

О. М. Клименко, О. О. Сиваш,
член-кореспондент НАН України Є. Л. Кордюм

Пластичність фотосинтетичного апарату листків гетерофільної рослини *Nuphar lutea* (L.) Smith.

*Наведено дані щодо ультраструктури хлоропластів, вмісту пігментів та флуоресценції хлорофілу в придонних, плаваючих та наземних листках *Nuphar lutea* (L.) Smith. Відмінності цих ознак у листках різного типу розглядаються як прояв фенотипічної пластичності, що визначається в першу чергу інтенсивністю світла та співвідношенням спектральних компонент сонячного світла і забезпечує процес фотосинтезу в різних умовах освітлення.*

Фенотипічна пластичність — здатність геному змінювати експресію і реалізуватися у різних фенотипах у відповідь на різноманітні зовнішні впливи, є фундаментальною властивістю живих систем, що забезпечує їх пристосування до часових та просторових варіацій зовнішнього середовища. Фенотипічний прояв змін у генній експресії визначається вже на рівні транскрипції і охоплює надзвичайно широке коло екологічно важливих ознак будови, росту, розвитку та репродукції рослинних організмів. До проявів фенотипічної пластичності у рослин на популяційному та видовому рівнях А. D. Bradshaw [1] відніс, зокрема, гетерофілію у водних рослин — наявність на одній рослині різних за формою листків — та зміни структури фотосинтетичного апарату при адаптації до флуктуацій оточуючого середовища. Підкреслюється необхідність подальших досліджень фотосинтезу у різних за екологією рослин для розуміння їх здатності пристосовуватися до варіацій освітлення в процесі росту [2]. Гетерофільні повітряно-водні та справжні водні рослини є зручними моделями для вивчення пластичності фотосинтетичного апарату, оскільки їхні листки знаходяться як у повітряному, так і водному середовищах, які розрізняються, в першу чергу, за кількістю світла та доступного CO₂. Зменшення кількості світла виникає за рахунок відбиття сонячних променів від поверхні водойми та поглинання частини променів розчиненими органічними речовинами та планктонними організмами під час проходження крізь товщу води, що призводить до зміни співвідношення спектральних компонент сонячного світла [3].

Серед справжніх водних гетерофільних рослин зручним об'єктом для вивчення пластичності фотосинтетичного апарату є *Nuphar lutea* (L.) Smith. (глечики жовті), яка має плаваючі на поверхні води листки з довгими черешками та листки з короткими черешками, що формують розетку на дні водойми (придонні листки). Крім того, при зниженні рівня води утворюється суходільна форма [4], листки якої мають короткі черешки та зібрані в розетку (наземні листки). В літературі висвітлено морфологію, анатомічну будову та певні показники функціонального стану фотосинтетичного апарату плаваючих і підводних листків *N. lutea* в різних умовах освітлення та концентрації CO₂ [2, 5, 6], проте відомості щодо тонкої будови їх хлоропластів відсутні. Тому ми вперше провели порівняльне дослідження ультраструктури хлоропластів, складу пігментів та флуоресценції хлорофілу зрілих придонних, плаваючих та наземних листків цього виду, результати якого викладено в роботі.

Матеріал для дослідження збирали на р. Псел поблизу смт Велика Багачка Полтавської області. Придонні листки брали на глибині 0,5 та 1,5 м, наземні — з рослин, які росли на

відстані 2 м від води. Для електронно-мікроскопічних досліджень ділянки мезофілу розміром $0,5 \times 1$ см, які вирізали із середини листової пластинки, фіксували 2,5 % розчином глютарового альдегіду та 1 % розчином OsO_4 , зневоднювали в серії спиртів і окисі пропілену та заливали в суміш епон-аралдит за загальноприйнятою методикою. Зрізи завтовшки 55–70 нм виготовляли на мікротомі RMC MT-XL (США) та досліджували в електронному трансмісійному мікроскопі JEM 1230EX. Негативні зображення сканували і отримані цифрові зображення аналізували за допомогою програмного забезпечення UTHSCSA Image Tool 3.0. На знімках вимірювали лінійні розміри хлоропластів та підраховували кількість тилакоїдів у гранах.

Флуоресценцію хлорофілу вимірювали за допомогою флуорометра ХЕ-РАМ (“Walz”, Німеччина). Мінімальний рівень флуоресценції (F_0) в адаптованих до темряви (протягом 5 хв) листках визначали при дії модульованого вимірюючого світла низької інтенсивності ($0,1 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$). Максимальний рівень флуоресценції в адаптованих до темряви (F_m) та світла (F'_m) листках визначали при дії короткого насичуючого імпульсу (1 с) галогенової лампи інтенсивністю $5000 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Максимальний (F_v/F_m) та ефективний (F'_v/F'_m) квантові виходи, фотохімічне (qP) та нефотохімічне (qN) гасіння розраховували за формулами Maxwell [7]. Параметри флуоресценції хлорофілу вимірювали при дії активнічного світла 60, 200, 500 і $1000 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Пігменти (хлорофіл і каротиноїди) екстрагували 80% ацетоном. Вимірювання проводили на спектрофотометрі Specord M40. Концентрацію та вміст хлорофілу визначали за Lichtenthaler, Buschmann [8].

Проведені дослідження показали, що хлоропласти клітин ізолатерального мезофілу (мезофіл не диференційований на палисадну та губчасту паренхіму) придонних листків, які знаходяться на глибині 0,5 та 1,5 м, розташовуються вздовж периклінальних стінок клітин, мають видовжену форму, містять поодинокі пластоглобули та крохмальні зерна (рис. 1, а, г). В клітинах верхнього шару мезофілу середній об'єм хлоропластів більший за такий хлоропластів у клітинах нижнього шару і становить $(15,47 \pm 1,66) \text{ мкм}^3$ на глибині 0,5 м та $(27,81 \pm 1,74) \text{ мкм}^3$ на глибині 1,5 м, об'єм хлоропластів у клітинах нижнього шару дорівнює $(14,79 \pm 1,19) \text{ мкм}^3$ та $(16,48 \pm 1,12) \text{ мкм}^3$ відповідно. Хоча середня кількість тилакоїдів на грану майже однакова в листках з різних глибин і коливається від $8,3 \pm 0,57$ до $8,82 \pm 0,66$, відмінності між листками полягають у частоті зустрічальності гран з кількістю тилакоїдів від 30 і вище, причому саме для листків з глибини 1,5 м характерна наявність гран, які складаються з 36–44 тилакоїдів (рис. 1, б, в, д, е). В клітинах палисадної паренхіми дорзовентрального мезофілу плаваючих і наземних листків хлоропласти лінзоподібної форми розташовуються вздовж антиклінальних стінок, містять пластоглобули та крохмальні зерна (рис. 2, а, б). Хлоропласти придонних, плаваючих та наземних листків розрізняються за кількістю тилакоїдів на грану: грани хлоропластів придонних листків складаються в середньому з $8,62 \pm 0,62$ тилакоїдів, плаваючих листків — з $2,63 \pm 0,12$, наземних листків — з $3,42 \pm 0,15$.

Вміст хлорофілу *a* найвищий у придонних листках з глибини 1,5 м і становить $(9,56 \pm 1,12) \text{ мг/г}$ сухої речовини, найнижчий — у плаваючих листках — $(4,66 \pm 1,32) \text{ мг/г}$ сухої речовини, у придонних листках з глибини 0,5 м дорівнює $(8,16 \pm 0,79) \text{ мг/г}$ сухої речовини, у наземних — $(7,95 \pm 0,78) \text{ мг/г}$ сухої речовини. Така ж тенденція виявлена щодо вмісту каротиноїдів, який вищий у придонних листках і становить $(2,68 \pm 0,30) \text{ мг/г}$ сухої речовини в зразках з глибини 1,5 м і $(2,44 \pm 0,13) \text{ мг/г}$ сухої речовини в зразках з глибини 0,5 м, у наземних листках — $(1,85 \pm 0,12) \text{ мг/г}$ сухої речовини та найнижчий у плаваючих листках — $(1,41 \pm 0,27) \text{ мг/г}$ сухої речовини. Співвідношення хлорофілів *a/b* коливалося від $2,41 \pm 0,04$

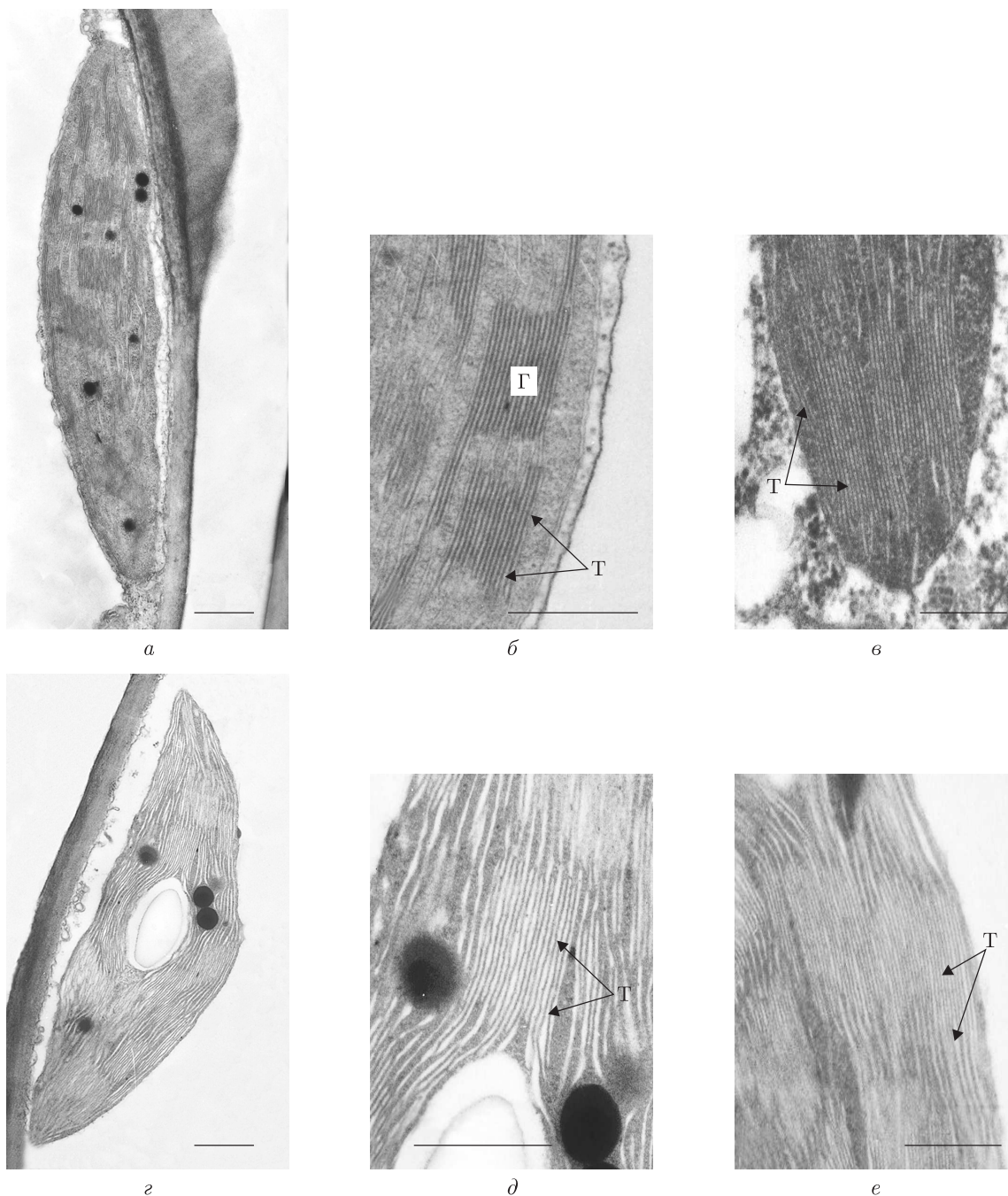


Рис. 1. Фрагменти клітин мезофілу придонних листків з глибини 0,5 м (а, б, в) та 1,5 м (з, д, е) листків *Nuphar lutea*; а, з — загальний вигляд хлоропластів; б, в, д, е — фрагменти гран хлоропластів. Г — грана; Т — тилакоїд. Масштаб 500 нм

у придонних листках до $2,88 \pm 0,08$ — у плаваючих. Нижче співвідношення хлорофілів a/b вказує на збільшення частки хлорофілу b , який повністю знаходиться в головному світлозбиральному комплексі фотосистеми II (СЗКІІ). Вважається, що співвідношення хлорофілів a/b в межах 2–2,5 та зростання розміру світлозбиральної антени відповідає значенням,

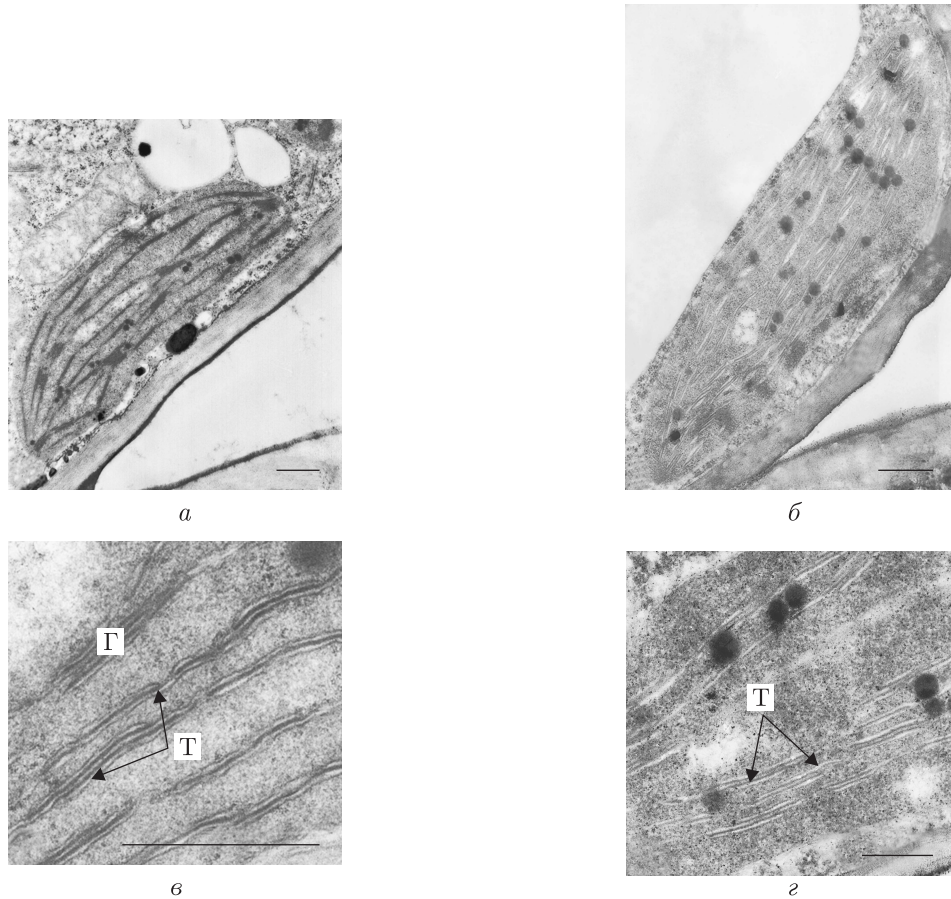


Рис. 2. Фрагменти клітин мезофілу палисадної паренхіми плаваючих (а, в) та наземних листків (б, з) листків *Nuphar lutea*; а, б — загальний вигляд хлоропластів; в, з — фрагменти гран хлоропластів. Г — грана; Т — тилакоїд. Масштаб 500 нм

характерним для рослин, що ростуть при низькій інтенсивності світла [9]. Отже, хлоропласти придонних листків незалежно від глибини водойми за розмірами та розподілом гран за кількістю тилакоїдів і вмістом пігментів близькі до хлоропластів тіньюлюбних рослин, а хлоропласти наземних та плаваючих листків — до хлоропластів світлолюбних рослин [10].

Показники максимального квантового виходу фотохімічних реакцій ФСII (F_v/F_m) придонних, плаваючих та наземних листків незначно відрізнялися. Показники ефективного квантового виходу (F'_v/F'_m) та фотохімічного гасіння (qP) були вищими у наземних та плаваючих листках за умов будь-якої густини потоку фотонів. У придонних листках, незалежно від глибини їх знаходження, значення показників F'_v/F'_m та qP різко зменшувалися при збільшенні інтенсивності актинічного світла з 60 до 200 і 1000 $\mu\text{кмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ (табл. 1), що збігається з даними літератури для інших видів рослин [11, 5]. Значення qP , менші за 0,6 вже при інтенсивності діючого світла близько 200 $\mu\text{кмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, свідчать про пристосування фотосинтетичного апарату придонних листків до низьких рівнів світлового потоку завдяки потужним світлозбиральним антенам.

Таким чином, проведений порівняльний аналіз ультраструктури хлоропластів, вмісту пігментів і флуоресценції хлорофілу придонних і плаваючих листків тієї самої рослини та листків наземної форми *N. lutea* виявив істотні відмінності досліджуваних ознак у листків

Таблиця 1. Характеристика параметрів кривих індукції флуоресценції хлорофілу придонних, плаваючих та наземних листків *N. lutea* з різної глибини, $n = 5$, $P = 0,05$, $M \pm m$

Тип листків (глибина)	Інтенсивність світла, мкмоль · м ⁻² · с ⁻¹	F_v/F_m	F'_v/F'_m	qP	qN
Придонні (0,5 м)	60	0,75 ± 0,006	0,66 ± 0,014	0,81 ± 0,001	0,39 ± 0,019
	200		0,38 ± 0,027	0,44 ± 0,044	0,85 ± 0,009
	1000		0,21 ± 0,026	0,16 ± 0,014	0,92 ± 0,290
Придонні (1,5 м)	60	0,75 ± 0,008	0,64 ± 0,018	0,82 ± 0,018	0,45 ± 0,064
	200		0,39 ± 0,027	0,42 ± 0,025	0,84 ± 0,013
	1000		0,39 ± 0,028	0,21 ± 0,050	0,82 ± 0,017
Плаваючі (0 м)	60	0,77 ± 0,022	0,71 ± 0,015	0,94 ± 0,017	0,25 ± 0,031
	200		0,69 ± 0,018	0,90 ± 0,019	0,32 ± 0,062
	1000		0,40 ± 0,226	0,67 ± 0,073	0,84 ± 0,026
Наземні	60	0,80 ± 0,007	0,74 ± 0,020	0,95 ± 0,003	0,16 ± 0,110
	200		0,67 ± 0,100	0,87 ± 0,014	0,26 ± 0,178
	1000		0,44 ± 0,040	0,68 ± 0,004	0,80 ± 0,047

різного типу, що вказує на високу фенотипічну пластичність фотосинтетичного апарату, що визначається в першу чергу інтенсивністю світла та співвідношенням спектральних компонент сонячного світла і забезпечує процес фотосинтезу в різних умовах освітлення.

1. Bradshaw A. D. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants // Adv. Genet. – 1965. – **13**, No 2. – P. 115–155.
2. Hussner A., Hoelken H. P., Jahns P. Low light acclimated submerged freshwater plants show a pronounced sensitivity to increasing irradiances // Aquatic Bot. – 2010. – **93**. – P. 17–24.
3. Потапов А. А. Вопросы физиологии и экологии погруженных гигрофитов // Успехи соврем. биологии. – 1950. – **29**, № 3. – С. 429–441.
4. Дубына Д. В. Кувшинковые Украины. – Киев: Наук. думка, 1982. – 230 с.
5. Snir A., Gurevitz M., Marcus Ye. Alterations in Rubisco activity and in stomatal behavior induce a daily rhythm in photosynthesis of aerial leaves in the amphibious plant *Nuphar lutea* // Photosynth. Res. – 2006. – **90**. – P. 233–242.
6. Клименко О. М. Анатомічні особливості листків гетерофільної рослини *Nuphar lutea* (L.) Smith. // Укр. бот. журн. – 2011. – **68**, № 2. – С. 105–110.
7. Maxwell K., Johnson G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide // J. Exp. Bot. – 2000. – **51**. – P. 659–668.
8. Lichtenthaler H. K., Buschmann C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy // Current Protocols in Food Analytical Chemistry / Eds. Wrolstad R. E., Acree T. E., An H. et al. – New York: John Wiley & Sons Inc, 2001. – P. F4.3.1–F4.3.8.
9. Lichtenthaler H. K., Marek M. V., Kalina J., Urban O. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species // Plant Physiol. Biochem. – 2006. – **45**. – P. 577–588.
10. Sheue C.-R., Sarafis V. Bizonoplast, a unique chloroplast in the epidermal cells of microphylls in the shade plant *Selaginella erythropus* (Selaginellaceae) // Amer. J. Bot. – 2007. – **94**, No 12. – P. 1922–1929.
11. Mommer L., Thys L., Pons E. et al. Submergence-induced morphological, anatomical, and biochemical responses in a terrestrial species affect gas diffusion resistance and photosynthetic performance // Plant Physiol. – 2005. – **139**. – P. 497–508.

Е. Н. Клименко, А. А. Сиваш,
член-корреспондент НАН Украины **Е. Л. Кордюм**

Пластичность фотосинтетического аппарата листьев гетерофильного растения *Nuphar lutea* (L.) Smith.

*Исследованы ультраструктура хлоропластов, состав пигментов и флуоресценция хлорофилла у придонных, плавающих и наземных листьев *Nuphar lutea* (L.) Smith. Отличия этих признаков у листьев разного типа рассматриваются как проявление фенотипической пластичности, которая определяется в первую очередь интенсивностью света и соотношением спектральных компонентов солнечного света и обеспечивает процесс фотосинтеза в разных условиях освещения.*

О. М. Klymenko, О. О. Sivash,
Corresponding Member of the NAS of Ukraine **E. L. Kordyum**

Plasticity of the photosynthetic apparatus in leaves of *Nuphar lutea* (L.) Smith. heterophyllous plants

*The data on the chloroplast ultrastructure, pigment content, and chlorophyll fluorescence in submersed, floating, and terrestrial leaves of *Nuphar lutea* (L.) Smith. are presented. The differences in these patterns in leaves of various types are considered as a display of the phenotypic plasticity, which depends, first of all, on the light intensity and the ratio of spectral lines and provides the photosynthesis under various illumination conditions.*