

УДК 574.5:572.1:581.1

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА *ELODEA DENSA* PLANCH. ПОД ДЕЙСТВИЕМ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Н. В. Чукина, Г. Г. Борисова

*Уральский федеральный университет
им. первого Президента России Б. Н. Ельцина
Россия, 620002, Екатеринбург, Мира, 19
E-mail: nady_dicusar@mail.ru*

Поступила в редакцию 07.05.10 г.

Изменение структурно-функциональных характеристик фотосинтетического аппарата *Elodea densa* Planch. под действием тяжёлых металлов. – Чукина Н. В., Борисова Г. Г. – Проведено исследование структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата водных растений при выращивании в среде с повышенным содержанием тяжёлых металлов. Установлено, что характер изменений параметров мезоструктуры листа *Elodea densa* в модельных условиях зависел как от природы металла, так и его концентрации в среде. Показано, что изменение мезоструктурных характеристик в условиях стресса является одной из приспособительных реакций растений, которая отличается медленными темпами по сравнению с другими адаптациями.

Ключевые слова: адаптация, устойчивость, стресс, поллютанты, тяжёлые металлы, водные растения, фотосинтетический аппарат, мезоструктура.

Changes of the structural-functional characteristics of the photosynthetic apparatus of *Elodea densa* Planch. under the influence of heavy metals. – Chukina N. V. and Borisova G. G. – A study was made of the structural-functional organization of the photosynthetic apparatus of some aquatic plants grown in water with raised concentrations of heavy metals. The changes of the *Elodea densa* mesostructural parameters in our modeling conditions depended on both the nature of the metal and its concentration in the water. A change of the mesostructural characteristics of the photosynthetic apparatus in stress conditions is a plant adaptive reaction featuring slow rates in comparison with other adaptations.

Key words: adaptation, stability, stress, pollutants, heavy metals, aquatic plants, photosynthetic apparatus, mesostructure.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в условиях существенного роста антропогенных нагрузок резко возросло загрязнение гидросферы. Нередко среди поллютантов, ухудшающих качество поверхностных вод, доминируют тяжёлые металлы (ТМ). В связи с этим особую актуальность приобретают исследования, направленные на выявление у живых организмов механизмов адаптации к загрязнению водной среды.

Важную роль в обеспечении устойчивости растений к стрессорам различной природы играет структурно-функциональная организация фотосинтетического аппарата. В последние десятилетия в эколого-физиологических исследованиях широко используется мезоструктурный подход, предложенный А. Т. Мокроносом (Мокронос, 1978). Понятие «мезоструктура» включает систему экспериментально определяемых морфологических характеристик листа, клеток мезофил-

ла и хлоропластов, на основе которых можно получить расчетным путем большое число показателей, важных для понимания организации фотосинтетического аппарата. Изменение данных параметров рассматривается как проявление регуляции фотосинтеза на морфогенетическом уровне, которое обеспечивает адаптацию растительных организмов к разным экологическим условиям (Мокроносов, 1981).

К настоящему времени влияние химического состава среды обитания на мезоструктуру фотосинтетического аппарата растений изучено недостаточно. В литературе встречаются отдельные сведения о действии на формирование анатомо-морфологической структуры растений таких важных элементов минерального питания, как азот, калий и фосфор (Нагалеvский, Николаевский, 1981; Потокин, 1984; Кузнецова и др., 2007).

Показано, что при избыточном азотном питании наблюдалось увеличение числа и размеров клеток, увеличение числа проводящих пучков и ослабление развития механических тканей. При избытке калия в среде обитания происходило утолщение волокон склеренхимы, утолщение оболочек клеток и усиление образования механических тканей (Нагалеvский, Николаевский, 1981).

Литературные данные о влиянии техногенных факторов на мезоструктуру листа растений весьма немногочисленны (Хан, Астафурова, 2001; Кулагин, 2003; Улицкая, 2004; Жиров др., 2006; Зотикова др., 2007).

Изучение влияния загрязнения воздушной среды на фотосинтетический аппарат лиственных древесных растений показало, что средняя толщина палисадного и губчатого мезофилла листа существенно увеличена в точках с неблагоприятными условиями произрастания (Кулагин, 2003).

При изучении фотосинтетического аппарата хвойных растений под воздействием техногенных эмиссий (Хан, Астафурова, 2001) обнаружена склонность к ксероморфизму, отмечено уменьшение размеров хвоинок, утолщение кутикулы. Однако показано (Зотикова др., 2007), что при загрязнении воздушной среды у разных видов хвойных наблюдались разнонаправленные изменения анатомо-морфологической структуры хвои.

Таким образом, влияние различных стрессовых факторов на фотосинтетический аппарат растений приводило к сходным последствиям: уменьшению площади листовой пластинки; появлению ряда ксероморфных черт во внутреннем строении листа. При этом, как правило, показатели пластидного аппарата (число хлоропластов в клетке, площадь поверхности и объем хлоропластов) подвергались изменениям в меньшей степени по сравнению с параметрами клеток (Нагалеvский, Николаевский, 1981; Потокин, 1984).

В отличие от наземных растений, особенности анатомического строения водных и прибрежно-водных растений в условиях антропогенного загрязнения водной среды редко являлись предметом специального изучения. Вместе с тем использование гидрофитов для решения этих задач представляется весьма удачным, так как водные растения в большей степени по сравнению с наземными контактируют со средой обитания, поглощая из воды минеральные и органические вещества всей поверхностью листьев.

К числу исследований, проводимых непосредственно на водных растениях, относятся работы О. А. Капитоновой (Капитонова, 1998, 2002), в которых показа-

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК

ны изменения в строении покровных тканей вегетативных органов макрофитов по сравнению с растениями из «условно чистых» водотоков. Отмечено, что в наибольшей степени изменчивость проявляли линейные размеры основных эпидермальных клеток и отношение длины клетки к ширине. В частности, у ряски отмечено наиболее сильное увеличение размеров клеток. По мнению автора, это являлось следствием поступления внутрь клеток листочков избыточного количества поллютантов непосредственно из водной среды, в отличие от воздушно-водных видов гидрофитов, и связано с необходимостью их инактивации внутри растения.

Таким образом, обзор литературы показывает, что изменения параметров фотосинтетического аппарата растений в условиях техногенного воздействия проявляются на разных уровнях его организации, в том числе и на мезоструктурном.

К сожалению, комплексных исследований структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата в связи с адаптацией растений к техногенному воздействию практически не было проведено. Изучение параметров ассимиляционного аппарата растений в условиях стресса, в том числе под воздействием поллютантов различной химической природы, имеет важное значение, поскольку изменение мезоструктуры листа можно рассматривать как одну из защитно-приспособительных реакций растений к неблагоприятным факторам среды обитания.

В исследованиях, проведенных нами ранее (Чукина, Борисова, 2010), изучены структурно-функциональные показатели фотосинтетического аппарата листа гидрофитов из природных местообитаний, различающихся уровнем техногенного воздействия. Показано, что листья большинства водных растений из местообитаний с повышенной нагрузкой отличались большими размерами клеток мезофилла и более высоким содержанием фотосинтетических пигментов по сравнению с растениями из «условно чистых» водных объектов. Однако в местообитаниях, для которых характерны повышенные техногенные нагрузки, загрязнение водной среды является многокомпонентным и поэтому не ясно, какие именно поллютанты оказали такое действие. Полученные нами результаты обусловили необходимость проведения более детального исследования влияния отдельных металлов и их смесей на растение одного и того же вида в условиях эксперимента.

Цель работы – выявление изменений параметров мезоструктуры листа водных растений при выращивании в среде с повышенным содержанием тяжелых металлов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования была выбрана *Elodea densa* Planchon, 1849. Верхушки побегов длиной 6 см помещали в сосуды с 5%-ной средой Хогланда – Арнона. Сосуд № 1 использовали в качестве контроля, а в остальные сосуды были добавлены тяжёлые металлы (ТМ) и их смеси. Все металлы были взяты в виде соответствующих солей сульфатов. При выборе концентраций металлов во внимание принимались их фактические концентрации в водных объектах в условиях техногенного воздействия. Схема опыта и концентрации металлов приведены в таблице.

Растения инкубировали в среде с металлами в течение 68 дней при естественном освещении. Новые побеги, которые сформировались за этот период, были зафиксированы в 70%-ном этаноле для последующего определения количественных показателей мезоструктуры листа.

Особенностью анатомического строения листа элодеи является тонкая листовая пластинка, состоящая всего из двух слоев клеток – верхнего и нижнего эпидермиса, которые выполняют основную фотосинтезирующую функцию (Матвеев и др., 2005).

Схема эксперимента

№ варианта	Варианты	Концентрация металлов, мг/л
1	Контроль	Без добавления металлов
2	Ni ²⁺	0.05
3	Ni ²⁺	0.1
4	Cd ²⁺	0.05
5	Cd ²⁺	0.1
6	Ni ²⁺ + Cd ²⁺	0.05
7	Ni ²⁺ + Cd ²⁺	0.1
8	Fe ²⁺	0.2
9	Mn ²⁺	0.2
10	Смесь солей: Mn ²⁺ +Fe ²⁺ + Zn ²⁺ +Cu ²⁺ +Ni ²⁺	Mn, 0.2; Fe, 0.2; Zn, 0.1; Cu, 0.04; Ni, 0.05

Количественную структуру мезофилла листа изучали в соответствии с методикой, разработанной в Уральском государственном университете (Определение мезоструктурных характеристик..., 2006). Толщину листа измеряли на поперечных срезах листьев, используя световой микроскоп и окулярный микрометр. Размеры клеток верхнего и нижнего

эпидермиса, а также размеры хлоропластов определяли с использованием компьютерной установки и программного обеспечения Siams Mesoplant. На основе полученных данных были рассчитаны и другие показатели мезоструктуры листа.

Толщину листа определяли в 10-кратной повторности; размеры клеток и хлоропластов – в 30-кратной.

Математическую обработку данных осуществляли при помощи программ MS Excel, Statistica 6.0. Достоверность результатов оценивали при уровне значимости $p < 0.05$. Для оценки достоверности различий использовали непараметрический критерий Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сопоставление морфологических особенностей листьев растений элодеи, выросших при повышенном содержании в среде тяжелых металлов, показало, что внешний вид побегов и их состояние в разных вариантах опыта существенно различались. Наихудшим состоянием отличались растения, выращенные при добавлении кадмия в разных концентрациях и смеси кадмия и никеля: побеги были слабые и мягкие, наблюдалась наименьшая величина прироста. Напротив, в вариантах с добавлением марганца, никеля и смеси металлов растения элодеи имели крепкие, зеленые побеги.

Результаты измерения толщины листа растений, выращенных в питательной среде при добавлении тяжелых металлов, представлены на рис. 1.

Как показали исследования, у растений, выросших в среде с добавлением железа, марганца и смеси ТМ, толщина листа практически не отличалась от контрольных значений. Однако у побегов, выращенных при высокой концентрации кадмия (0.1 мг/л), а также на смеси никеля и кадмия, толщина листовой пластинки достоверно увеличивалась, в то время как никель в обеих концентрациях вызывал достоверное уменьшение данного параметра.

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК

Линейные размеры, показатели площади и объёма клеток достоверно уменьшались при добавлении в среду никеля (в концентрациях 0.05 и 0.1 мг/л) и железа (рис. 2). В остальных вариантах достоверного изменения этих параметров не было обнаружено.

В результате эксперимента установлено, что, как правило, в клетках листа элодеи при выращивании в среде с металлами достоверно изменялись и размеры хлоропластов (рис. 3). Например у растений, выращенных при добавлении никеля (0.05 и 0.1 мг/л), кадмия (0.05 мг/л), смеси никеля и кадмия (0.05 мг/л), железа (0.2 мг/л) наблюдалось весьма существенное (в

2.5 – 4 раза) уменьшение объёма хлоропластов. Данная закономерность, хотя и в меньшей степени, отмечена при добавлении смеси солей разных металлов.

Показано, что более высокие концентрации кадмия (0.1 мг/л) вызывали существенное увеличение объёма хлоропластов, что, очевидно, связано с их набуханием. Следует отметить, что совместное действие кадмия и никеля в концентрациях 0.05 мг/л приводило к наиболее заметному (4-кратному) снижению значения этого показателя по сравнению с контролем.

Однако у растений, выросших при добавлении в среду смеси кадмия и никеля в более высоких концентрациях (0.1 мг/л), набухание хлоропластов резко усиливалось. Очевидно, при этом происходило частичное разрушение хлорофилла, что было заметно по бледной окраске листьев.

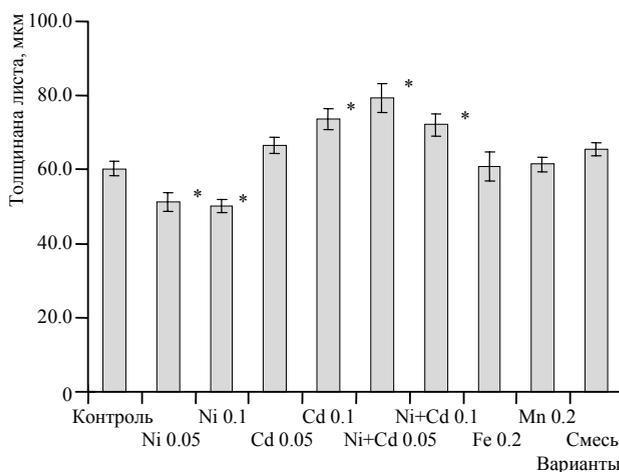


Рис. 1. Толщина листа растений *E. densa*, выращенных при повышенном содержании в среде металлов. * – отличия от контроля достоверны при $p < 0.05$

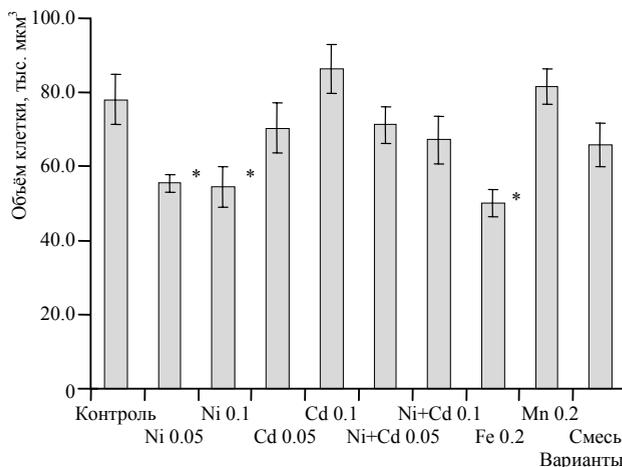


Рис. 2. Объём клеток листа *E. densa*, выращенных при повышенном содержании в среде металлов. * – отличия от контроля достоверны при $p < 0.05$

Полученные данные позволяют сделать предположение, что кадмий и никель в дозах 0.05 мг/л вели себя как антагонисты, при этом никель нейтрализовал токсичное действие кадмия. В удвоенных же концентрациях токсичность этих метал-

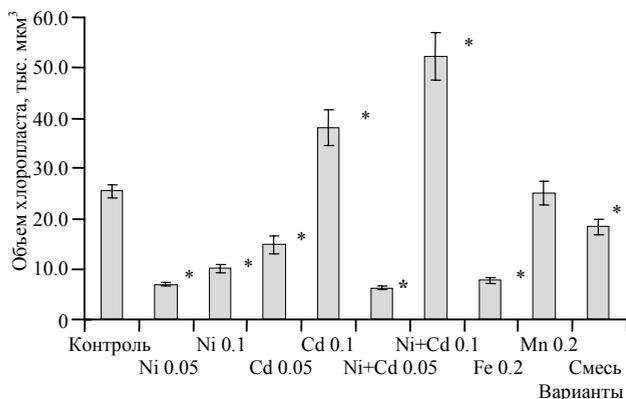


Рис. 3. Объем хлоропластов в клетках листьев *E. densa*, выращенных при повышенном содержании в среде металлов.

* – отличия от контроля достоверны при $p < 0.05$

чина прироста побегов в среде с кадмием была минимальной. Очевидно, данный факт свидетельствует о том, что кадмий ингибирует процессы деления клеток.

Добавление никеля в концентрациях 0.05 мг/л и 0.1 мг/л приводило к уменьшению размеров и клеток, и хлоропластов, хотя состояние растений, судя по их внешнему виду, было вполне удовлетворительным.

Поскольку для водных объектов урбанизированных территорий Уральского региона характерны высокие концентрации марганца, цинка, железа, меди, а нередко еще и никеля, то особый интерес представляет вариант опыта с добавлением смеси этих металлов.

Побеги элодеи, выращенные на смеси металлов, были крепкими и зелеными и отличались максимальным приростом. В данном варианте растения по большинству параметров клеток достоверно от контроля не отличались, за исключением такого показателя, как длина клетки, которая была существенно ниже при добавлении смеси металлов. Имело место также некоторое уменьшение размеров хлоропластов. Но в целом такие условия, судя по всему, были достаточно благоприятными для роста и развития растений.

В природных экосистемах при загрязнении водной среды для большинства исследованных видов было характерно увеличение размеров клеток (Чукина, Борисова, 2010). Вероятно, это связано с накоплением не только поллютантов, но и веществ, способных играть протекторную роль при стрессах. Поскольку на внешнем облике исследуемых гидрофитов, обитающих в водных объектах с высокой антропогенной нагрузкой, токсическое действие поллютантов не отражалось, можно сделать вывод об адаптации растений к их повышенным концентрациям в природных водах.

лов резко возростала, и их совместное действие можно расценивать как проявление синергизма.

При сопоставлении изменений объёмов клеток и хлоропластов у элодеи, выращенной при повышенном содержании в среде тяжелых металлов, отчетливо видно, что при добавлении кадмия (0.1 мг/л) увеличение размеров клеток у элодеи сопровождалось увеличением объёма хлоропластов. Следует также отметить, что величина

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК

В модельных исследованиях достоверного увеличения размеров клеток ни в одном из вариантов не обнаружено. Данный факт свидетельствует о достаточно медленных темпах адаптации на уровне мезоструктуры листа. Кроме того, очевидно, что в условиях многокомпонентного загрязнения природных вод на структурно-функциональную организацию листа оказывают влияние не только металлы в повышенных концентрациях, но и широкий спектр соединений органической и неорганической природы, в том числе азотсодержащих.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение мезоструктуры листа растений в условиях стресса, вызванного действием тяжелых металлов, имеет важное значение, поскольку ее изменение можно рассматривать как проявление регуляции фотосинтеза в неблагоприятных условиях среды.

В результате проведения исследований с выращиванием *E. densa* в модельных условиях получены следующие выводы.

1. Характер изменений параметров мезоструктуры листа элодеи в условиях эксперимента зависел как от природы металла, так и его концентрации в среде.

2. Толщина листовой пластинки у растений элодеи, выросших в среде с добавлением железа, марганца и смеси ТМ, не отличалась от контрольных значений. Кадмий (0.1 мг/л), а также смеси никеля и кадмия вызывали увеличение толщины листа, никель в обеих концентрациях вызывал достоверное уменьшение данного параметра.

3. Объем клеток у элодеи по сравнению с контролем существенно уменьшался при выращивании растений при добавлении никеля и железа. Добавление кадмия не приводило к уменьшению размеров клеток, но оказало ингибирующее действие на рост листьев.

4. Объем хлоропластов у элодеи существенно уменьшался под влиянием никеля (0.05 и 0.1 мг/л), кадмия (0.05 мг/л) и железа (0.2 мг/л). Проявилась также тенденция к их уменьшению при добавлении смеси ТМ. Добавление в среду кадмия в концентрации 0.1 мг/л и смеси кадмия с никелем в такой же концентрации привело к увеличению размеров хлоропластов, что, очевидно, связано с их набуханием.

5. Выращивание растений в среде с добавлением смеси солей металлов в концентрациях, близких к их значениям в водных объектах при техногенном воздействии, не привело к существенному изменению параметров мезоструктуры. Очевидно, ионы металлов, дополняя друг друга, токсического действия не оказывали, что подтверждается наибольшей величиной прироста и хорошим состоянием листьев.

Таким образом, использование мезоструктурного подхода позволяет оценить пределы толерантности растений к загрязнению среды обитания, уточнить степень токсичности поллютантов и особенности проявления фотосинтетической регуляции на анатомо-морфологическом уровне. Очевидно, изменение параметров мезоструктуры листа гидрофитов в условиях стресса является одной из приспособительных реакций, которая отличается достаточно медленными темпами по сравнению с другими адаптациями.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (гос. контракт № 14.А18.21.0203) и гранта Президента РФ (МК 881.04.2010).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Жиров В. К., Хаитбаев А. Х., Говорова А. Ф., Гонтарь О. Б. Взаимодействие структур различных уровней организации и адаптационные стратегии растений // Вестн. Мурманского гос. техн. ун-та. 2006. Т. 9, № 5. С. 725 – 728.

Зотикова А. П., Бендер О. Г., Собчак Р. О., Астафурова Т. П. Сравнительная оценка структурно-функциональной организации листового аппарата хвойных растений на территории г. Горно-Алтайска // Вестн. Томск. гос. ун-та. 2007. № 299 (I). С. 197 – 200.

Капитонова О. А. К изучению анатомической структуры рогоза широколистного в условиях промышленного загрязнения // Удмуртия накануне третьего тысячелетия : тез. докл. науч.-практ. конф. Ижевск : Изд-во Удмурт. гос. ун-та, 1998. Ч. 2. С. 23 – 25.

Капитонова О. А. Особенности анатомического строения вегетативных органов некоторых видов макрофитов в условиях промышленного загрязнения среды // Экология. 2002. № 1. С. 64 – 66.

Кузнецова Л. Г., Семенова Г. А., Новичкова Н. С., Романова А. К. Структурно-функциональные изменения в листьях *Trifolium pratense* в условиях азотного стресса // Современная физиология растений: от молекул до экосистем : материалы докл. Междунар. конф. : в 3 ч. / Коми науч. центр УрО РАН. Сыктывкар, 2007. Ч. 2. С. 220 – 221.

Кулагин А. А. Особенности развития тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) в условиях загрязнения окружающей среды металлами // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2003. Т. 5, № 2. С. 334 – 341.

Матвеев В. И., Соловьева В. В., Саксонов С. В. Экология водных растений : учеб. пособие. 2-е изд., доп. и перераб. Самара : Изд-во Самар. науч. центра РАН, 2005. 282 с.

Мокронос А. Т. Мезоструктура и функциональная активность фотосинтетического аппарата // Мезоструктура и функциональная активность фотосинтетического аппарата. Свердловск : Изд-во Урал. гос. ун-та, 1978. С. 3 – 17.

Мокронос А. Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. М. : Наука, 1981. 196 с.

Нагалецкий В. Я., Николаевский В. Г. Экологическая анатомия растений : учеб. пособие. Краснодар : Изд-во Кубан. гос. ун-та, 1981. 88 с.

Определение мезоструктурных характеристик фотосинтетического аппарата растений : руководство к лабораторным занятиям большого спецпрактикума по физиологии и биохимии растений. Екатеринбург : Изд-во Урал. гос. ун-та, 2006. 26 с.

Потокин А. Ф. Влияние стоков промышленно-животноводческих комплексов на фотосинтетическую активность болотных растений. Л. : Изд-во ЛГУ, 1984. 124 с.

Улицкая Ю. Ю. Влияние интегрального технокимического загрязнения на анатомическое строение мезофилла листьев *Betula pendula* Roth. и *Tilia cordata* Mill. // Экология промышленного региона и экологическое образование : сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. Н. Тагил : Изд-во Нижнетагил. социально-пед. академии, 2004. С. 54.

Хан Л. В., Астафурова Т. П. Морфолого-функциональные адаптации хвойных деревьев к условиям городской среды // Актуальные вопросы экологической физиологии растений в XXI веке : материалы Междунар. конф. / Ин-т биологии Коми науч. центра УрО РАН. Сыктывкар, 2001. С. 245.

Чукина Н. В., Борисова Г. Г. Структурно-функциональные показатели высших водных растений из местообитаний с разным уровнем антропогенного воздействия // Биология внутренних вод. 2010. № 1. С. 49 – 56.