



УДК 581.1/8

СТРУКТУРА И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА *EQUISETUM ARVENSE* L.

ДЕНИС М. СЫТНИКОВ^{1,2*}, ЛИДИЯ М. БАБЕНКО¹, НИКОЛАЙ Н. ЩЕРБАТЮК¹

Аннотация. Изучены ультраструктурные особенности фотосинтезирующих тканей и динамика содержания хлоропластных пигментов в различных органах хвоща полевого (*Equisetum arvense* L.). В клетках хлоренхимы нижних ветвей вегетативных побегов идентифицировано скопление дифференцированных хлоропластов. Установлена ведущая роль хлоренхимы нижних ветвей в накоплении максимального количества хлорофилла *a* и *b* в онтогенезе.

Ключевые слова: *Equisetum arvense*, ультраструктура тканей, хлорофилл

¹ Институт ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, Киев, 01601, Украина

² Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Биотехнологический научно-учебный центр, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина; * sytnikov@list.ru

Введение

Хвощ полевой (*Equisetum arvense* L.), как дикий вид, обладает высокой биологической эффективностью в распределении продуктов фотосинтеза, характеризуется способностью накапливать запасные вещества в наземной части растения, корневище и клубнях за короткий период активного роста побегов (MARSHALL 1986). Хлорофилл и его интермедиаты играют важную роль в функционировании растительных организмов, обеспечивая протекание в клетках световых реакций фотосинтеза. Содержание фотосинтетических пигментов и динамика их изменений в ходе вегетации зависят от соотношения многих факторов. Эти показатели характеризуют физиологическое состояние и адаптационные возможности растений, связаны как с их продукционным процессом, так и с накоплением различных биологически активных веществ (Киризий 2004; Коломиец и Калинин 2010). Несмотря на общую биологическую изученность и актуальность некоторых практических аспектов применения хвоща полевого, не до конца выясненными остаются вопросы

физиологии, относящиеся, в частности, к особенностям его онтогенеза (РЕЙВН и др. 1990; MARSHALL 1986; STERN *et al.* 2003).

Целью настоящей работы явилось изучение особенностей ультраструктуры фотосинтезирующих тканей, а также содержания хлорофиллов в различных органах хвоща полевого в онтогенезе.

Материалы и методы исследований

В работе использовали генеративные (спороносные) и вегетативные (ассимилирующие) побеги хвоща полевого (*E. arvense*), произрастающего на научно-производственной базе Института ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины “Феофания” (г. Киев) в условиях Северной Лесостепи Украины.

Для исследования ультраструктуры клеток побегов хвоща отбирали фрагменты тканей размером 1×2 мм, которые фиксировали 3%-ным раствором глутарового альдегида (“Serva”, США) на фосфатном буфере (pH 7,2) в течение 2 ч. Постфиксацию осуществляли 1%-ным раствором тетроксид осмия при комнатной температуре в течение 3 ч. Материал обезвоживали восходящими

концентрациями этилового спирта по общепринятой методике (Фурст 1979) и заливали смесью (эпон и араалдит) эпоксидных смол ("Serva", США). Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме LKB-3 (LKB, Швеция) и контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу (Гайер 1974) в течение 7 минут. Срезы тканей исследовали на трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1230 (JEOL, Япония). Размеры органелл и клеток рассчитывали на электронных микрофотографиях при помощи программы UTHSCSA Image Tool 3.0.

Изучение структурных особенностей поверхностных тканей проводили на сканирующем микроскопе JSM-6060 LA (JEOL, Япония). Замороженные при температуре жидкого азота образцы высушивали при температуре -40°C , в вакууме, затем покрывали слоем золота в ионном напылителе ION Sputer JFC-1100 (JEOL, Япония).

Определение содержания фотосинтетических пигментов производили путем предварительного экстрагирования хлорофилла 96% этиловым спиртом в течение суток с последующим определением оптической плотности полученных экстрактов на спектрофотометре ПЭ 5400УФ (Россия) при 665 и 649 нм (Мусиенко *та ин.* 2001). Для измерений отбирали средние пробы измельченного растительного материала соответствующего органа нескольких рендомизированных растений. Измерения проводили в трехкратной повторности. Полученные результаты обрабатывали статистически, в таблице (Табл. 1) и тексте представлены средние арифметические и их стандартные ошибки.

Результаты и их обсуждение

В ходе цитологических исследований ассимилирующих побегов хвоща полевого (40 см), в клетках хлоренхимы нижних ветвей первого порядка (площадь клетки $401,87 \pm 17,45$ мкм²), нами были идентифицированы скопления высокодифференцированных хлоропластов,

Табл. 1. Содержание хлоропластных пигментов в вегетативных побегах хвоща полевого (*Equisetium arvense*), мг/г сырой массы. *a* – хлорофилл *a*; *b* – хлорофилл *b*.
Table 1. Content of chloroplast's pigments in vegetative shoots of horsetail (*Equisetium arvense*). In mg/g of raw weight. *a* – chlorophyll *a*; *b* – chlorophyll *b*.

Анна побег, см	Нижняя часть растения (1-6 междоузлье)				Верхняя часть растения (11-15 междоузлье)							
	Междоузья		Ветви		Междоузья		Ветви					
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a/b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a/b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a/b</i>			
15	0,33±0,018	0,12±0,007	2,75	0,67±0,035	0,26±0,013	2,58	0,22±0,009	0,08±0,003	2,75	0,43±0,019	0,17±0,007	2,53
30	0,45±0,024	0,15±0,006	3,00	1,76±0,091	0,62±0,028	2,83	0,38±0,017	0,12±0,01	3,16	1,19±0,069	0,41±0,019	2,90
40	0,38±0,018	0,14±0,005	2,71	2,00±0,112	0,69±0,031	2,90	0,25±0,009	0,09±0,005	2,78	1,49±0,071	0,47±0,024	3,17

в которых отчётливо прослеживается хорошо развитая система тилакоидных мембран, мелкозернистая строма и чётко очерченный электронноплотный матрикс (Рис. 1). На представленной микрофотографии хлоропласты имеют округлую, слегка сдавленную по боковым сторонам форму, внутренняя мембранная система хлоропластов расположена в периферических слоях стромы. Тилакоиды гран здесь имеют специфическую структуру, отличающуюся от гранальных систем высших растений (Лотова 2001; EVERT 2007). На профиль изученных клеток хлоренхимы приходится $6,31 \pm 0,87$ хлоропласта, площадь одного хлоропласта при этом составляет $13,50 \pm 1,08$ мкм².

Исследование фотосинтетических пигментов показало, что максимальное количество хлорофилла *a* и *b* содержится в ветвях и междоузлиях нижней части ассимилирующих побегов (1–6 междоузлие) хвоща полевого (Табл. 1). При этом прослеживается тенденция увеличения содержания пигментов в ветвях при последовательном развитии от побегов 15 см до побегов 40 см. Содержание пигментов в междоузлиях изменялось менее выражено, достигая своего максимума у побегов 30 см.

Известно, что основная функциональная роль в фотосистемах принадлежит хлорофиллу *a*, в то время как хлорофилл *b* и каротиноиды выполняют вспомогательную (расширяют поглощение) и защитную функции. Максимальная эффективность фотосинтетического аппарата нормально развитых растений достигается при соотношении хлорофиллов (*a/b*) на уровне 2,5–3,0 (Шлык 1971). В нашем случае соотношение *a/b* междоузлий и ветвей ассимилирующего побега хвоща было стабильным в различных фазах его развития и находилось в пределах 2,53–3,17 (см. Табл. 1), что свидетельствует об отсутствии влияния на растения неблагоприятных факторов. Увеличение соотношения *a/b* в междоузлиях и в ветвях указывает на снижение роли хлорофилла *b* с наступлением более поздних этапов развития хвоща полевого.

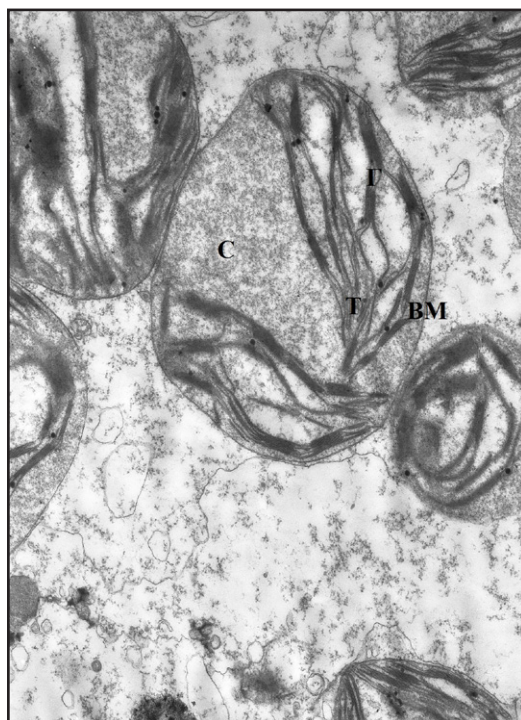


Рис. 1. Группа хлоропластов в клетке хлоренхимы нижней ветви хвоща полевого (*Equisetum arvense*): **BM** – внешняя мембрана хлоропласта; **Г** – грана; **С** – строма; **Т** – тилакоиды (увеличение – $\times 8000$).

Fig. 1. Group of chloroplasts in chlorenchyma cell of the lower branch of horsetail (*Equisetum arvense*): **Г** – grana; **BM** – outer membrane of the chloroplast; **С** – stroma; **Т** – thylakoids (magnification – $\times 8000$).

Принято считать, что спороносный побег, как правило, не содержит хлорофилла и поэтому не участвует в процессе фотосинтеза (Тахтаджян и др. 1978). Так, в стробиле, междоузлиях и листьях (на всех фазах развития спороносного побега) нами были обнаружены незначительные количества хлорофилла. Очевидно, что для активного протекания фотосинтетических реакций в различных органах спороносного побега этого было не достаточно.

Известно, что фотосинтезирующая ткань, или хлоренхима стебля, подстигает в первую очередь те участки эпидермы, в которых находятся устьица, но хлоренхима может также находиться под гребнями или располагаться сплошным кольцом

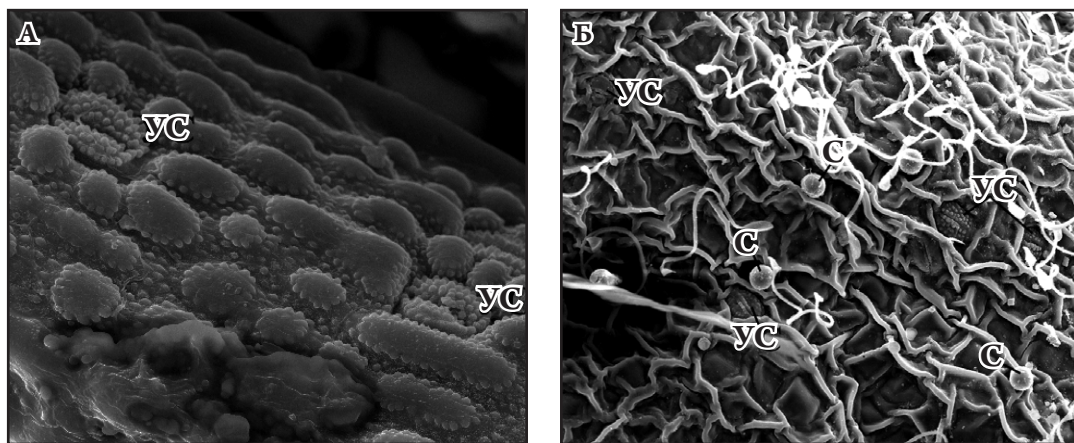


Рис. 2. Фрагменты поверхности спороносного побега хвоща полевого (*Equisetum arvense*): А – поверхность междуузлия (увеличение – $\times 230$); Б – поверхность стробила (увеличение – $\times 150$). УС – устьице; С – спора.

Fig. 2. Fragments of the surface of spore-bearing shoot of horsetail (*Equisetum arvense*): А – surface of interstice (magnification – $\times 230$); Б – surface of strobile (magnification – $\times 150$). УС – stoma; С – spore.

(Тахтаджян и др. 1978). Показано, что внешняя поверхность эпидермы ассимилирующих побегов хвоща плотно усеяна устьицами, которые анатомически находятся над хлоренхимой (Стахів та ін. 2013). Обращает на себя внимание тот факт, что у спороносных побегов, не содержащих необходимого количества фотосинтетических пигментов, организация устьичного аппарата значительно отличается (Рис. 2). При исследовании междуузлий и стробила спороносного побега на их поверхности идентифицировались лишь единичные устьица, что указывает на отсутствие активно функционирующей фотосинтезирующей ткани.

Заключение

Таким образом, относительно высокое содержание фотосинтетических пигментов в нижних ветвях ассимилирующих побегов хвоща полевого обусловлено наличием полностью сформированного фотосинтетического аппарата и свидетельствует об их максимальной ассимиляционной способности в онтогенезе.

Цитируемые источники

- Гайер Г. 1974.** Электронная гистохимия. Мир, Москва.
- Киризий Д.А. 2004.** Фотосинтез и рост растений в аспекте донорно-акцепторных отношений. Логос, Киев.
- Коломиец Н.Э., Калинкина Г.И. 2010.** Сравнительное исследование химического состава видов рода хвощ флоры Сибири. *Химия растительного сырья* 1: 149–154.
- Лотова А.И. 2001.** Морфология и анатомия высших растений. Эдитореал УРСР, Москва.
- Мусленко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. 2001.** Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. Фітосоціоцентр, Київ.
- Рейвн П., Эвэрт Р., Айкхорн С. 1990.** Современная ботаника. Т. 2. Мир, Москва.
- Стахів М., Щербатюк М., Войтенко Л. та ін. 2013.** Ультраструктурні особливості поверхні хвоща польового (*Equisetum arvense* L.). *Mod. Phytomorphol.* 4: 355–358.
- Тахтаджян А.А., Лазаренко А.С., Грушвицкий И.В. и др. 1978.** Мхи. Плауны. Хвощи. Папоротники. Голосеменные растения. В кн.: Федоров А.А. (ред.), Жизнь растений. Т. 4. Просвещение, Москва.
- Фурст Г.Г. 1979.** Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. Наука, Москва.
- Шлык А.А. 1971.** Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев. В сб.: Павлинова О.А. (ред.), Биохимические методы в физиологии растений: 154–170. Наука, Москва.

- EVERT R.F. 2007.** Esau's plant anatomy. Third edition. Wiley Interscience, Hoboken (New Jersey).
- STERN K.R., JANSKY S., BIDLACK J.E. 2003.** Introductory Plant Biology. McGraw-Hill, New York.
- MARSHALL G. 1986.** Growth and development of field horsetail (*Equisetum arvense* L.). *Weed Sci.* **34**: 271–275.

**STRUCTURE AND PHYSIOLOGICAL STATE OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF
EQUISETUM ARVENSE L.**

DENIS M. SYTNIKOV ^{1,2*}, LIDIA M. BABENKO ¹, MYKOLA M. SHCHERBATYUK ¹

Abstract. The ultrastructure characteristics of photosynthetic tissues and dynamic of content of chloroplast pigments from different organs of horsetail (*Equisetum arvense* L.) were studied. In chlorenchyma cells of lower branches from vegetative shoots the clusters of chloroplasts with differentiated structure have been identified. The key role of lower branches chlorenchyma in chlorophyll accumulation during ontogenesis was ascertained.

Key words: *Equisetum arvense*, tissue ultrastructure, chlorophyll

¹ N.G. Kholodnyi Institute of Botany, National Academy of Science of Ukraine, 2 Tereschenkovskaya str., Kiev 01601, Ukraine;

² I.I. Mechnikov Odessa National University, Biotechnology Research and Training Center, 2 Dvoryanskaya str., Odessa 65082, Ukraine; * sytnikov@list.ru