

RESEARCH ARTICLE

Morphological and anatomical characteristics of *Phragmites australis* from Dnipro channel

Olena M. Nedukha

M.G. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine, Tereshchenkivska str. 2, 01601 Kiev, Ukraine; o.nedukha@hotmail.com

Received: 26.10.2017 | Accepted: 17.12.2017 | Published: 29.12.2017

Abstract

Field and experimental studies of morphological and anatomical leaf parameters of *Phragmites australis* showed the structural adaptation of these plants to growth under different water supply regimes. The anatomical structure of the leaves of common reed, which grew in shallow water and dry land in the Venice channel of the Dnipro river in Kyiv, was studied with the light microscopy. The obtained results suggest that the anatomical structure and type of mesophyll cells are stable parameters for this species, while the size both of the leaf blade and its cells can be considered as adaptive and labile features varying depending on the conditions of water supply.

Keywords: *Phragmites australis*, leaf, morphology, anatomy

Вступ

Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steud. – геліофіт, багаторічна рослина-космополіт, яка зростає у різних екологічних умовах (Brix 1999; Clevering & Lissner 1999; Packer *et al.* 2017). Відомо, що зміна морфо-фізіологічних параметрів, включаючи розміри органів, елементів флоєми і ксилеми, швидкість асиміляції CO₂, активність RuBisCO, продиховий індекс тощо, часто залежать від умов зростання (Kühl *et al.* 1999; Lessmann

et al. 2001; Hansen *et al.* 2007). Так китайські дослідники (Chen *et al.* 2013), вивчаючи два екотипи *Ph. australis*, один з яких зростав на березі озера Qinshan, а другий – у горах Zaigong на суходолі, показали відмінності у деяких фізіологічних та анатомічних ознаках. Зокрема, вони виявили, що в рослин, які зростали у горах, був знижений майже удвічі вміст розчинних цукрів і у 1,3 рази – вміст проліну; а також зменшена у 1,2 рази щільність продихів, у 1,35 рази – товщина листків і в 1,8 рази – діаметр ксилеми у

порівнянні з рослинами, що зростали в озері. Автори вважають, що відповідні зміни у вмісті цукрів та проліну опосередковані оптимізацією метаболічних компонентів і енергетичними запасами за умов різного водопостачання, а зниження щільності продихів автори пов'язують із мінімізацією втрат води; зниження діаметра судин та збільшення щільності судин – із максимальним поглинанням та оптимізацією провідності води. Подібні думки були висловлені й у більш ранніх роботах інших дослідників (Lu *et al.* 1994; Sobrado 2007). Хоча є дані, що мінеральний склад ґрунту, особливо за умов посухи та його засолення, суттєво можуть впливати на ріст і структурно-функціональні ознаки рослин (Packer *et al.* 2017). Ми також дотримуємося гіпотези (Chen *et al.* 2013), що вода є одним з основним чинників, що забезпечує ріст, розвиток та продуктивність *Ph. australis*. Тому метою нашого дослідження було проаналізувати морфологію та анатомію листків очерету, що зростав за різних умов водозабезпечення в зоні м. Києва.

Матеріали і методи досліджень

Об'єктом дослідження були листки *Ph. australis*, який зростав на глибині від 10 до 50 см у Венеціанській протоці лівого берегу Дніпра у зоні м. Києва та на суходолі (піщаному ґрунті) на віддалі 7–10 метрів від берега (Рис. 1 А). Матеріал збирали на початку червня у фазі вегетативного росту. Фіксацію матеріалу для цитологічних досліджень проводили в польових умовах. Вирізки з найширшої частини листових пластинок, між другою та сьомою жилками від краю листка, відбирали для експериментів. Для дослідження брали кожний третій листок, що закінчив ріст розтягом із чотирьох водних і чотирьох суходільних рослин. Зразки фіксували для світлової мікроскопії сумішшю 3% глютарового альдегіду й 3% параформальдегіду (1:1 за об'ємом) на 1М фосфатному буфері з рН 7,2 протягом 24 годин, після чого промивали буфером, зневоднювали в розчинах спиртів зростаючої

концентрації й заливали в суміш епоксидних смол епону і аралдиту за загальноприйнятою методикою. Зрізи товщиною 1–2 мкм робили на ультрамікромомі RMC MT-XL (США), фарбували водним розчином 0,1% толуїдинового синього і вивчали під мікроскопом NF (Carl Zeiss, Germany). Для визначення лінійних розмірів листків використовували по три листки з восьми рослин. Лінійні розміри клітин визначали у 30–40 клітинах епідермісу та у 50–60 клітинах мезофілу з кожного зразка. Для визначення відносного вмісту води в листках використовували стандартний біохімічний метод (Yermakov 1982) з висушуванням зразків у термостаті при температурі 95°C до незмінної ваги. Отримані цитологічні та біохімічні дані обробляли статистично, використовуючи програму Microsoft Excel 2007.

Результати та їх обговорення

Водні рослини *Phragmites australis*

Висота водних рослин очерету у фазі вегетативного росту коливалася від 90 до 130 см. Стебло пряме, гладке, тригранне. Листки сидячі, листовка пластинка шиловидної форми, тонка та цупка. Адаксіальна поверхня листка плоска, в той час як абаксіальна, у зоні жилок – випукло-хвиляста. Листки очерету, що зростав на мілководді, були коротші та вужчі в порівнянні з листками рослин, що зростали на суходолі (Рис. 1 Б, В). Середній розмір листків очерету, який ріс у воді, становив $51 \pm 7 \times 1,3 \pm 0,7$ см. Вміст води у листках становив $62,8 \pm 0,5$ %. Дослідження структури поперечних зрізів листових пластинок показало, що верхня поверхня майже рівна, нижня – хвиляста (Рис. 2 А–В); на нижній поверхні виділяються впадини і виступи. Структура листка ізолатеральна. Товщина листової пластинки в зоні впадини коливається від 200 до 380 мкм, у зоні гребенів, де розміщувалися провідні пучки – від 300 до 600 мкм. На обох поверхнях листка виявлені продиhi. Основні клітини

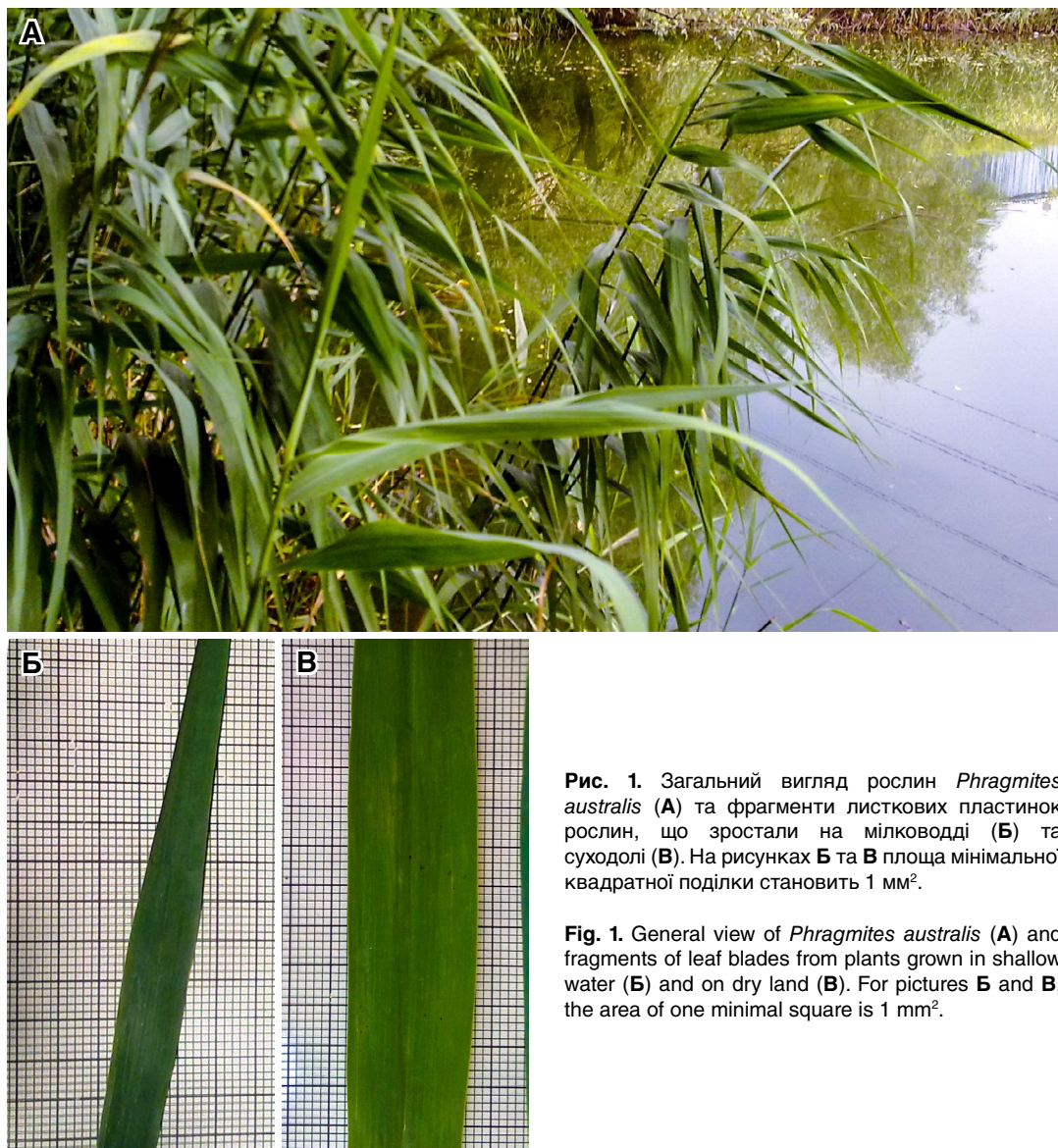


Рис. 1. Загальний вигляд рослин *Phragmites australis* (А) та фрагменти листових пластинок рослин, що зростали на мілководді (Б) та суходолі (В). На рисунках Б та В площа мінімальної квадратної поділки становить 1 мм².

Fig. 1. General view of *Phragmites australis* (А) and fragments of leaf blades from plants grown in shallow water (Б) and on dry land (В). For pictures Б and В, the area of one minimal square is 1 mm².

адаксіального й абаксіального епідермісу характеризуються товстими клітинними оболонками. Для абаксіального епідермісу характерна присутність у зоні впадіння 6–7 великих пухирцеподібних клітин; це моторні клітини, що допомагають скручуватися листку за несприятливих умов. Моторні клітини на зрізі майже прозорі, звужені зі сторони периклінальної стінки й розширені – у зоні контакту з мезофілом; ширина таких клітин коливається від 50 до

150 мкм, висота – від 100 до 150 мкм. Кількість шарів мезофілу в зоні впадіння коливалась від чотирьох до шести, тоді як у зоні провідних пучків – 11–12 шарів. На поперечних зрізах форма епідермальних клітин овальна, клітин мезофілу – майже округла, зрідка видовжена в зоні провідних пучків. Середній розмір клітин верхнього епідермісу становив (висота × ширина) – $33 \pm 1,4 \times 63 \pm 2,1$ мкм, нижнього епідермісу – $38 \pm 2,1 \times 52 \pm 1,7$ мкм, клітин мезофілу – $56 \pm 4,3 \times 59 \pm 2,7$ мкм.

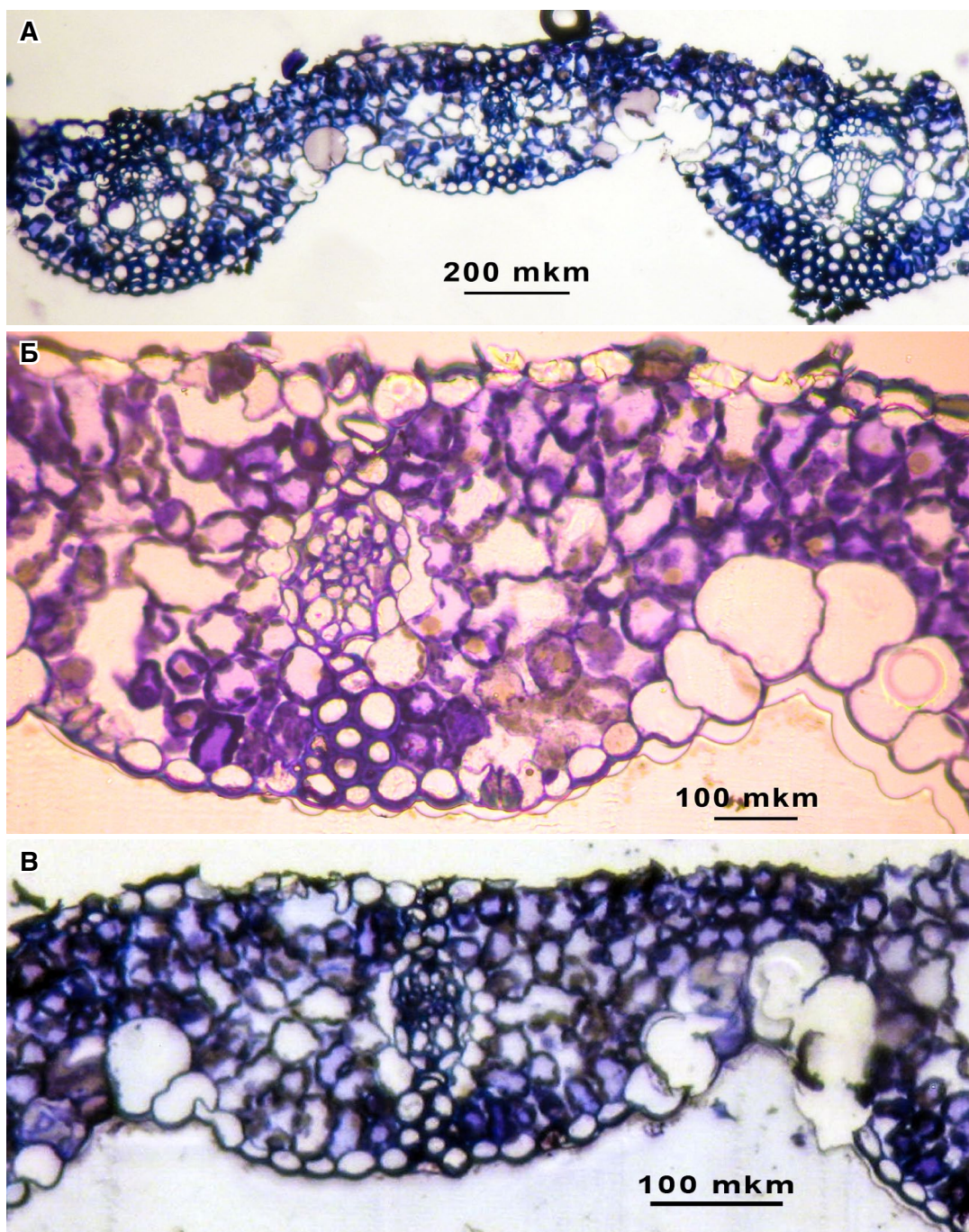


Рис. 2. Поперечні зрізи листових пластинок *Phragmites australis*: А–В – листок рослини, що зростала на мілководді; Г–Е – листок рослини, що зростала на суходолі.

Fig. 2. Cross sections of *Phragmites australis* leaf blades: А–В – leaf of a plant grown in shallow water; Г–Е – leaf of a plant grown on dry land.

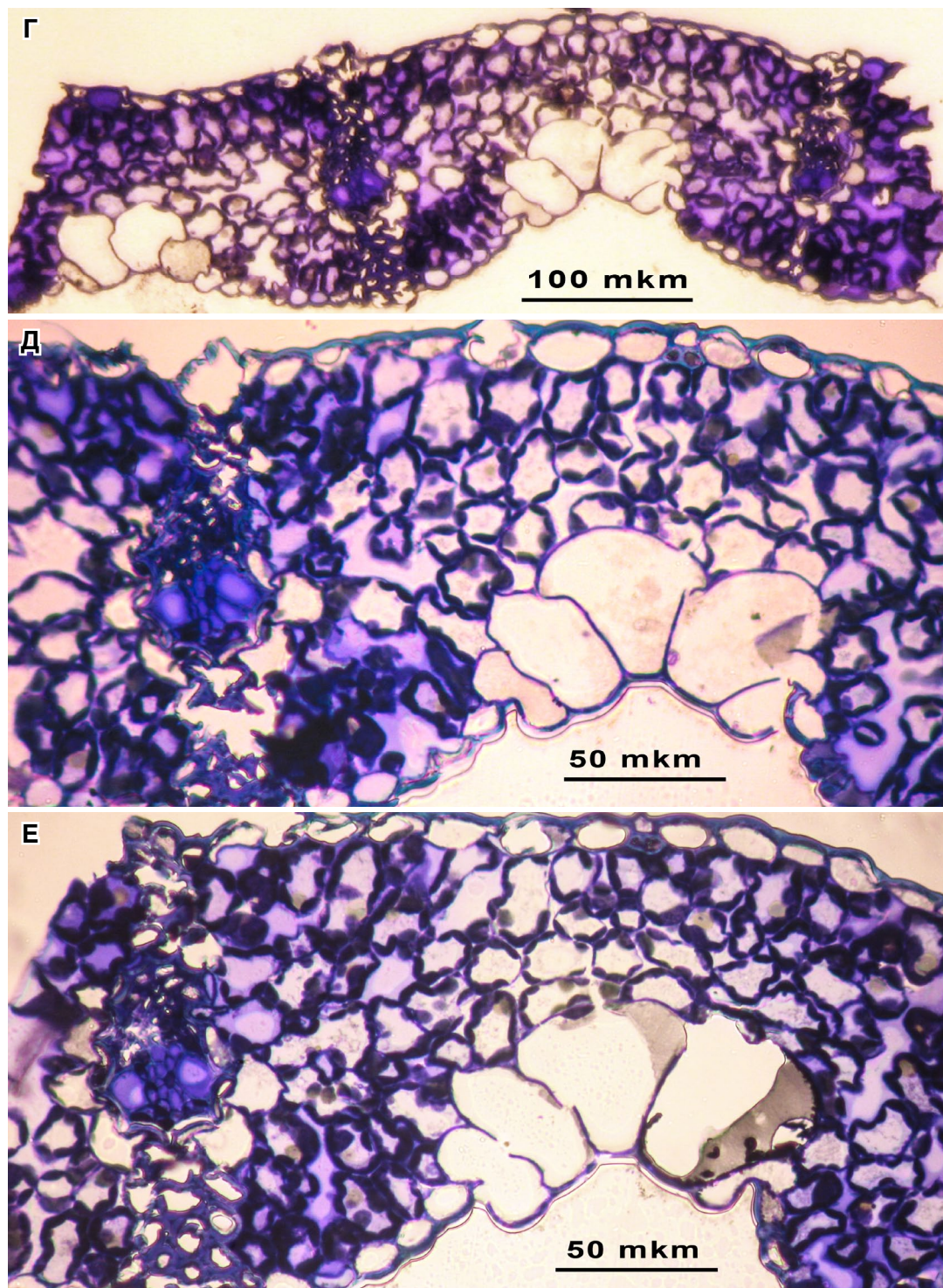


Рис. 2. Продовження.

Fig. 2. Continued.

Середня кількість хлоропластів на зрізі однієї клітини мезофілу становила $5,82 \pm 0,40$.

Суходільні рослини *Phragmites australis*

Висота суходільних рослин очерету коливалася від 120 до 165 см. Анатомо-морфологічні ознаки суходільних рослин очерету подібні до таких, що зростали у воді; будова пластинки – ізолатеральна. Відмінності проявлялися у збільшенні довжини та ширини листкової пластинки (Рис. 1 В), зменшенні товщини пластинки та розмірів клітин, зниженні кількості моторних клітин. Середній розмір листкової пластинки становив $71 \pm 8,9 \times 3 \pm 0,2$ см. Вміст води у листках суходільного очерету становив $57,2 \pm 0,7\%$. На поперечних зрізах листків (Рис. 2 Г–Е) верхня поверхня пластинки майже рівна, нижня – хвиляста з формуванням гребенів у зонах провідних пучків. У зоні впадини міститься чотири шари мезофілу, у зоні гребенів, біля провідних пучків – від восьми до десяти шарів, товщина листків у зоні ложбинки становила 110–120 мкм, а в зоні гребенів коливалася від 150 до 170 мкм. Ширина гребенів в основі коливається від 200 до 230 мкм, висота становить близько 100 мкм. Продихи присутні на обох поверхнях листкової пластинки. Форма клітин епідермісу та мезофілу подібна до такої у водних рослин. Середній розмір клітин (висота $\times$ ширина) верхнього епідермісу становив $11 \pm 1,7 \times 19 \pm 1,3$ мкм, нижнього епідермісу – $11 \pm 0,7 \times 14 \pm 1,1$ мкм, клітин мезофілу – $20 \pm 1,7 \times 17 \pm 0,9$ мкм. Середня кількість хлоропластів на зрізі клітини мезофілу становила $6,3 \pm 0,28$.

Таким чином, показано, що у фазі вегетативного росту листки рослин *Ph. australis*, які зростали у водно-береговій зоні протоки р. Дніпра в м. Києві за розмірами відрізнялися від листків суходільних рослин цього виду. Більші розміри листових пластинок рослин, що зростали на певній віддалі від берега, можуть бути зумовлені збільшенням швидкості поділу, більш раннім їхнім розвитком, або ж більш оптимальними

умовами росту. Ми припускаємо наявність суттєвих відмінностей у швидкості проходження клітинного циклу в листках досліджуваних нами рослин, оскільки саме цей показник є досить чутливим до вмісту води в рослині та у ґрунті. Відомо, що за умов незначної ґрунтової посухи ($-2,2$ МПа) у клітинах *Zea mays* L. спотерігали інгібування S-фази клітинного циклу (Setter & Flannigan 2001), тоді як за умов тривалого водного дефіциту відносна швидкість поділу клітин листків *Helianthus annuus* L. зменшувалася на 39 % за рахунок блокування проходження клітинного циклу у фазах G_0 та G_1 (Granier & Tardie 1999). Деякі автори вважають, що інгібування поділу клітин у рослинних тканинах є наслідком пригнічення синтезу певних циклінів, які задіяні у регуляції фаз клітинного циклу, та інгібування експресії відповідних генів (Matthias & Herskowitz 1994).

Оскільки досліджені нами рослини водного очерету нормально росли й розвивалися протягом усього вегетативного періоду аж до формування колосків, ми можемо припустити, що ці рослини є стійкими до затоплення кореневої системи. З іншого боку, менші розміри клітин епідермісу та мезофілу листків суходільного очерету можуть бути наслідком зниження швидкості та/або ж часу росту клітин розтягом, яке обумовлене як дією фітогормонів, так і фізіологічною відповіддю на зниження водного балансу коренів, аналогічно, як це описано для інших видів (Jackson & Drew 1984; Voeseek *et al.* 2004). Очевидно, що коренева система водного очерету, характеризується частковою гіпоксією, яка властива деяким трав'янистим рослинам, зокрема *Paspalum dilatatum* Poir., що також може зростати у воді (Insausti *et al.* 2001).

Ми також припускаємо, що рослини водного й суходільного очерету, які ми досліджували, характеризуються різною плоідністю, яка, як відомо, впливає на морфологічні ознаки, зокрема, на розмір стебел і листків, на висоту міжвузлів та розмір клітин листків очерету.

За літературними даними, октоплоїдні, гексаплоїдні і декаплоїдні рослини очерету (Pauca-Comanescu *et al.* 1999) відрізняються саме за морфологічними показниками. Показано, що чим меша плоїдність, тим менший розмір клітин (Hansen *et al.* 2007). Ряд авторів вважає, що морфологічні зміни є незалежними від умов місцевості, а обумовлені лише відмінностями числа хромосом (Björk 1967; Clevering & Lissner 1999; Rolletschek *et al.* 1999; Pauca-Comanescu *et al.* 1999). Ці дослідники описують морфологічні відмінності, як між різними популяціями *Ph. australis*, так і між різними клонами в межах однієї й тієї ж популяції, незалежно від умов місцевості. Цьому виду властивий досить широкий діапазон плоїдності, проте найчастіше трапляються тетраплоїди ($2n=48$) та октопоїди ($2n=96$) (Clevering & Lissner 1999). Пагони октоплоїдів, як правило, довші й товщі, а також мають більші листки, ніж у тетраплоїдів. Октоплоїдний очерет іноді називають "гігантським", а тетраплоїдний – "звичайним" (Hanganu *et al.* 1999; Pauca-Comanescu *et al.* 1999). Зазвичай проявом поліплоїдії є збільшення розміру клітин, однак інколи результатом поліплоїдії може бути також і зменшення кількості поділу клітин під час розвитку (Stebbins 1971). Таким чином, питання щодо клітинних механізмів мінливості морфо-анатомічних показників очерету, що зростає в зоні м. Києва потребує подальшого дослідження.

Висновки

Дослідження анатомо-морфологічних ознак листків очерету, що зростає у воді та на суходолі у фазі вегетативного росту, показало, що анатомічна будова і тип мезофілу є стабільними ознаками для цього виду, тоді як лінійні розміри листкових пластинок та розміри клітин – пластичними ознаками, які змінюються в залежності від локального водозабезпечення.

Використані джерела

- Björk S. 1987. Ecological investigations of *Phragmites communis*. Studies in theoretic and applied limnology. *Folia Limnol. Scand.* **14**: 1–248.
- Brix H. 1999. Editorial. Genetic diversity, ecophysiology and growth dynamics of reed (*Phragmites australis*). *Aquat. Bot.* **64**: 179–184. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(99\)00050-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(99)00050-9)
- Chen L., Jiang W., Jiang L., Chen T., Xu X. 2013. A comparative analysis of leaf anatomical and photosynthetic characteristics of *Phragmites australis* from two different habitations. *Life Sci. J.* **10** (1): 1022–1029.
- Clevering O.A., Lissner J. 1999. Taxonomy, chromosome numbers, clonal diversity and population dynamics of *Phragmites australis*. *Aquat. Bot.* **64**: 185–208. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(99\)00059-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(99)00059-5)
- Granier Ch., Tardie F. 1999. Water deficit and spatial pattern of leaf development. Variability in responses can be simulated using a simple model of leaf development. *Plant Physiol.* **119** (2): 609–619. <https://doi.org/10.1104/pp.119.2.609>
- Hanganu J., Mihail G., Coops H. 1999. Responses of ecotypes of *Phragmites australis* to increased seawater influence: a field study in the Danube delta, Romania. *Aquat. Bot.* **64**: 351–358. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(99\)00062-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(99)00062-5)
- Hansen D.L., Lambertini C., Jampeetong A., Brix H. 2007. Clone-specific differences in *Phragmites australis*: Effects of ploidy level and geographic origin. *Aquat. Bot.* **86**: 269–279. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2006.11.005>
- Insausti P., Grimoldi A.A., Chaneton E.J., Vasellati V. 2001. Flooding induces a suite of adaptive plastic responses in the grass *Paspalum dilatatum*. *New Phytol.* **152**: 291–299. https://doi.org/10.1111/j.0028-646X.2001.257_1.x
- Jackson M.B., Drew M. 1984. Effects of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants. In: Kozlowski T.T. (ed.), *Flooding and plant growth*: 47–128. Academic Press, Orlando, Florida.
- Kühl H., Koppitz H., Rolletschek H., Kohl J.G. 1999. Clone specific differences in a *Phragmites australis* stand. I. Morphology, genetics and site description. *Aquat. Bot.* **64**: 235–246. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(99\)00053-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(99)00053-4)
- Lessmann J.M., Brix H., Bauer V., Clevering O.A., Comin F.A. 2001. Effect of climatic gradients on the photosynthetic responses of four *Phragmites australis* populations. *Aquat. Bot.* **69**: 109–126. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(01\)00133-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(01)00133-4)
- Lu J.M., Zhang C.Z., Zhang H.Q. 1994. The character of morphology anatomy of monocotyledons in saline-alkali soil of resistant and the study physiological adaptability interrelation. *J. NE Normal Univ.* **21**: 79–82.

- Matthias P., Herskowitz I. 1994.** Joining the complex cyclin-dependent kinase inhibitory proteins and the cell cycle. *Cell* **79**: 181–184. [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90186-4](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(94)90186-4)
- Mollard F.P.O., Striker G.G., Ploschuk E.L., Insausti P. 2010.** Subtle topographical differences along a floodplain promote different plant strategies among *Paspalum dilatatum* subspecies and populations. *Austral. Ecol.* **35**: 189–196. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2009.02026.x>
- Packer J.G., Meyerson L.A., Skalove H., Pysek P., Kueffer Ch. 2017.** Biological flora of the british Isles: *Phragmites australis*. *J. Ecol.* **105**: 1123–1162. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2745.12797>
- Pauca-Comanescu M., Clevering O.A., Hanganu J., Gridin M. 1999.** Phenotypic differences among ploidy levels of *Phragmites australis* growing in Romania. *Aquat. Bot.* **64**: 223–234. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(99\)00052-2](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(99)00052-2)
- Rolletschek H., Rolletschek A., Kühl H., Kohl J.G. 1999.** Clone specific differences in a *Phragmites australis* stand II. Seasonal development of morphological and physiological characteristics at the natural site and after transplantation. *Aquat. Bot.* **64**: 247–260. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(99\)00054-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(99)00054-6)
- Setter T., Flannigan B.A. 2001.** Water deficit inhibits cell division and expression of transcripts involved in cell proliferation and endoreduplication in maize endosperm. *J. Exp. Bot.* **52**: 1401–1408. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.360.1401>
- Sobrado MA. 2007.** Relationship of water transport to anatomical features in the mangrove *Laguncularia racemosa* grown under contrasting salinities. *New Phytol.* **173**: 584–591. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01927.x>
- Stebbins G.L. 1971.** Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold, London.
- Voesenek L.A.C.J., Rijnders J.H.G.M., Peeters A.J.M., van de Steeg H.M., de Kroon H. 2004.** Plant hormones regulate fast shoot elongation under water. From genes to communities. *Ecol.* **85** (1): 16–27. <https://doi.org/10.1890/02-740>
- Wang H.L., He C.L., Liang. H.G. 1995.** Seasonal changes of polyamines in habitat adaptation of different ecotypes of reed plants. *Oecologia* **101**: 119–123. <http://www.jstor.org/stable/4220860>
- Yermakov A.I. 1982.** Determination of content of water and active acidity in plant material. In: Yermakov A.I. Methods of biochemical investigations of plants: 21–35. Agropromizdat, Leningrad.