ратушняк А.А., Абрамова К.И., Муравьева А.С., Иванов Д.В., 2008. 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, 3, 98–104.
14. Ратушняк А.А., 2002. Оценка роли сообществ макрофитов в формировании качества воды мелководий Куйбышевского водохранилища. Экологическая химия, 2, 133–139.
15. Романенко В.Д., 2006. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод, 408.
16. Софьин А.В., Шатилов В.Р., Кретович В.Л., 1984. Глутаматдегидрогеназы одноклеточной зеленой водоросли *Ankistrodesmus braunii*. Кинетические свойства. Биохимия, 2, 334–343.
17. Федорчук І., Мусієнко М., 2006. Вища водна рослинність та її роль у формуванні екологічного стану річкових систем природоохоронних територій. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка, 10, 42–45.
18. Цаплина Е.Н., 1994. Влияние разложения погруженных макрофитов при низких температурах на содержание органического вещества в воде. Гидробиол. журн., 5, 100–104.

19. Davis S.M., 1991. Growth, decomposition, and nutrient retention of *Cladium jamaicense* Crantz and *Typha domingensis* Pers. in the Florida Everglades. *Aquat. Bot.*, 40, 203–224.
20. Ellenberg H., 1973. Chemical data and aquatic vascular plants as indicators for pollution in the Moosach river system near Munich. *Arch. Hydrobiol.*, 72, 533–549.
21. Fedorchuk I., 2003. Ecomonitoring of the main river systems of the National Park Podilski Tovtry. Sixth international symposium & exhibition on environmental contamination in Central and Eastern Europe and the Commonwealth of independent states, 102.
22. Galloway J., Dentener F., Capone D., 2004. Nitrogen cycles: past, present and future. *Biogeochemistry*, 70, 2, 153–226.
23. Grace J.B., Wetzel R.G., 1981. Phenotypic and genotypic components of growth and reproduction in *Typha latifolia*: Experimental studies in marshes of differing successional maturity. *Ecology*, 62(3), 699–801.
24. Grace J.B., 1988. The effects of nutrients addition of mixtures of *Typha latifolia* L. and *Typha domingensis* Pers. Along a water depth gradient. *Aquatic Botany*, 31.
25. Gryuk I., Grubinko V., Brynzia I., Sukhodolska I., 2014. The Role of Plants in Supporting The Level of Nitrogen in Freshwater Ecosystems. 2nd International Conference on Environmental Science and Technology, 303–304.

#### **THE ROLE OF *TYPHA ANGUSTIFOLIA* L. IN THE CHANGE OF AMMONIUM CONTENT IN THE RIVERS WITH DIFFERENT ANTHROPOGENIC PRESSURE LEVELS**

Natural river water is a dynamic system containing a complex set of components including a significant ammonium ions content. The ammonium content in hydroecosystems is determined by the action of interrelated biotic and abiotic factors. The aim of our study was to analyze the ammonium content in rivers and to identify factors influencing its changes. The object of the study was water from the rivers within Rivne region, which was conditionally divided by the character of anthropogenic pressure into four parts - recreational, urban, rural and technogenically transformed.

48 water samples and 24 samples of *Typha angustifolia* L. taken in June and September 2013 from various small rivers in Rivne region were analyzed according to the anthropogenic pressure level for the territory. The photometric determination using qualitative reaction with Nessler reagent at a wavelength of 420 nm was performed for ammonium content analysis. pH was analyzed with the ion meter ЭВ-74, the oxygen content in the water was analyzed using oxygen meter АЖА-101М. Glutamate dehydrogenase activity (EC 1.4.1.2) was analyzed by spectrophotometric method by the NADP oxidation rate at 340 nm. The activity of glutamine synthetase (EC 6.3.1.2) was analyzed in synthetase reaction.

The ammonium content in the water exceeded MPC standard for fishery at all investigated territories. In particular, the concentration exceeded the MPC standard for fishery in June and September in the river of recreational area for 3.6 and 1.2 times, for the river at the urban territory, the concentration exceeded standard for 4.8 and 1.3 times, and the concentration was 2.4 and 1.3 times higher than the standard for the river at the rural area. The concentration was 1.6 times higher than the standard in June and did not exceed MPC in September for the technogenically transformed territory. It is shown that higher aquatic plants perform numerous functions in the functioning of water ecosystems. In particular, large macrophytes are able to remove significant quantities of physiologically active substances from the water - phenols, heavy metals, pesticides, nitrogen and phosphorus, reducing the degree of water bodies eutrophication. *Typha angustifolia* L. is widely used in various reservoirs and shows considerable adaptive capacity in terms of integrated water pollution. It was established that the presence of *Typha angustifolia* L. in the rivers at studied areas increases the efficiency of ammonium consumption. In particular, ammonium was rapidly assimilated in September, its content in the river water reduced (2-4 times) at high enzyme activity *Typha angustifolia* L.

The activity of nitrogen metabolism enzymes in higher water plants is closely related to the of  $\text{NH}_4^+$  content in water. At the natural rate of  $\text{NH}_4^+$ , its binding is performed by sequential activation of ammonium binding enzymes in plants. At the increased  $\text{NH}_4^+$  content it is performed mainly due to the NADP-glutamate dehydrogenase.